



UNIVERSIDADE
ESTADUAL de LONDRINA

ALEXANDRE AMORIM MONTEIRO

**IDENTIFICAÇÃO DE PONTOS DE CONTAMINAÇÃO
MICROBIOLÓGICA E DETECÇÃO DE RESÍDUOS DE
PROTEÍNA EM SUPERFÍCIES DE LATICÍNIOS
PRODUTORES DE QUEIJO TIPO MUSSARELA.**

ALEXANDRE AMORIM MONTEIRO

**IDENTIFICAÇÃO DE PONTOS DE CONTAMINAÇÃO
MICROBIOLÓGICA E DETECÇÃO DE RESÍDUOS DE
PROTEÍNA EM SUPERFÍCIES DE LATICÍNIOS
PRODUTORES DE QUEIJO TIPO MUSSARELA.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (nível Doutorado) da Universidade Estadual de Londrina como requisito à obtenção do título de Doutor.

Orientadora: Profa. Dra. Vanerli Beloti

Londrina
2012

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina.**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

M775i Monteiro, Alexandre Amorim.

Identificação de pontos de contaminação microbiológica e detecção de resíduos de proteína em superfícies de laticínios produtores de queijo tipo mussarela / Alexandre Amorim Monteiro. – Londrina, 2012.

89f. : il.

Orientador: Vanerli Beloti.

Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2012.

Inclui bibliografia.

1. Queijo mussarela – Contaminação – Teses. 2. Laticínios – Microbiologia – Teses. 3. Leite – Contaminação – Teses. I. Beloti, Vanerli. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

CDU 579:637.12

ALEXANDRE AMORIM MONTEIRO

**IDENTIFICAÇÃO DE PONTOS DE CONTAMINAÇÃO
MICROBIOLÓGICA E DETECÇÃO DE RESÍDUOS DE PROTEÍNA EM
SUPERFÍCIES DE LATICÍNIOS PRODUTORES DE QUEIJO TIPO
MUSSARELA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (nível Doutorado) da Universidade Estadual de Londrina como requisito à obtenção do título de Doutor.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora. Profa. Dra. Vanerli Beloti
UEL – Londrina – PR

Prof. Dr. José Maurício França
UTP – Curitiba – PR

Profa. Dra. Elsa Helena Walter de Santana
UNOPAR – Londrina – PR

Prof. Dr. Ademir Benedito da Luz Pereira
UEL – Londrina – PR

Profa. Dra. Lucienne Garcia Pretto Giordano
UEL – Londrina – PR

Londrina, 17 de dezembro de 2012.

AGRADECIMENTO

Agradeço a Deus por me dar forças e sabedoria para concluir este trabalho.

Agradeço a minha esposa por todo apoio e amor durante a realização deste trabalho, obrigado por todo ânimo e carinho durante este tempo.

Agradeço ao meu filho Lucas, que mesmo antes do nascimento tem sido um grande incentivo.

Sou eternamente grato aos meus pais que sempre investiram na minha vida e formação, sem eles nada disso seria possível.

Sou grato a meu irmão Fabricio e sua esposa que em todo tempo me incentivaram nesta jornada.

Agradeço a Rafael, Cláudia e Ester, família especial, que sempre me receberam em Londrina nas inúmeras viagens, obrigado pela excelente hospitalidade e carinho com que sempre me receberam.

Agradeço a minha orientadora, Profa. Neli, por acreditar no meu trabalho mesmo em meio a tantas dificuldades e limitações.

Meu muito obrigado ao colega Ronaldo, sempre pronto a ajudar e a toda equipe do LIPOA, sempre presente durante este trabalho.

Monteiro; Alexandre A. **Identificação de pontos de contaminação microbiológica e detecção de resíduos de proteína em superfícies de laticínios produtores de queijo tipo mussarela.** 2012. 89f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012.

RESUMO

O presente trabalho determinou os principais pontos de contaminação microbiológica e de resíduos de alimento em equipamentos de quatro laticínios produtores de queijo tipo mussarela, nos municípios de Ivaiporã, Jardim Alegre, Cândido de Abreu e Ponta Grossa, localizados na região central e sul do estado do Paraná. Utilizando o sistema *Petrifilm™* para análise microbiológica verificou-se que os principais pontos de contaminação para aeróbios mesófilos foram a tubulação de vazão do leite pasteurizado, a tubulação de saída do tanque de coagulação e corte, e as mãos dos manipuladores. Na pesquisa de coliformes totais os principais pontos de contaminação foram a tubulação de saída do tanque de coagulação e corte, e as prateleiras de fermentação e repouso. Para *Escherichia coli* os principais pontos foram a tubulação de saída do tanque de coagulação e corte, as prateleiras de fermentação e repouso da massa e às mãos de funcionários que manipulavam o produto. Já para *Staphylococcus aureus* o único ponto de contaminação foram às mãos dos manipuladores. Para a identificação de pontos de resíduo foi utilizado o sistema *Clean-Trace™ Surface Protein Plus*, sendo apontaram como principais pontos de acúmulo de resíduo orgânico a tubulação de vazão do leite pasteurizado e saída do tanque de coagulação, as prateleiras, e a forma de moldagem da massa pós-filagem. Esses resultados indicam uma ineficiência nos processos de higienização principalmente nestes pontos. Ao se avaliar os resultados para o teste *Clean-Trace™ Surface Protein Plus* em relação as contagens de aeróbios mesófilos, verificou-se uma coincidência entre os pontos de maior contaminação por micro-organismos e as superfícies com resultado positivo do teste.

Palavra-Chave: Leite. Queijo mussarela. Laticínio. Qualidade. Contaminação.

Monteiro; Alexandre A. **Identification of contamination points and detection of microbiological protein residues in surfaces of dairy producers of mozzarella cheese.** 2012. 89p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Estadual Londrina, Londrina, 2012.

ABSTRACT

The present study sought to determine the main points of microbiological contamination and waste in food processing equipment mozzarella cheese in four dairy mozzarella cheese producers in the counties of Ivaiporã, Jardim Alegre, Cândido de Abreu and Ponta Grossa, located in central and southern state of Paraná. Using Petrifilm™ system for microbiological analysis it was found that the main points of contamination for aerobic mesophilic was the pipe flow of pasteurized milk, the outlet pipe from the tank coagulation and cutting, and the hands of manipulators. For total coliform contamination the main points were the outlet pipe from the tank coagulation and cutting, and the shelves of fermentation and rest. For *Escherichia coli* the main points of contamination were the outlet pipe cutting and coagulation tank, shelves and fermentation of the dough and rest in the hands of officials who handled the product. As for the single point *Staphylococcus aureus* contaminations were at the hands of manipulators. The results of the swabs Clean-Trace™ Surface Protein Plus indicated that pipes of the premises, the shelves, and the shape of the molding mass post-curd stretching were the main points of accumulation of organic waste. These results indicate inefficiency in the process of cleaning these points when compared to the other issues analyzed. When evaluating the results for the test Clean-Trace™ Surface Protein Plus relative aerobic mesophilic counts, there was a match between the points of greatest contamination by microorganisms with surfaces with strong positive test result.

Keyword: Milk. Mozzarella cheese. Dairy. Quality. Contamination.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação dos 10 principais Estados produtores de leite no Brasil com base na produção de 2011	18
Tabela 2 – Análise comparativa de dados da produção de leite Paraná em relação dados do Brasil, base 2011	18
Tabela 3 – Produção mundial de queijos em 2009 e 2010, com base nos dados do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA).....	23
Tabela 4 – Evolução da produção nacional de queijos de 2005 a 2010, com base nos dados Associação Brasileira das Indústrias de Queijo (ABIQ).....	24
Tabela 5 – Volumes de produção de queijo considerando Função de Atributos de Diferenciação (ABIQ) para classificação de queijos e respectiva estimativa de participação no mercado – 2010.....	25
Tabela 6 – Percentual dos laticínios pesquisados pelo IPARDES, segundo porte da empresa e tipos de produtos industrializados - Paraná – 2009.....	28

ARTIGO 1

Tabela 1 – Contagens médias de Aeróbios mesófilos, Coliformes totais, E. coli e Staphylococcus aureus encontradas nas amostras do fluxo de produção de queijo tipo mussarela em 4 laticínios (A, B , C e D), localizados na região central e sul do estado do Paraná, no período de abril de 2010 a outubro de 2012, sendo apresentados os resultados médios por laticínios, e média considerando os resultados por ponto.....	64
---	----

ARTIGO 2

Tabela 1 – Contagens médias de Aeróbios mesófilos, encontradas nas amostras do fluxo de produção de queijo tipo mussarela em 4 laticínios, localizados na região central e sul do estado do Paraná, no período de abril de 2010 a outubro de 2011, sendo apresentados os resultados da média considerando os resultados por ponto, com análise ANOVA, com nível de confiança 95%	82
---	----

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1** – Gráfico da Evolução da Produção Mundial de Leite dos anos de 2000 a 2012* em mil toneladas de leite, com base na produção dos principais países produtores. (Fonte: FAO; USDA; 2012. *previsão)16
- Gráfico 2** – Gráfico da Evolução da Produção Nacional de Leite dos anos de 2002 a 2011 em milhões de litros de leite, com base na Pesquisa Pecuária Municipal do IBGE sobre produção de origem animal17
- Gráfico 3** – Gráfico da Evolução da Produção Paranaense de Leite dos anos de 2002 a 2011 em milhões de litros de leite, com base na Pesquisa Pecuária Municipal do IBGE sobre produção de origem animal19
- Gráfico 4** – Gráfico da Evolução do Consumo Nacional de Queijos dos anos de 2000 a 2010* em Kg/habitante/ano. EMBRAPA, 2011. *estimativa26
- Gráfico 5** – Gráfico do percentual do volume de leite processado, segundo grupo de produtos a que se destinam, Paraná/2009, com base na Pesquisa de campo IPARDES/Instituto EMATER, 201028
- ARTIGO 1
- Gráfico 1** – Contagens médias de Coliformes totais e E. coli encontradas nas amostras de produtos no fluxo de produção de queijo tipo mussarela em 4 laticínios (A, B, C, e D), sendo apresentados os resultados por ponto. (A1) Leite cru. (A3) Leite Pasteurizado. (A8) Massa pré-filagem. (A10) Massa pós-filagem. (A14) Queijo Final68

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Critérios de classificação das principais variações de queijos, segundo a Portaria nº 146, de 1996, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA)	22
---	----

ARTIGO 1

Quadro 1 – Fluxograma de processamento de queijo mussarela, identificando pontos de amostragem com swabs para análises microbiológicas, aplicados em quatro laticínios, localizados na região central e sul do estado do Paraná, no período de abril de 2010 a outubro de 2012.....	61
--	----

ARTIGO 2

Quadro 1 – Pontos avaliados no fluxograma de processamento de queijo mussarela, identificando áreas de amostragem com swabs para análises microbiológicas e testes Clean-Trace™ Surface Protein Plus, para quatro laticínios localizados na região central e sul do estado do Paraná, no período de abril de 2010 a outubro de 2011.....	79
Quadro 2 – Resultados para Clean-Trace™ Surface Protein Plus, com a referente concentração de proteína ($\mu\text{g}/100\mu\text{l}$), e relação dos valores de pontuação atribuído aos resultados	81

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Cartograma com divisão em microrregiões demonstrando as principais áreas de concentração da produção de leite no Paraná, com base na Pesquisa Pecuária Municipal do IBGE, 2011.19
- Figura 2** – Figura esquemática das etapas básicas da tecnologia de fabricação de queijos desde a matéria-prima, até a expedição e comercialização do produto final. (FURTADO, 1991).29
- Figura 3** – Variação da coloração na reação do Biureto (adaptado do boletim técnico - 3M™ Clean-Trace™ Surface Protein Plus)45
- Figura 4** – Clean-Trace™ Surface Protein Plus mostrando resultado que indica resíduos de proteína na superfície amostrada.45

ARTIGO 1

- Figura 1** – Contagens médias de Aeróbios Mesófilos, Coliformes totais, E. coli e Staphylococcus aureus encontradas nas amostras do fluxo de produção de queijo tipo mussarela em 4 laticínios (A, B, C, e D), sendo apresentados os resultados por laticínio, comparadas a média considerando os resultados por ponto. (A1) Leite cru. (A2) Tubulação de vazão do leite pasteurizado. (A3) Leite Pasteurizado. (A4) Tanque de coagulação e corte. (A5) Tubulação de saída tanque de coagulação e corte. (A6) Tanque e prensa para separação do soro. (A7) Prateleiras de fermentação e repouso da massa. (A8) Massa pré-filagem. (A9) Entrada Filadeira. (A10) Massa pós-filagem. (A11) Forma de modelagem da massa pós filagem. (A12) Salmoura. (A13) Prateleira de câmara fria depois da salga. (A14) Queijo Final. (A15) Mão Manipulador. (A16) H2O65

ARTIGO 2

Figura 1 – Gráfico (A) apresenta os resultados médios do Teste Clean-Trace™ Surface Protein Plus, nas amostras do fluxo de produção de queijo tipo mussarela em 4 laticínios, localizados na região central e sul do estado do Paraná, no período de abril de 2010 a outubro de 2011, comparados por laticínio. Gráfico (B) apresenta média final por ponto, considerando todos os resultados, independente do laticínio. (P1) Tubulação de vazão do leite pasteurizado. (P2) Tanque de coagulação e corte. (P3) Tubulação de saída tanque de coagulação e corte. (P4) Tanque e prensa para separação do soro. (P5) Prateleiras de fermentação e repouso da massa. (P6) Entrada Filadeira. (P7) Forma de modelagem da massa pós filagem. (P8) Prateleira câmara fria depois da salga.83

LISTA DE ABREVIATURAS

ABIQ	Associação Brasileira das Indústrias de Queijo
AFNOR	Association Française de Normalisation
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
APHA	American Public Health Association
EMATER	Instituto Paranaense de Assistência Técnica e Extensão Rural
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FDA	Foods and Drugs Administration
HPBM	Health Protection Branch Methods do Canadá,
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IPARDES	Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
SAG	Secretaria Nacional de Agricultura do Chile
SEBRAE	Agência de Apoio ao Empreendedor e Pequeno Empresário
USDA	United States Department of Agriculture
USDA-FSIS	United States Department of Agriculture - Food Safety and Inspection Service

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 PRODUÇÃO DE LEITE	15
1.1.1 Produção Mundial De Leite	15
1.1.2 Produção Nacional De Leite	16
1.1.3 Produção Paranaense De Leite.....	18
1.2 PRODUÇÃO DE QUEIJOS	20
1.2.1 Produção Mundial De Queijos	22
1.2.2 Produção Nacional De Queijos.....	23
1.2.3 Produção Por Tipo De Queijo.....	24
1.2.4 Consumo Por Tipo De Queijo.....	25
1.2.5 Produção Paranaense De Queijos	26
1.3 CONTROLE QUALIDADE NA PRODUÇÃO DE QUEIJOS.....	28
1.3.1 Processo De Fabricação De Queijos.....	29
1.3.2 Qualidade Da Matéria-Prima Para Queijos	33
1.3.3 Queijo Mussarela.....	34
1.3.4 Qualidade Do Queijo No Brasil.....	35
1.3.5 Higienização No Processamento De Queijos	36
1.4 MICRO-ORGANISMOS INDICADORES.....	38
1.4.1 Aeróbios Mesófilos	39
1.4.2 Coliformes A 30°C	39
1.4.3 Coliformes A 45°C.....	40
1.4.4 Escherichia coli.....	40
1.4.5 Staphylococcus sp.....	41
1.5 MÉTODOS RÁPIDOS.....	41
1.5.1 Métodos Para Detecção De Resíduos De Alimentos	42
1.5.2 Métodos Rápidos Em Microbiologia	43
1.5.3 O Sistema Petrifilm™ AC, EC E STX.....	43
1.5.4 3m™ Clean-Trace™ Surface Protein Plus	44
2 JUSTIFICATIVA	46

3 OBJETIVOS	47
3.1 OBJETIVO GERAL	47
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	47
4 REFERÊNCIAS	48
5 ARTIGO. 1: DETERMINAÇÃO DOS PRINCIPAIS PONTOS DE CONTAMINAÇÃO NA PRODUÇÃO DE QUEIJO TIPO MUSSARELA	57
5.1 INTRODUÇÃO	58
5.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	59
5.2.1 Amostragem	60
5.2.2 Preparo Das Amostras	62
5.2.3 Contagem De Micro-Organismos Indicadores.....	62
5.2.4 Análise Estatística Dos Dados.....	63
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
5.4 CONCLUSÃO.....	71
5.5 REFERÊNCIAS.....	72
6 ARTIGO. 2: PRINCIPAIS PONTOS DE CONTAMINAÇÃO MICROBIANA E DE ACÚMULO DE RESÍDUOS NA PRODUÇÃO DE QUEIJO MUSSARELA	75
6.1 INTRODUÇÃO	76
6.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	78
6.2.1 Amostragem	78
6.2.2 Preparo Das Amostras	79
6.2.3 Contagem De Micro-Organismos Indicadores.....	80
6.2.4 Teste Clean-Trace™ Surface Protein Plus 3m™	80
6.2.5 Análise Estatística Dos Dados.....	81
6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	81
6.4 CONCLUSÃO	86
6.5 REFERÊNCIAS	86
6.6 CONCLUSÃO FINAL	88

1 INTRODUÇÃO

Do ponto de vista de saúde pública, a população deve ter ao seu alcance alimentos de boa qualidade, dentro de padrões pré-estabelecidos, não só em valores nutritivos, como, também, quanto às condições higiênicas, que propiciem segurança para a saúde do consumidor (CORREIA ; RONCADA, 1997).

O leite é considerado, devido à sua composição química, um excelente meio de cultura, podendo ser facilmente contaminado por vários micro-organismos (DOYLE et al., 1997; CHYE et al., 2004). A composição do leite, sua microbiota natural, o transporte, a contaminação pós-pasteurização, o processamento e manipulação, os equipamentos e a temperatura inadequada durante estocagem e distribuição podem resultar em altos níveis de micro-organismos indesejáveis e patogênicos em queijos (ARAÚJO et al., 2002).

Assim como os demais produtos alimentícios, o leite e seus derivados, entre eles os queijos, devem ser obtidos com a máxima higiene. Para isso, a produção precisa contar com matéria prima de boa qualidade sendo submetida a um eficiente controle durante o beneficiamento no laticínio, de forma a proporcionar segurança e manutenção das características físicas, químicas e nutricionais (BONFOH et al., 2003).

A identificação de problemas durante o processamento de alimento é um desafio constante para indústria de laticínios devido à natureza perecível do leite. Um grande problema enfrentado pela indústria é a demora na obtenção de informações sobre a eficiência da limpeza e sobre a qualidade dos produtos através da microbiologia tradicional, que não oferece resultados em menos de 48 horas. A falta de ferramentas que permitam identificar rapidamente a eficiência da limpeza acabam por promover a vulnerabilidade do leite e de seus derivados a contaminações (HAYES, 1993; BOURGEOIS, MESCLE, ZUCCA, 1994).

Atualmente há algumas ferramentas disponíveis no mercado para avaliar deficiências no processo de limpeza, que buscam resíduos de matéria orgânica ao invés de micro-organismos, e têm a vantagem de oferecer resultados imediatos, auxiliando na escolha de medidas corretivas ou mesmo a determinação de nova limpeza antes do processamento do alimento, evitando sua contaminação. Podemos citar, por exemplo, a bioluminescência, que busca resíduos de Adenosina Tri-fosfato (ATP) como indicador da presença de matéria orgânica. No entanto, o

custo elevado do teste e a necessidade de equipamento para leitura limitaram a disseminação irrestrita do método (COSTA, 2001).

Com o mesmo intuito de obter informações sobre a limpeza de superfícies onde são beneficiados alimentos, foi lançado em março de 2010 pela 3M™ no Brasil o *Clean-Trace™ Surface Protein Plus*, que recolhe resíduos de proteína e outras substâncias redutoras, resultantes do processamento de alimentos, que não foram retirados pela limpeza (3M, 2009). Os resíduos de alimentos são a fonte de nutrientes para a proliferação microbiana. A ausência de resíduos restringe o crescimento e multiplicação de micro-organismos. No entanto, por se tratarem de ferramentas recentemente desenvolvidas e disponibilizadas comercialmente, praticamente não há estudos de campo sobre sua eficiência.

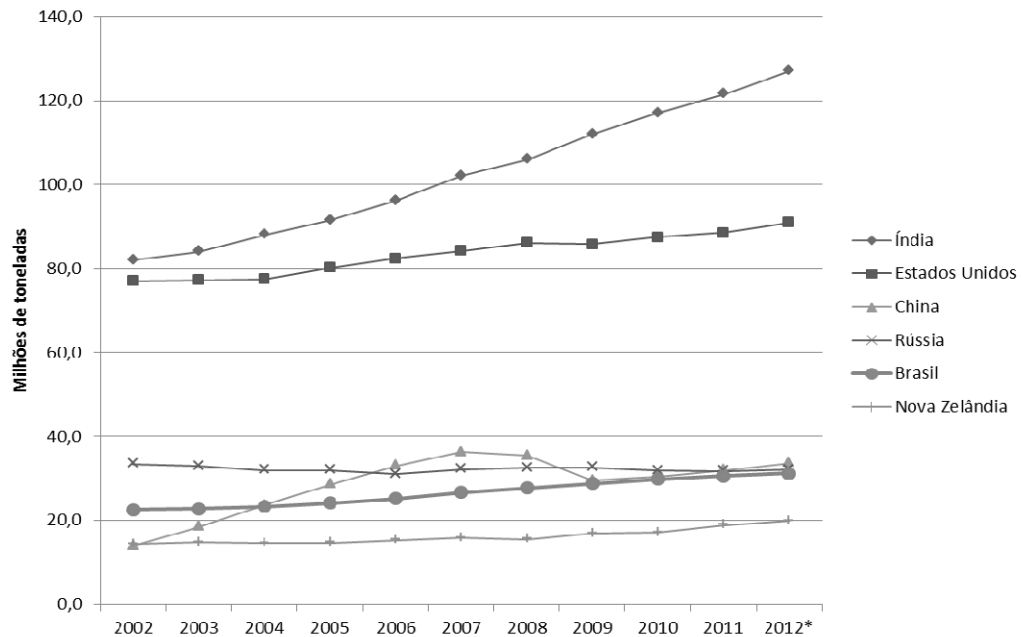
Diante do desafio da detecção de pontos de contaminação na produção de queijos em laticínios, tanto pela lentidão dos métodos disponíveis como pelo custo das análises, estudos que determinem os principais pontos de contaminação e localização de resíduos podem auxiliar no direcionamento de medidas corretivas e na implementação de procedimentos preventivos na indústria (YAMADA, 2011). Sob esta temática o presente trabalho busca identificar os principais pontos de contaminação microbiológica e de resíduos de alimento em equipamentos de processamento de queijo tipo mussarela em indústrias de laticínios, através da utilização de ferramenta alternativa complementar às metodologias convencionais.

1.1 PRODUÇÃO DE LEITE

1.1.1 Produção Mundial De Leite

A produção mundial segundo dados da FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), em 2010, foi próxima dos 710 milhões de toneladas. Destaque para a produção dos EUA, com 87,4 milhões de toneladas participando com 12,3% da produção mundial. O Brasil aparece no cenário mundial com a produção de 29,9 milhões, participando assim com 4,2% da produção mundial (gráfico 1) Segundo a FAO, a produção mundial de leite em 2011 deve alcançar 724 milhões de toneladas, um aumento de 2% frente ao ano anterior (FAO, 2011).

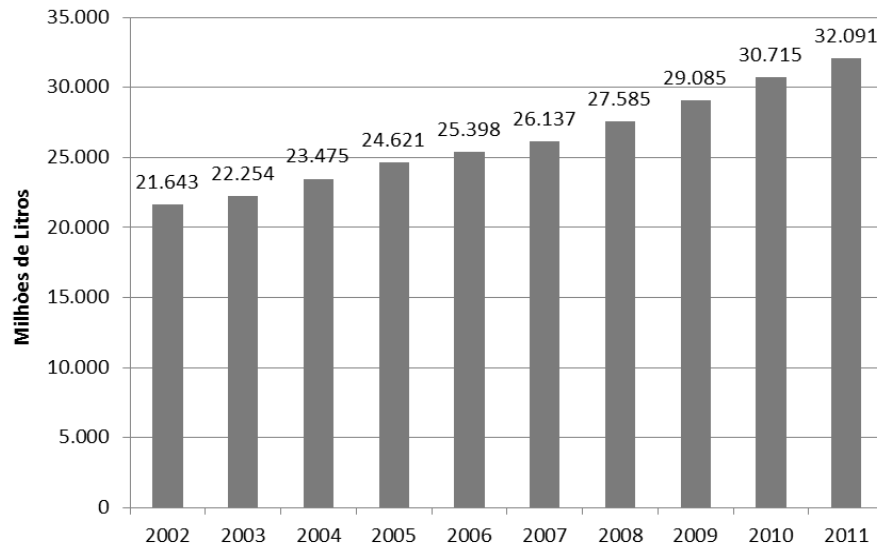
Gráfico 1 – Gráfico da Evolução da Produção Mundial de Leite dos anos de 2000 a 2012* em mil toneladas de leite, com base na produção dos principais países produtores. (Fonte: FAO; USDA; 2012. *previsão).



1.1.2 Produção Nacional de Leite

O leite está entre os principais produtos da agropecuária brasileira. O Agronegócio do Leite e seus derivados desempenham um papel relevante no Brasil, desde o suprimento de alimentos até geração de emprego e renda para a população, e em especial aos produtores rurais, contribuindo para a diminuição da evasão rural. (CARVALHO et al., 2002; DIAS, 2006; CARVALHO, 2010a).

Gráfico 2 – Gráfico da Evolução da Produção Nacional de Leite dos anos de 2002 a 2011 em milhões de litros de leite, com base na Pesquisa Pecuária Municipal do IBGE sobre produção de origem animal.



A produção de leite no país cresceu 4,5% entre 2010 e 2011. Segundo dados da Pesquisa de Produção Pecuária Municipal, do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), no ano de 2011 foram produzidos 32,1 bilhões de litros de leite em todo o Brasil, 1,4 bilhão de litros a mais que 2010 (gráfico 2) (IBGE, 2011).

Entre os principais Estados produtores de leite no Brasil o Estado de Minas Gerais apresenta a maior produção, com 8,7 bilhões de litros, 27,3% da produção nacional, seguido pelos Estados do Rio Grande do Sul, Paraná, e Goiás (tabela 01). A soma da produção desses 4 estados representa 62,2% da produção nacional, demonstrando assim a importância destes no contexto nacional (EMBRAPA, 2011; ANUALPEC, 2011).

Tabela 1 – Classificação dos 10 principais Estados produtores de leite no Brasil com base na produção de 2011.

Estado (classificação-2011)	Produção de leite (milhões de litros)		Participação (%)	
	2010	2011	2010	2011
1. Minas Gerais	8.388	8.756	27,3	27,3
2. Rio Grande do Sul	3.634	3.879	11,8	12,1
3. Paraná	3.596	3.819	11,7	11,9
4. Goiás	3.194	3.482	10,4	10,9
5. Santa Catarina	2.381	2.531	7,8	7,9
6. São Paulo	1.606	1.601	5,2	5,0
7. Bahia	1.239	1.181	4,0	3,7
8. Pernambuco	877	953	2,9	3,0
9. Mato Grosso	708	743	2,3	2,3
10. Rondônia	803	707	2,6	2,2
Outros	3.726	4.437	12,1	13,8
Total	30.715	32.091	100	100

Fonte: IBGE (2011), Embrapa (2011), Anualpec (2011).

1.1.3 Produção Paranaense De Leite

O Paraná é o terceiro maior estado produtor de leite, com 3,8 bilhões de litros em 2011, com produtividade de 2.404 litros/vaca/ano, maior que a média nacional de 1.382 litros/vaca/ano (tabela 02). O Estado possui um rebanho leiteiro de 2,5 milhões de cabeças, segundo a Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento (IBGE, 2011; SEAB, 2010).

Tabela 2 – Análise comparativa de dados da produção de leite Paraná em relação dados do Brasil, base 2011.

Dados	Brasil	Paraná	PR/BR
Vacas ordenhadas (mil cabeças)	23.227	1.589	6,8%
Produtividade (litro/vaca/ano)	1.382	2.404	---
Produção origem animal (mil litros)	32.091	3.819	11,9%
Produtores de leite (unidade)	1.290.000	118.834	9,20%

Fonte: IBGE (2011), Embrapa (2011), SEAB (2010).

A cadeia produtiva de leite no Paraná vem mantendo sua representatividade no contexto nacional. A produção do Estado vem crescendo nos últimos anos, sendo que nos últimos dez anos a produção teve um incremento de

1.2 PRODUÇÃO DE QUEIJOS

Segundo a Portaria nº 146, de 1996, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), entende-se por queijo o produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos coagulados pela ação física do coalho, de enzimas específicas, de bactérias específicas, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes. (BRASIL, 1996).

Para melhor caracterizar os queijos existe uma classificação pelas categorias, frescos, maturados e processados (LACTEA BRASIL, 2006a; LACTEA BRASIL, 2006b; BRASIL, 1996), conforme descrição a seguir:

- *Queijos Frescos*: estão prontos para o consumo, logo após sua fabricação; são queijos de massa crua (ou seja, não passam por processo de cozimento), exigem refrigeração a temperaturas baixas (a temperatura ideal de conservação vai de 7° a 10° C) e apresentam textura macia. Os queijos frescos são ainda subdivididos em brancos (Minas Frescal, Cottage e Ricota), filados ou cortados (Mussarela), e cremosos (Requeijão, *Cream Cheese*, *Quark* e *Petit Suisse*).
- *Queijos Maturados*: são os que passam pelo processo de maturação (amadurecimento). Têm sabor mais forte, texturas variáveis e suportam temperaturas mais elevadas, inclusive podendo ser mantidos em temperatura ambiente (até 25° C), dependendo do tipo. Segundo a consistência, apresentam a seguinte subdivisão: Duro: Parmesão, Reino (até 25° C); Semi-duro: *Emmental* (até 25° C), Prato (até 10° C), Provolone (até 25° C), Gouda (10° a 16° C), Minas Padrão (até 10° C); Mole: Gorgonzola (5° a 12° C), *Camembert* e *Brie* (ambos 5 a 10° C).
- *Queijos Processados*: são queijos obtidos por trituração (redução a pequenos fragmentos/ moagem), mistura, fusão (derretimento)

e emulsão (resultado da dispersão tão fina quanto possível de um elemento em um meio onde ele é insolúvel, a fim de se obter uma massa homogênea), por meio de calor e agentes emulsionantes (compostos que favorecem a formação de uma emulsão e/ou sua conservação), de uma ou mais variedades de queijo, com ou sem adição de outros produtos lácteos e/ou sólidos de origem láctea (creme de leite, iogurte) e/ou temperos (sal, pimenta, orégano, erva-doce etc.) ou outras substâncias alimentícias na qual o queijo constitui o ingrediente lácteo utilizado como matéria-prima preponderante. Podem ser suaves ou de sabor forte, dependendo da origem do leite utilizado como matéria-prima e sua consistência pode variar em função do processo e dos ingredientes. São considerados processados os pasteurizados (esterilizados pelo calor), os fundidos e os molhos lácteos.

A classificação dos queijos ainda pode ser estabelecida em função de vários itens, tais como: matéria-prima, consistência, tratamento dado à massa, formas de coagulação, obtenção da massa, tratamento dado ao teor de Gordura no Extrato Seco (GES) e teor de umidade (BRASIL, 1996).

Associação Brasileira das Indústrias de Queijo (ABIQ) classifica os queijos em função de atributos de diferenciação, utilizando o termo *commodity* (produto básico, primário, simples) para se referir aos queijos largamente comercializados e de menor valor agregado, contrapondo-os aos queijos fundidos, processados e finos.

Segundo esses critérios, tem-se a seguinte classificação: *Commodities*; Fundidos; Processados; Queijos Finos (ABIQ, 2011).

No quadro 01, é apresentado resumo da classificação de queijos, conforme critérios do MAPA (BRASIL, 1996).

Quadro 1 – Critérios de classificação das principais variações de queijos, segundo definição da Portaria nº 146, de 1996, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

Critérios	Variáveis	Exemplos
<i>Teor de Gordura no Extrato Seco (GES)</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Extra Gordo ou Duplo Creme: mínimo de 60%. • Gordos: entre 45,0 e 59,9%. • Semigordo: entre 25,0 e 44,9%. • Magros: entre 10,0 e 24,9%. • Desnatados: menos de 10,0% 	<ul style="list-style-type: none"> • Gorgonzola • Cream Cheese, Requeijão • Minas, Camembert • Gruyère, Emmental, Parmesão • Ricota, Cottage
<i>Teor de umidade</i>	<ul style="list-style-type: none"> • baixa umidade: até 35,9% de umidade • média umidade: entre 36 e 45,9% de umidade • alta umidade: entre 46 e 54,9% de umidade • muito alta umidade: mais de 55% de umidade 	<ul style="list-style-type: none"> • Parmesão, Provolone • Prato, Minas Padrão, Mussarela, • Ricota Fresca, Roquefort • Minas Frescal, Mussarela

Fonte: BRASIL, 1996.

1.2.1 Produção Mundial De Queijos

Segundo dados do USDA (Departamento de Agricultura dos Estados Unidos) (ANUALPEC, 2011; USDA, 2011) a produção mundial de queijos em 2010 foi de 14,7 milhões de toneladas. Sendo que a União Europeia com seus 27 países membros é responsável por 47,2% dessa produção com o volume de 7,0 milhões de toneladas (tabela 03). Os maiores produtores mundiais de queijo são os Estados Unidos, com uma produção de 4,7 milhões de toneladas, que representa 32,0% da produção mundial.

Tabela 3 – Produção mundial de queijos em mil toneladas de 2009 e 2010, com base nos dados do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA).

País	Produção de Queijo (mil toneladas)		Participação (%)	
	2009	2010	2009	2010
EU-27	6.810	6.970	47,3	47,2
Estados Unidos	4.570	4.734	31,7	32,0
Brasil	614	648	4,3	4,4
Argentina	530	540	3,7	3,7
Rússia	400	435	2,8	2,9
Austrália	321	319	2,2	2,2
Canadá	291	297	2,0	2,0
Nova Zelândia	308	268	2,1	1,8
México	242	264	1,7	1,8
Ucrânia	228	220	1,6	1,5
Outros	83	85	0,6	0,6
Total	14.299	14.397	100	100

Fonte: USDA (2011), Anualpec (2011)

1.2.2 Produção Nacional De Queijos

O mercado de queijos no Brasil apresenta uma forte característica que é a existência de um grande número de pequenos e micro laticínios que atuam regionalmente e fora do âmbito do Serviço de Inspeção Federal do Ministério da Agricultura – SIF. O predomínio desses pequenos produtores dificulta a obtenção de informações oficiais sobre a produção total de queijos no Brasil, uma vez que não há um registro oficial do que é produzido por esses micros e pequenos laticínios informais (MOSHE, 2007; SEBRAE, 2008a; CARVALHO, 2010a).

A produção sob inspeção do SIF, conforme projeções feitas por especialistas da Associação Brasileira das Indústrias de Queijo (ABIQ), representa aproximadamente 60,0% do total de queijos produzidos no Brasil (ABIQ, 2011). Segundo dados da ABIQ (tabela 04), a produção de queijos por empresas legalizadas foi estimado em de 801,4 mil toneladas em 2010, 23% superior ao apontado pelo USDA, tendo crescido 11,1% quando comparada a 2009, na mesma base de dados da ABIQ.

Considerando que o mercado informal equivale a 40,0% do total da produção de queijos no Brasil, pode-se estimar que a produção informal tivesse sido

da ordem de 534,3 mil toneladas em 2010, o que significa em tese, um mercado total da ordem de 1.335,7 mil toneladas (SEBRAE, 2008b; ABIQ, 2011).

Tabela 4 – Evolução da produção nacional de queijos de 2005 a 2010, com base nos dados Associação Brasileira das Indústrias de Queijo (ABIQ).

Volume / Ano	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Volume Formal (1.000 ton.)	558,7	596,2	633,3	668,8	721,4	801,4
Volume Informal* (1.000 ton.)	372,5	397,5	422,2	445,9	480,9	534,3
Total**	931,2	993,7	1.055,4	1.114,7	1.202,4	1.335,7
<i>Varição anual (%)</i>	8,6	6,7	6,2	5,6	7,9	11,1

Fonte: ABIQ, 2011.

*estimativa de que seja 40% do total produzido no Brasil, segundo dados da ABIQ.

**soma com base no volume formal registrado pela ABIQ.

Quanto ao dimensionamento do mercado em valores, a ABIQ estima que, em 2010, o faturamento das empresas sob inspeção federal foi próxima de R\$ 5,0 bilhões, um crescimento de cerca de 42,0% em relação a 2005, cujo faturamento foi de aproximadamente de R\$ 3,5 bilhões (ABIQ, 2011).

1.2.3 Produção Por Tipo De Queijo

Segundo a classificação da Associação Brasileira das Indústrias de Queijos (ABIQ), os queijos dos tipos mussarela, prato e mineiro, estão entre aqueles de maior produção e consumo no país (CORREIA; RONCADA; 1997; ABIQ, 2011).

Na tabela 05, são apresentados os volumes de produção considerado o critério de diferenciação em Função de Atributos de Diferenciação (ABIQ) para classificação de queijos e respectiva estimativa de participação no mercado.

Tabela 5 – Volumes de produção de queijo considerando *Função de Atributos de Diferenciação* (ABIQ) para classificação de queijos e respectiva estimativa de participação no mercado – 2010.

Tipo de Queijo	Volume (toneladas)	Participação (%)
COMMODITIES	522.900	65,2%
MUSSARELA	225.600	28,1%
PRATO	152.300	19,0%
REQUEIJÃO CULINÁRIO	145.000	18,1%
FUNDIDOS	11.472	1,4%
FATIAS	5.780	0,7%
PORÇÕES	4.280	0,5%
TABLETES	137	0,0%
CREMOSOS	1.275	0,2%
PROCESSADOS	101.475	12,7%
CREAM CHEESE	3.025	0,4%
REQUEIJÃO CREMOSO	62.700	7,8%
PETIT SUISSE	35.750	4,5%
QUEIJOS FINOS	165.593	20,7%
FRESCOS (MASSA CRUA)	59.050	7,4%
ESPECIAIS	106.543	10,6%
TOTAL GERAL	801.440	100,0%

Fonte: ABIQ, 2011

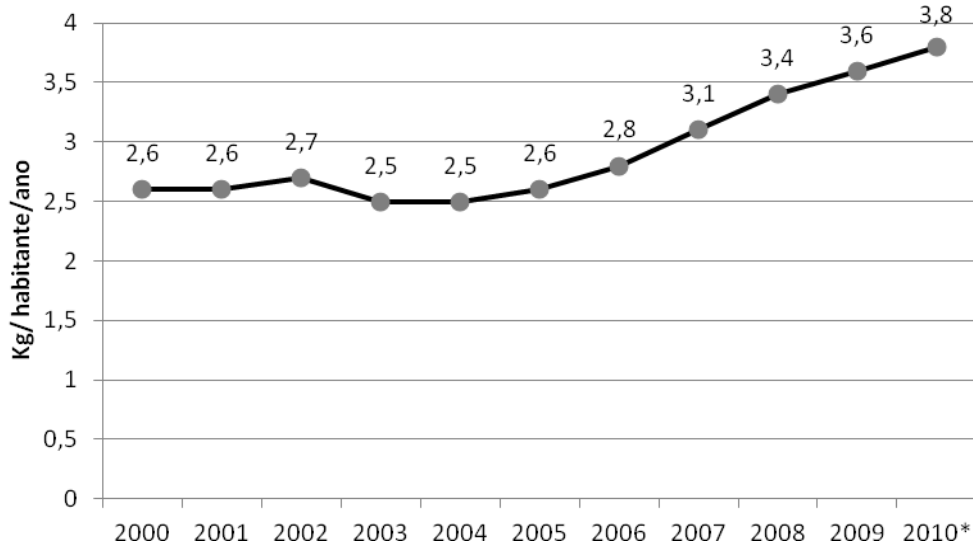
1.2.4 Consumo Por Tipo De Queijo

Comparativamente a outros países produtores de queijo, o Brasil ainda apresenta índices baixos de consumo *per capita* de queijos. Além do hábito alimentar, a quantidade consumida está diretamente relacionada ao baixo poder de compra de boa parte da população brasileira (SEBRAE, 2008a; BARROS, 2011; IBGE, 2011)

Do consumo *per capita* de queijos, de aproximadamente 3,8 kg por ano, 32,04% é de Mussarela, 9,61% de Prato, 7,96% de Minas e 5,64% de Parmesão (FILHO ; POMBO, 2010; BARROS, 2011; IBGE, 2011). No gráfico 4 é apresentada a evolução do consumo *per capita* nacional de queijo.

Em relação ao consumo domiciliar, com base na Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) 2008-2009 realizada pelo IBGE, os tipos de queijo mais consumidos são Minas, principalmente na Região Sudeste, e Mussarela, seguidos por Prato (com destaque para a região Sul) e Requeijão. O queijo Parmesão apresenta participação bem inferior, quando se considera o consumo domiciliar (IBGE, 2010; EMBRAPA, 2011).

Gráfico 4 – Gráfico da Evolução do Consumo Nacional de Queijos dos anos de 2000 a 2010* em Kg/habitante/ano. EMBRAPA, 2011. *estimativa.



1.2.5 Produção Paranaense de Queijos

Segundo uma pesquisa recente do Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social (IPARDES) juntamente com o Instituto Paranaense de Assistência Técnica e Extensão Rural (EMATER), no Paraná existem 314 unidades formais de processamento e transformação do leite. Esses estabelecimentos processam, em média, 1,7 bilhão de litros de leite ao ano (IPARDES, 2010).

No que diz respeito ao processamento e transformação do leite, percebe-se que o Paraná registra importante participação no setor leiteiro nacional. De acordo com os dados da Relação Anual de Informações Sociais (RAIS), do Ministério do Trabalho e Emprego, os estabelecimentos com atividade de laticínio geram cerca de 7,5 mil empregos formais (BRASIL, 2009).

Outro fator peculiar desta indústria é a presença de empresas de pequeno porte. Isso ocorre devido às baixas barreiras à entrada de novas empresas (CARVALHO, 2010b, IPARDES, 2010). As 301 unidades de processamento pesquisadas (total de 289 empresas) pelo IPARDES processaram um volume médio mensal de 141.465 mil litros de leite. O maior volume processado, 45,6%, ocorre nos estabelecimentos de grande porte e 20,3% nos de médio-grande porte. Constata-se, portanto, que 65,9% do volume de leite processado no Paraná está a cargo de

apenas 29 unidades industriais, que, de forma agregada, correspondem a apenas 17 empresas das 289 pesquisadas, o que revela uma forte concentração da produção da atividade industrial de laticínios no Estado (IPARDES, 2010). De modo geral, observa-se uma tendência de redução do número de estabelecimentos lácteos no país, e esse processo de concentração do segmento lácteo paranaense não é isolado, dado que o processo de incorporação e associação de empresas, em geral de nacionais com transnacionais, vem ocorrendo com maior intensidade a partir de 1990. Entre os estados brasileiros, o panorama se repete (MARTINS, 2004; MARTINS ; FARIAS, 2006).

Em se tratando de diversificação produtiva, observa-se que a indústria paranaense de lácteos possui um número elevado de empresas produtoras de queijos, especialmente o mussarela, que está presente em 48% dos laticínios pesquisados pelo IPARDES (tabela 06). A mesma pesquisa constata que mais de 200 (66,4%) estabelecimentos industriais transformaram parte ou a totalidade do leite em algum tipo de queijo. Em termos de volume, a pesquisa demonstra que o maior volume de leite destina-se ao processamento de queijos, sendo observado que 53,5% do leite processado no Estado destina-se à produção desse produto (gráfico 5), ou seja, segundo dados da pesquisa, 75,6 milhões de litros de leite/mês foram transformados em cerca de 7,5 milhões de quilos de queijo/mês (CONSELEITE PARANÁ, 2002; IPARDES, 2010).

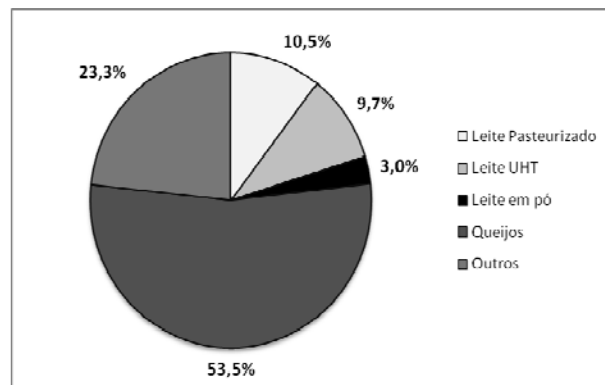
Com base nos dados do IPARDES foi verificado que os laticínios classificados pelo porte de produção, micro (até 55 mil litros/mês), pequeno (até 900 mil litros/mês) e médio (até 2,7 milhões de litros/mês), são responsáveis por destinar, em média, cerca de 36.244 mil litros/mês, para fabricação de queijo, o que representa 25,6% do volume médio mensal do leite processado nos laticínios avaliados na pesquisa (141.465 mil litros). Dos 80 laticínios de micro porte pesquisados, 64 deles (80%) produzem apenas um tipo de produto, sendo em sua grande maioria produtores de queijo colonial, queijo minas e leite pasteurizado. Entre os 159 laticínios de pequeno porte, cerca de 40% têm uma reduzida linha de produtos, sendo que a grande maioria produz exclusivamente leite pasteurizado e uma parcela menor apenas queijo mussarela (IPARDES, 2010).

Tabela 6 – Percentual dos laticínios pesquisados pelo IPARDES, segundo porte da empresa e tipos de produtos industrializados - Paraná – 2009.

PRODUTOS	Porte da Empresa (%)					TOTAL
	Micro	Pequeno	Médio	Médio-grande	Grande	
Queijo Mussarela	22,5	51,6	84,8	73,3	42,9	48,2
Leite pasteurizado	23,8	54,1	30,3	26,7	14,3	40,2
Ricota	5,0	28,3	66,7	46,7	7,1	26,2
Queijo Minas	22,5	22,6	39,4	46,7	28,6	25,9
Queijo provolone	3,8	21,4	42,4	46,7	21,4	20,3
Nata ou creme de leite fresco	6,3	20,1	30,3	60,0	7,1	18,9
Queijo prato	2,5	11,9	51,5	60,0	35,7	17,3
Manteiga	5,0	13,8	33,3	33,3	28,6	15,3
Bebida lácteas	-	14,5	15,2	26,7	21,4	11,6
Queijo colonial	30,0	5,7	3,0	6,7	-	11,6
Iogurtes	3,8	11,3	15,2	26,7	7,1	10,3
Requeijão	3,8	3,8	18,2	10,0	21,4	8,0
Queijo parmesão	3,8	3,8	12,1	40,0	21,4	7,3
Doce de leite	6,3	5,7	3,0	26,7	7,1	6,6
Queijo coalho	2,5	3,8	18,2	6,7	14,3	5,6
Soro fluído	-	0,6	12,1	40,0	7,1	4,0
Queijos finos	-	-	3,0	20,0	14,3	2,0
Creme de leite industrial	-	-	3,0	-	35,7	2,0
Leite UHT	-	-	-	-	28,6	1,3
Creme de Leite UHT	-	-	-	-	14,3	0,7
Leite condensado UHT	-	-	-	-	14,3	0,7
Leite concentrado	-	-	-	-	14,3	0,7
Coalhada	-	-	3,0	6,7	-	0,7
Soro concentrado	-	-	-	13,3	-	0,7
Leite em pó	-	-	-	-	7,1	0,3
Soro em pó	-	-	-	-	7,1	0,3
Gordura	-	0,6	-	-	-	0,3
Sobremesa láctea	-	-	3,0	-	-	0,3

Fonte: Pesquisa de campo IPARDES/Instituto EMATER (2010)

Gráfico 5 – Percentual do volume de leite processado, segundo grupo de produtos a que se destinam, Paraná/2009, com base na Pesquisa de campo IPARDES/Instituto EMATER, 2010.



1.3 CONTROLE QUALIDADE NA PRODUÇÃO DE QUEIJOS

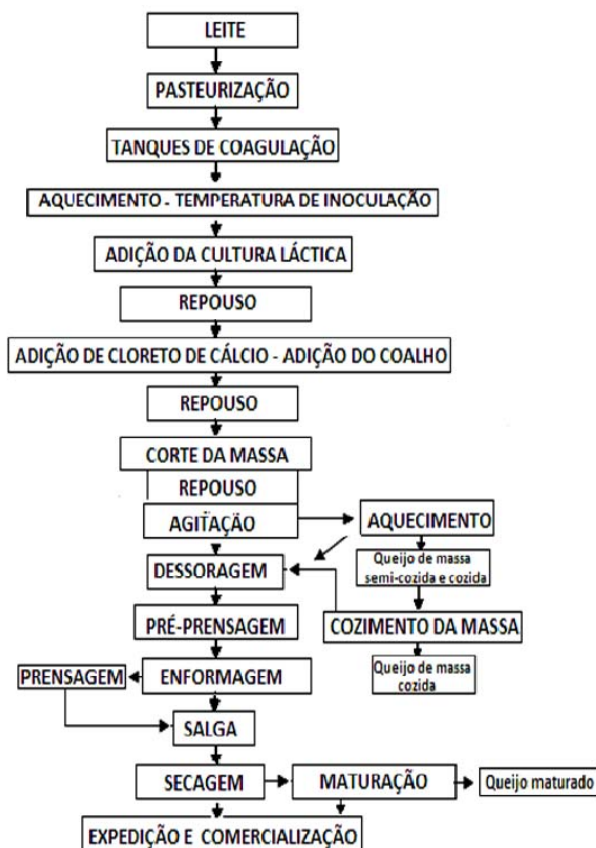
A cadeia produtiva do queijo começa com a pecuária leiteira, passando pela obtenção do leite, seu processamento para a produção do queijo, distribuição, comercialização e consumo (JANK ; GALAN, 1998; PENSA, 2004). Este consumo ocorre de várias maneiras: puro, como ingrediente culinário doméstico, em produtos industrializados (como pizza congelada e lasanha, entre outros), como

ingrediente para os serviços de alimentação fora do lar (em lanchonetes, bares, restaurantes, etc.), entre outros usos (NEVES & CONSOLI, 2006).

1.3.1 Processo De Fabricação De Queijos

O queijo é um derivado lácteo constituído de proteínas, lipídios, carboidratos, sais minerais, cálcio, fósforo e vitaminas, sendo assim um alimento nutritivo. Os minerais participam do processo de coagulação do leite, influenciando a textura do queijo. O líquido residual, cujo teor varia com o tipo de queijo, é chamado lactosoro, parte dele é eliminada durante o processo de fabricação e aproveitada como matéria-prima na produção de iogurtes, ricota e outros produtos (FURTADO, 1991; PERRY, 2004). A fabricação de queijos envolve alguns procedimentos gerais e outros que são específicos de cada tipo. A tecnologia de fabricação compreende as seguintes etapas básicas apresentadas na figura 2 (FURTADO, 1991).

Figura 2 – Figura esquemática das etapas básicas da tecnologia de fabricação de queijos desde a matéria-prima, até a expedição e comercialização do produto final. (FURTADO, 1991).



A primeira etapa de transformação do leite em queijo é a inoculação de cultura (bactérias lácticas) conforme características do queijo que se deseja, seguida da coagulação com fermento lácteo. A função do fermento lácteo é coagular a caseína presente no leite. A principal enzima responsável por essa ação é a renina, uma fosfoproteína de ação proteolítica presente no estômago de ruminantes jovens. Ela atua hidrolisando ligações peptídicas da caseína, transformando-a em para-caseína que precipita em presença de íons Ca^{2+} formando, então a massa de coalho (BEHMER, 1977; PERRY, 2004).

Este processo é dependente da temperatura, do pH e do teor de cálcio do leite. A temperatura ótima de ação do coalho é em torno de 40 °C, mas costuma-se utilizar temperaturas ligeiramente mais baixas (em torno de 35 °C) para evitar que a coalhada fique muito dura. Outro método de coagulação da caseína é adicionar ácido ao leite em quantidade suficiente para igualar o pH do meio ao ponto isoelétrico da proteína (pH 4,5). Neste pH as micelas de caseína agregam-se e precipitam. Esse método fornece queijos de qualidade inferior aos produzidos pelo método enzimático (MCSWEENEY ; SOUZA, 2000; FURTADO, 2005).

Tradicionalmente os coalhos são de origem animal, principalmente de bezerros e porcos, mas, para atender às necessidades especiais de grupos como os vegetarianos e os muçulmanos, foram desenvolvidos coalhos de origem vegetal e microbiana. Coalhos de origem vegetal têm, em geral, bom desempenho, mas os queijos fabricados com eles costumam apresentar sabor rançoso depois de algum tempo de armazenamento. Já os coalhos de origem microbiana têm características bastante semelhantes aos de origem animal (MACHADO, 2004; PERRY, 2004).

Durante a formação da coalhada podem ser adicionados, conforme a necessidade e o interesse do produtor, aditivos como CaCl_2 , nitratos, corantes, etc. O CaCl_2 aumenta o teor de íons Ca^{2+} no leite, acelerando a coagulação da caseína e ajudando a firmar o coágulo. É utilizado, principalmente, quando o teor de proteína no leite não é o ideal, e na fabricação de queijos com leite pasteurizado. Na fabricação de queijos com baixíssimo teor de gordura, adiciona-se Na_2PO_4 antes do CaCl_2 . Esse sal reage com o leite formando $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ coloidal que aumenta a elasticidade do coágulo, funcionando como um substituto dos glóbulos de gordura do leite. O nitrato de sódio ou de potássio tem a função de inibir a ação de bactérias. O nitrato adicionado é reduzido a nitrito, pela ação da xantina oxidase, durante a maturação. Adição de excesso deste sal pode inibir a microbiota láctea, dificultando

a maturação do produto e alterando sua cor e sabor (PERRY, 2004; CANSIAN, 2005; FURTADO, 2005).

O final da coagulação é determinado em função da consistência do gel ou coágulo formado e, na prática, é normalmente denominado ponto de corte da massa. O ponto de corte é determinado, através da verificação da resistência do coágulo ou gel. Imediatamente após atingir o ponto de corte, o coágulo deve ser, então, fracionado ou subdividido, visando acelerar a contração, que promoverá a dessora da massa. Essa dessora será mais intensa quanto maior for a superfície total do coágulo, ou seja, maior subdivisão, sendo a coalhada cortada cuidadosamente em cubos com instrumento denominado lira. (FURTADO, 1991; JERONIMO, 2005).

O corte do coágulo elimina o soro, parte aquosa, e origina uma massa compacta. A fim de evitar que os grãos de massa precipitem, é necessária a agitação ou mexedura da mistura soro e massa, mantendo assim os grãos dispersos. Essa agitação deve ser contínua com movimentos lentos, devido à fragilidade dos grãos. À medida que os grãos de massa se tornam mais firmes devido a dessora, a agitação pode ser mais intensa. O tempo na operação de dessora que envolve agitação e cozimento varia de acordo com o grau de desidratação desejado na massa, que por outro lado, depende da consistência e umidade que se deseja no queijo final. (OLIVEIRA, 1986; OLIVER et al., 2002).

Após a massa atingir a consistência desejada, separada do soro, a massa é submetida a uma pré-prensagem, para a complementação da dessoragem. O bloco de massa resultante é subdividido em fatias de tamanho variável de acordo com a técnica de acidificação a ser adotada. As fatias são normalmente colocadas sobre mesas ou prateleiras, permanecendo nestas condições até que se desenvolva a acidez para a filagem (VALLE, 1991; ROSA, 1998).

O processo de descanso da massa chama-se fermentação, e o tempo pode variar de quatro a seis horas para culturas termofílicas, e até 24 horas para culturas mesofílicas. Quando a massa está fresca, logo ao término da fabricação, o teor de ácido láctico é baixo e o teor de cálcio coloidal é alto (paracaseinato bicálcico). À medida que a fermentação prossegue, o ácido láctico produzido solubiliza o cálcio coloidal na forma de lactato de cálcio, desmineralizando o paracaseinato monocálcico. Durante a etapa de fermentação a lactose é fermentada até a formação de ácido láctico, que reage gradualmente com o

fosfoparacaseinato de cálcio (massa ou coalhada) removendo cálcio e tornando a massa cada vez mais desmineralizada. Simultaneamente, ocorre um abaixamento progressivo do pH até que a quantidade de cálcio, ligando as micelas de paracaseína, que se dissociam progressivamente, atinja um teor tal que permita a massa ser aquecida à 55-58°C e então venha a ser filada (VALLE, 1991).

A operação de filagem é dependente da acidificação prévia da massa, produzida pelo fermento ou cultura láctica adicionada ao leite. A filagem ocorre quando a massa acidificada atinge um ponto de pH de 5,3-5,4, quando é colocada em água na temperatura de 80°C a 90°C, se tornando elástica, ou seja, ao ser esticada, não se rompe, mas sim têm o comportamento de um fio (OLIVEIRA, 1986).

À medida em que a massa aquece, desenvolve-se um comportamento plástico. Os pedaços derretem-se parcialmente, e a massa ao ser sovada manualmente ou através de uma máquina filadora (rosca helicoidal), aumenta a sua elasticidade, podendo ser esticada, formando fios compridos. Durante essa operação a massa atinge cerca de 55 a 60°C e deve ser mantida nessa faixa de temperatura a fim de manter a consistência desejável para a filagem (CANSIAN, 2005; FURTADO, 2005).

Todo produto de massa filada requer, como temperatura mínima para fusão, 55°C; no entanto, a resistência das fibras à filagem decresce com o aumento da temperatura de fusão, que varia de acordo com o tipo de queijo. Temperaturas de fusão mais altas são necessárias em queijos com menor teor de umidade (VALLE, 1991; TAMIME ; LAW, 2001; CANSIAN, 2005).

Com poucas exceções, os queijos contêm entre 0,5-2,0% de NaCl. Durante a salga do queijo, a diferença na pressão osmótica entre a salmoura e a massa faz com que parte da umidade desta seja liberada, arrastando consigo soroproteínas, ácido láctico e minerais dissolvidos, ao mesmo tempo em que o NaCl é absorvido. Para que este equilíbrio funcione bem é importante que a concentração da salmoura e seu pH sejam apropriados; além disso, o teor de cálcio do meio deve ser da ordem de 0,1-0,2% podendo ser ajustado por adição de CaCl_2 , se necessário. A concentração da salmoura deve ficar entre 18-23% de NaCl, para temperaturas entre 10-14 °C, de modo a facilitar a absorção do sal, manter um grau ótimo de dissolução da para-caseína, e evitar contaminação (PERRY, 2004).

No caso de queijos que necessitam de maturação, esta pode ser feita antes ou após a embalagem; em alguns casos, o queijo é deixado maturar por certo período, depois do qual é embalado e levado para completar a maturação, de forma a atingir cor e sabor pretendidos. A cor dos queijos está intimamente ligada à gordura do leite e, por isso mesmo, é sujeita a variações sazonais que são corrigidas pela adição de corantes (TAMIME ; LAW, 2001; CANSIAN, 2005).

1.3.2 Qualidade Da Matéria-Prima Para Queijos

O leite destinado à fabricação de queijos deve ser de boa qualidade e, tanto quanto possível, livre de contaminação bacteriana indesejada ou por agentes químicos como antibióticos, herbicidas, pesticidas, etc. Os queijos devem ser produzidos com matéria-prima de boa qualidade, processados em condições de higiene e transportados, armazenados e comercializados de forma adequada, a fim de evitar, entre outros, a incorporação de matérias estranhas (sujidades) de origem biológica ou não (BRASIL, 1996; CORREIA, RONCADA; 1997; MANOLOPOULOU, 2005).

A pasteurização é um processo térmico que visa destruir os patógenos e reduzir o número de micro-organismos em geral, presentes no leite e derivados. Complementar a essa técnica são a bactofugação e a microfiltração (BARBANO, MART, SANTOS, 2006). A primeira consiste em uma centrifugação realizada em centrífuga especial, hermética, capaz de separar o leite das bactérias e esporos; a segunda consiste em filtrar o leite através de membranas especiais, capazes de reter as bactérias indesejadas (PERRY, 2004; CARVALHO, VIOTTO, KUAYE, 2007).

A boa qualidade microbiológica do leite é fundamental para a preparação de bons queijos. Ela pressupõe um gado saudável, boas práticas de higiene na ordenha e no manuseio do leite, higienização eficiente dos equipamentos e utensílios utilizados e, finalmente, o resfriamento do leite a temperaturas entre 0-4 °C, no máximo 2h após a ordenha. Essas práticas permitem que o leite mantenha a qualidade microbiológica por até 72h, mas não significam ausência de bactérias. Inclusive porque o leite é um ótimo meio para crescimento destes micro-organismos. No Brasil essas condições são conseguidas pela maioria dos grandes produtores,

mas o mesmo não pode ser dito dos médios e pequenos (LISTA, 2005; SANGALETTI et al., 2009).

O leite contaminado é um problema para a indústria laticinista, uma vez que se torna mais ácido, resultando em produtos de má qualidade e mais perecíveis, mesmo se respeitando as condições de temperatura. Este problema é mais grave se considerarmos que o resfriamento não destrói os micro-organismos, nem inibe a ação de suas enzimas, apenas torna-a mais lenta. Alguns micro-organismos são até mesmo capazes de reproduzir-se bem em temperaturas de refrigeração, entre estes encontram-se bactérias produtoras de lipases e proteases que alteram a qualidade nutricional do leite que são os psicotróficos (CANSIAN, 2005, SANGALETTI et al., 2009)

Durante a transformação do leite em queijo ocorre, paralelamente à oxidação da lactose, a redução do oxigênio dissolvido. Em consequência, o interior dos queijos torna-se um ambiente essencialmente microaerófilo onde, portanto, só crescem micro-organismos capazes de resistir a esta condição. Isso significa que micro-organismos exclusivamente aeróbicos como *Pseudomonas*, *Brevibacterium*, *Bacillus* e *Micrococcus* podem desenvolver-se na superfície dos queijos, mas não em seu interior (FOX, 2000, FURTADO, 2005).

1.3.3 Queijo Mussarela

O queijo mussarela é originário da Itália e inicialmente fabricado a partir do leite de búfala. Atualmente, este queijo é produzido com leite de vaca e então classificado como queijo tipo mussarela, sendo largamente consumido e popularizado no Brasil devido ao aumento de sua utilização em restaurantes, pizzarias e redes de alimentação do tipo *fast-food* (FURTADO, 1991).

O queijo mussarela caracteriza-se por apresentar massa filada, de cor branca, textura firme e elástica e sabor ligeiramente ácido. É classificada como um queijo de média a alta umidade, com teor de gordura no extrato seco de 40% a 44%. É geralmente consumido fresco, após passar por um período de estabilização, caracterizado principalmente por melhoria das propriedades funcionais, mediante proteólise, e equilíbrio da concentração de sal entre a superfície e o centro do queijo (FURTADO, 1997). Seu rendimento normal varia entre 9,5 a 10,5L/kg e sua

produção deve ser bem controlada, pois a produção em condições inadequadas pode afetar a durabilidade e segurança do produto (SILVA et al., 2002).

Deve-se levar em consideração que, ainda hoje, a mussarela é fabricada de maneira tradicional, muitas vezes com leite cru e/ou ácido, e com adição de soro fermento. Além disso, o processo de filagem no qual a massa é submetida não é garantia da eliminação de bactérias patogênicas que eventualmente possam estar presentes. Assim, segundo legislação (BRASIL, 1997), o leite que será utilizado como matéria prima para a fabricação deste tipo de queijo deve ser submetido ao tratamento térmico de pasteurização, assegurando fosfatase alcalina residual negativa.

1.3.4 Qualidade do Queijo No Brasil

A ingestão de queijos em condições inadequadas de consumo pode trazer graves consequências para a população sendo, portanto, um problema de saúde pública. Vários são os relatos de intoxicação alimentar devido ao consumo de queijos (PEREIRA, 1991). Segundo Silva (2002), foram observados indicadores de contaminação para o queijo tipo mussarela, onde 20% das amostras analisadas estavam em desacordo com os limites legais para coliformes a 35°C e 15% para coliformes a 45°C. Ainda segundo Oliveira (1998), também foram observados valores maiores de contaminação para o queijo tipo mussarela, sendo que 15% das amostras estavam em desacordo com a legislação. No entanto, ainda têm-se poucos dados sobre a qualidade microbiológica do queijo tipo mussarela no Brasil, em especial em no processo de fabricação pela indústria (NASCIMENTO, PORTO, 2007).

As contaminações podem estar associadas às condições do ambiente de fabricação. Em pequenos laticínios, menos estruturados, não é incomum observar uma série de não conformidades que causam contaminação ambiental e resultam na alta contaminação final: é observado leite ou resíduos de massa de queijo no piso, rachaduras e ladrilhos faltando no piso que acumulam leite e água e ralos mal desenhados que acumulam água e por vezes enferrujados, equipamentos e superfícies que não são devidamente higienizados apresentando depósitos minerais ou mesmo resíduos de massa de queijo em equipamentos como

as liras, além de acondicionamento e manipulação inadequados (SALLOTI et al., 2006, SANTOS et al., 2008).

Nos últimos anos mercado vem sendo favorável à expansão da produção de queijos, uma vez que o consumidor o considera como um alimento importante. Contudo, do ponto de vista microbiológico, esse produto apresenta problemas higiênicos sanitários. O setor deve enfrentar o desafio da expansão frente a um consumidor cada vez mais consciente e exigente quanto à qualidade do que consome. É necessária a capacitação dos profissionais do setor, assim com formar profissionais capacitados para a tarefa (BRANT et al., 2007) O produtor de leite é parte integrante do processo, por um lado o laticínio deve ser rigoroso e exigente quanto à qualidade do leite recebido, pois é ele quem responde pela qualidade do produto final; por outro lado o próprio produtor rural tem a ganhar também, pois é solidário na cadeia produtiva (ESPER, 2006).

1.3.5 Higienização No Processamento De Queijos

A higienização eficiente é o resultado de um conjunto de fatores, entre os quais se destacam as energias, química, mecânica e térmica, além do tempo de contato usado no procedimento. As ações e reações atribuídas a cada uma destas energias durante o processo garantem uma higienização eficiente (FAGAN, 2005).

Após a etapa de processamento dos alimentos, conforme Andrade e Macedo (1996), os equipamentos, utensílios, pias, paredes e ar apresentam elevada carga de resíduos com alto teor nutritivo para o crescimento de micro-organismos e muitos deles (bactérias e fungos) são patógenos, ou seja, podem causar doenças nos consumidores. Assim, a não higienização do ambiente da indústria de alimentos pode favorecer a contaminação dos produtos.

Nas áreas de processamento de alimentos, são fontes reconhecidas de contaminação, aerossóis, os drenos do piso, os sistemas de ventilação, a comunicação entre setores distintos, os alimentos derramados, os sistemas de transporte, entre outras. Assim, a avaliação da contaminação microbiológica de superfícies em locais de risco é considerada um passo básico em direção à prevenção (ANDRADE ; MACÊDO, 1996).

A limpeza e a desinfecção de utensílios, equipamentos e superfícies de manipulação que entram em contato com os alimentos constituem ponto importante para a veiculação de micro-organismos contaminantes. Os alimentos são contaminados mediante contato com utensílios, superfícies e equipamentos insuficientemente limpos. Sabe-se que os micro-organismos patogênicos podem estar presentes em partículas de alimentos ou em água sobre os utensílios lavados inadequadamente (GERMANO ; GERMANO, 2001).

Os equipamentos e utensílios que entram em contato com o alimento devem ser confeccionados em material que apresente as seguintes características: que não transmitam substâncias tóxicas, odores e sabores; não absorventes e resistentes à corrosão e às repetidas operações de limpeza e desinfecção. As superfícies devem ser lisas e estarem isentas de rugosidade e frestas, ou outras imperfeições que comprometam a higiene dos alimentos, ou seja, fontes de contaminação. Madeira e outros materiais que não possam ser limpos e desinfetados adequadamente não devem ser utilizados (SILVA JR, 2007).

A maioria dos equipamentos utilizados para preparação de alimentos na indústria de alimentos é construído em aço inoxidável. A limpeza regular do equipamento é necessária para prevenir o acúmulo de material orgânico e micro-organismos. Os equipamentos mal higienizados podem conter material orgânico (restos de alimento) e micro-organismos. O desenvolvimento de camadas de substrato orgânico é considerado o primeiro estágio na formação de biofilme em uma superfície (CHAMBERLAIN, 1992).

A continua presença de materiais orgânicos, leva a um processo conhecido como fixação de sujidades. A sujidade orgânica de uma superfície afetará as interações dos micro-organismos com a superfície, favorecendo a presença e fixação de micro-organismo, e conseqüentemente a formação de biofilme (VERRAN et al., 2002; VERRAN ; WHITEHEAD, 2006). A presença do material orgânico como substrato influencia nas propriedades de adesão dos micro-organismos e, portanto, tem um impacto sobre a incrustação de superfície e sobre medidas de limpeza dos equipamentos (WHITEHEAD, SMITH, VERRAN, 2008)

As superfícies comumente usadas para processamento de alimentos, como aço inoxidável, polietileno, polipropileno, policarbonato, aço-carbono, teflon e vidro, permitem o crescimento microbiano, quando não higienizadas adequadamente, podendo originar processos de adesão bacteriana e

formação de biofilmes. A presença desses processos nas superfícies de equipamentos e utensílios para processamento de alimentos ocorre em vários níveis de intensidade. A liberação desses micro-organismos poderá trazer consequências indesejáveis à qualidade do alimento produzido, como alteração deste e veiculação de patógenos (ANDRADE ; MACÊDO, 1996).

Não existem, na legislação brasileira, padrões microbiológicos oficiais para superfícies e equipamentos. Os padrões do FDA (Foods and Drugs Administration) e da APHA (American Public Health Association) consideram utensílio limpo, aquele que possui UFC de aeróbios mesófilos menores de 100/utensílio, e sendo 2/cm² para equipamentos (MASSAGUER, 2006). A OPAS (Organização Panamericana da Saúde) para superfícies considera contagens de aeróbios mesófilos, por cm², de 0-10 (excelente), de 1 -29 (bom), 30-49 (regular), 50-99 (mau) e maior que 100 (péssimo) (MORENO, 1982). Silva Jr. (2007) adota como aceitável 50 UFC/cm² para bactérias mesófilas, e ausência de coliformes a 45° C, *Bacillus cereus* e *Salmonella* na área amostrada dos utensílios. Outros autores (GILL, 1998; EISEL et al., 1997) consideram que superfícies visivelmente limpas podem apresentar contagens totais de 10 a 10³ UFC/cm² de aeróbios mesófilos.

1.4 MICRO-ORGANISMOS INDICADORES

Os micro-organismos indicadores fornecem informações sobre as condições sanitárias da produção, processamento e estocagem. Também indicam a possível presença de patógenos e potencial de deterioração do alimento. Entre os principais grupos de micro-organismo indicadores de qualidade higiênico-sanitária no leite estão os aeróbios mesófilos, coliformes, *E.coli* e *Staphylococcus sp.* (FRANCO ; LANDGRAF, 2008).

Micro-organismos indicadores, quando presentes no alimento, podem fornecer informações sobre a origem da contaminação, a possível presença de patógenos ou sobre a deterioração potencial do alimento, além de poderem indicar condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento (FRANCO ; LANDGRAF, 2008, ZOCHE et al, 2002).

1.4.1 Aeróbios Mesófilos

Micro-organismos aeróbios mesófilos são todos aqueles capazes de se desenvolverem em temperaturas entre 20°C e 45°C, e temperatura ótima de crescimento entre 30°C e 40°C em condições de aerobiose. Esses micro-organismos indicam a qualidade sanitária com que o alimento foi obtido ou processado (NERO, BELOTI, BARROS, 2000).

A quantificação de micro-organismos mesófilos visa verificar a contaminação geral de um alimento e tem sido usada como indicador da qualidade dos alimentos, fornecendo também uma ideia sobre seu tempo útil de conservação (FRANCO ; LANDGRAF, 2008; JAY, 2005).

Altas contagens de mesófilos aeróbios ou facultativos em alimentos (acima de 10^6 UFC/g) indicam exposição à contaminação ambiental, permanência por tempo prolongado em temperatura ambiente, e/ou armazenamento em temperatura inadequada de refrigeração (SILVA JR, 2007).

1.4.2 Coliformes a 30°C

Coliformes são reconhecidos como indicadores da qualidade higiênico-sanitária de alimentos. São facilmente destruídos pelo calor e não devem ser encontrados em alimentos que passaram por um tratamento térmico adequado (FORSYTHE, 2005).

Na indústria de laticínios, elas merecem uma atenção especial por aspectos importantes, com relação aos aspectos higiênico-sanitários, uma vez que a sua presença pode indicar falha ou falta de higiene no processo e armazenamento. Do ponto de vista econômico, pode causar o estufamento em queijos, comprometendo sua qualidade (OLIVEIRA ; CARUSO, 1996).

Este grupo, também chamado de coliformes totais, é formado por bactérias da família *Enterobacteriaceae* e apresentam capacidade de fermentar a lactose, produzindo ácido e gás, quando incubadas a 35-37°C por um período de 48 horas (FRANCO ; LANDGRAF, 2008). São bactérias ambientais e sua presença está frequentemente relacionada às práticas ineficientes de higiene durante a produção de alimentos e a má qualidade da água (MORENO et al., 1999).

Na indústria láctea a contagem de coliformes é utilizada como indicativo de baixa higiene na produção do leite ou da contaminação pós-pasteurização (NERO, BELOTI, BARROS, 2000).

1.4.3 Coliformes a 45°C

Os coliformes a 45°C, conhecidos também como coliformes termotolerantes ou fecais, são os coliformes totais que continuam fermentando a lactose com produção de gás, quando incubados a 44 - 45,5°C por 48 horas (VANDERZANT; SPLITTSTOESSER, 1992). Compreende principalmente os gêneros *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia* e *Klebsiella*. Indicam contaminação de origem fecal, e a possível presença de outros enteropatógenos no alimento (JAY, 2005).

A presença de um elevado número de coliformes a 45°C em um alimento, inclusive nos processados, pode ser indicativo da presença de microorganismos de origem fecal e que, portanto, o alimento entrou em contato direta ou indiretamente com matéria fecal (FRANCO ; LANDGRAF, 2008).

1.4.4 Escherichia Coli

A *E. coli* está incluída no grupo dos coliformes termotolerantes e deste grupo, é a única bactéria que representa com segurança contaminação fecal. Isso porque seu habitat primário é o trato intestinal de animais de sangue quente e corresponde a 95% dos coliformes encontrados em fezes humana e de animais (HAJDENWURCEL, 1998). É frequentemente isolada em alimentos e em produtos de origem láctea, inclusive sob refrigeração (CATÃO; CEBALLOS, 2001; FDA, 1998). Os outros coliformes termotolerantes se desenvolvem também no ambiente, prejudicando a relação com contaminação fecal.

A *E. coli* pertence à família *Enterobacteriaceae*, é um bacilo Gram-negativo não esporulado, anaeróbio facultativo e capaz de fermentar glicose com produção de ácido e gás. É a espécie predominante na microbiota intestinal de animais de sangue quente. A *E. coli* é considerada o melhor indicador de contaminação fecal e da possível presença de enteropatógenos (CATÃO; CEBALLOS, 2001).

1.4.5 Staphylococcus sp.

Os estafilococos encontram-se amplamente disseminados no ambiente, o seu reservatório principal é o homem e os outros animais (CHAVES, 1993). Produzem intoxicação alimentar pela produção de uma enterotoxina termoestável (SIQUEIRA, 1995). O *Staphylococcus aureus* é frequentemente encontrado em leite e seus derivados. As infecções estafilocócicas na glândula mamária bovina representam um reservatório de culturas deste micro-organismo (FLOWERS et al., 2005).

A contaminação do queijo por *Staphylococcus* enterotoxigênicos coagulase-positiva e negativa representa um problema de saúde pública pelo risco de causar intoxicação alimentar. Essas bactérias, quando presentes em populações elevadas (10^5 - 10^6 UFC mL⁻¹ ou g⁻¹) e sob condições adequadas (temperatura, pH, atividade de água e O₂), produzem uma ou mais enterotoxinas estafilocócicas nos alimentos, as quais depois de ingeridas causam intoxicação. Em relação aos estafilococos, esses podem ser introduzidos no alimento pelo ato do manipulador levar a mão à boca ou nariz, ou quando este possui lesões estafilocócicas presentes na pele. *S. aureus* é frequentemente pesquisado em alimentos, pois sua presença está associada a práticas de higiene e manipulação inadequadas (PICOLI et al,2006)

1.5 MÉTODOS RÁPIDOS

Os métodos rápidos surgiram a partir da década de 90, como consequência da necessidade de se abreviar o tempo necessário para a obtenção de resultados analíticos e melhorar a produtividade laboratorial. Além desses objetivos, esses métodos visam também a simplificação do trabalho e a redução de custos. Para alguns métodos, a essas vantagens, aliam-se outras como maior sensibilidade e especificidade que os métodos convencionais. Além de facilitar o trabalho do microbiologista, os sistemas comerciais permitem maior confiabilidade e reprodutibilidade. Outras vantagens importantes são a facilidade de estocagem, uso e descarte (FRANCO ; LANDGRAF, 2008).

1.5.1 Metodos Para Detecção De Resíduos De Alimentos

Há uma série de métodos disponíveis (*in situ* e *in vitro*), que podem ser usados para detectar e / ou quantificar a presença de resíduos de alimentos em superfícies. Os métodos utilizados para essa detecção incluem o uso de iodo para a detecção de amido, Azul de Nile para gordura (VERRAN et al., 2002), e de frações de leite e caseína através do método de Lowry (BÖHNER et al., 1991). Métodos rápidos *in situ* utilizados pela indústria de alimentos incluem a bioluminescência como base na mensuração da quantidade de adenosina trifosfato (ATP) como método de detecção. Métodos *in vitro* incluem digitalização por microscopia eletrônica de varredura (MEV) (GOUNGA et al., 2007), e microscopia de epifluorescência (WHITEHEAD et al., 2005), entre outros métodos de natureza química.

A bioluminescência pela mensuração de ATP tem sido amplamente utilizada para a detecção de contaminação microbiana e resíduos de alimentos na indústria de alimentos (GRIFFITH et al, 1994; DAVIDSON et al, 1999), fornecendo uma estimativa em tempo real da limpeza da superfície, sinalizando a presença de restos orgânicos e contaminação microbiana (DAVIDSON et al., 1999). O teste se baseia na reação de bioluminescência, onde a enzima luciferase utiliza a energia química contida na molécula de ATP para promover a descarboxilação oxidativa da luciferina, resultando na emissão de luz. A quantidade de luz emitida é proporcional à quantidade de ATP presente e, portanto, ao grau de carga biológica. A medição é efetuada por aparelho (Luminômetro), e os resultados são expressos em Unidades Relativas de Luz (RLU).

Luz UV (353 nm) também pode ser usada para a detecção de células residuais e sujidades em superfícies industriais, embora não seja feita distinção entre os dois componentes. A configuração molecular da matéria orgânica de alguns resíduos permite a fluorescência quando iluminadas por luz UV (ADHIKARI ; TAPPEL, 1975). Assim, a luz UV pode ser usada para detectar a presença de resíduos quando as superfícies de trabalho são iluminadas de forma adequada em 350 nm, destacando as áreas em uma planta industrial que precisa de uma limpeza mais intensiva. Este método é vantajoso na medida em que não requer contato direto com a superfície (WHITEHEAD, SMITH, VERRAN, 2008).

Todos são métodos utilizados para detectar mudanças físico-químicas de superfície de contato com alimentos. Contudo, vale destacar que nem todos são aplicáveis na rotina diária das indústrias, seja por questões de custo ou por limitações operacionais (WHITEHEAD, SMITH, VERRAN, 2008).

1.5.2 Métodos Rápidos Em Microbiologia

Segundo Forsythe (2005), os métodos rápidos em microbiologia têm sido desenvolvidos para encurtar o tempo entre a coleta da amostra e a obtenção do resultado, já que os procedimentos convencionais são trabalhosos, consomem muito tempo e impedem a rápida correção de falhas de higienização.

O sistema PetrifilmTM é uma alternativa ao método de plaqueamento convencional. São sistemas prontos de meio de cultura que contém diferentes tipos de nutrientes, géis hidrossolúveis a frio, corantes e indicadores, adequados à recuperação de cada tipo de micro-organismo pesquisado. Esses componentes são impregnados nas camadas internas de dois filmes, o superior em polipropileno e o inferior em polietileno, sobrepostos e fixos apenas na extremidade superior, o que confere ao produto maior facilidade para manuseio (3M Company, St. Paul, MN, EUA). O método Petrifilm é aprovado e validado pelos órgãos internacionais, APHA, AOAC International, USDA, USDA-FSIS, FDA dos Estados Unidos da América, SAG – Secretaria Nacional de Agricultura do Chile, HPBM – Health Protection Branch Methods do Canadá, AFNOR – Association Française de Normalisation da França, entre outros (AOAC, 2008; 3M Company, St. Paul, MN, EUA), e também no Brasil, pelo Ministério da Saúde e Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento.

1.5.3 O Sistema PetrifilmTM AC, EC e STX

O *PetrifilmTM AC* consiste de cartões de papel quadriculado revestido de polietileno recoberto com nutrientes desidratados e um gel hidrossolúvel a frio, protegido por um filme plástico superior transparente revestido internamente pelo mesmo gel, além do indicador cloreto de trifeniltetrazólio (TTC), que quando reduzido pelas colônias em crescimento, confere a elas uma coloração vermelha. Sua leitura é realizada após 48 horas de incubação a 35°C.

O sistema *Petrifilm™ EC* fabricado pela 3M™ permite a contagem de *E. coli* e coliformes totais simultaneamente. Utiliza uma mistura desidratada de nutrientes VRB (Vermelho Violeta Bile), um agente geleificante solúvel a frio, um indicador de atividade glicuronidásica e um indicador para facilitar a enumeração da colônia. O filme superior retém o gás formado pelos coliformes e *E. coli* que são fermentadores de lactose. O gás retido ao redor de colônias vermelhas e azuis confirma a presença de coliformes totais, enquanto que as colônias de *E. coli* são confirmadas pela presença de coloração azul, associada à formação de gás. A placa de *Petrifilm™ EC* oferece resultados em 48 horas.

As placas *Petrifilm™ STX* são um sistema de meio de cultura pronto contendo os nutrientes Baird-Parker modificado e um agente gelificante solúvel em água, e o disco reativo *Petrifilm™* de nuclease termoestável que contém DNA, azul de o-toluidina e um indicador de tetrazolium para facilitar a enumeração das colônias. São identificadas, por este método, o *S. aureus*, *S. intermedius* e *S. hyicus* que produzirão reações típicas, pois, são espécies produtoras de termonuclease (3M Company, St. Paul, MN, EUA). Sant'ana e Azeredo (2006) comparando a eficiência do sistema *Petrifilm™ STX* com a metodologia convencional para enumeração de estafilococos coagulase positiva concluíram que o sistema *Petrifilm™* mostrou-se mais seletivo e menos subjetivo que a metodologia tradicional.

1.5.4 3M™ Clean-Trace™ Surface Protein Plus

O teste indica a presença de resíduos de alimentos após a higiene de superfícies de contato com o alimento. O princípio do teste é baseado na reação patenteada de Biureto melhorada, de mudança de cor dos reagentes (NUMA, 1996). Em condições alcalinas, os íons Cobre (Cu^{2+}) formam um complexo com as ligações peptídicas das proteínas e são reduzidos a íons cobre (Cu^+). O ácido bicinconínico (BCA) reage com esse íon, formando o complexo lilás que pode ser visualmente detectado (3M, 2009). A reação do Biureto pode ser utilizada para demonstrar a presença de proteínas em materiais biológicos, como também quantificá-las. A intensidade da cor depende exclusivamente da concentração de proteína (figura 3).

A cor da reação do teste indicará o nível de resíduos de proteína na superfície, e ao se comparar a cor produzida em relação aos padrões constantes no rótulo do *Clean-Trace™ Surface Protein Plus*, pode-se fazer uma estimativa da

eficiência da limpeza da superfície amostrada. Uma coloração verde indica um resultado negativo para presença de resíduos de proteína e limpeza eficiente da superfície amostrada; a coloração cinza indica um resultado suspeito para presença de resíduos, deve-se repetir o teste, e se a coloração se mantiver deve-se decidir se é necessária uma nova limpeza; a coloração roxa indica um resultado positivo, com excesso de resíduos de proteína do alimento, devendo-se repetir a limpeza antes de beneficiar o alimento (figura 4).

Yamada (2011) em teste *in vitro* do swab *Clean-Trace™ Surface Protein Plus 3M™* demonstrou que ele foi capaz de detectar, de forma eficaz, concentrações de até 0,35 g de proteína na superfície utilizada. Concentrações de 0,035 g por superfície resultaram em leitura inconclusiva (cinza na escala do swab), porém, de acordo com o fabricante, esse resultado deve ser interpretado como alerta.

Figura 3 – Variação da coloração na reação do Biureto (adaptado do boletim técnico - *3M™ Clean-Trace™ Surface Protein Plus*)

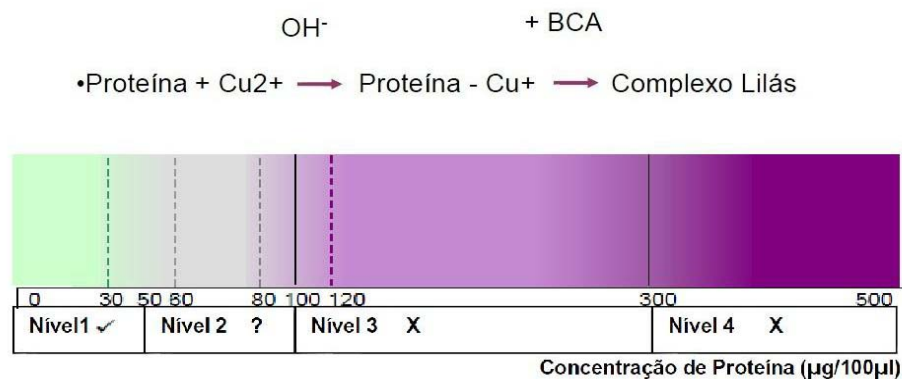


Figura 4 – *Clean-Trace™ Surface Protein Plus* mostrando resultado que indica resíduos de proteína na superfície amostrada.



2 JUSTIFICATIVA

A indústria paranaense de lácteos possui um número elevado de empresas produtoras de queijos, especialmente o mussarela, que está presente em 48% dos laticínios. Em termos de volume, o maior volume de leite destina-se ao processamento de queijos, sendo observado que 53,5% do leite processado no Estado é destinado à produção desse produto. Outra característica desta indústria é concentração de empresas de micro e pequeno porte, totalizando 79,4% no Paraná (CARVALHO, 2010b, IPARDES, 2010).

Em geral as pequenas indústrias são carentes de tecnologia e ferramentas para controle da qualidade e segurança de seus produtos. Para garantir tal segurança, é imprescindível a conservação e a higiene das instalações e dos equipamentos, a atuação eficiente dos responsáveis técnicos pelos estabelecimentos, a origem e a qualidade da matéria-prima, e o grau de conhecimento e preparo dos manipuladores (GERMANO; GERMANO, 2001).

A contaminação ou recontaminação durante o processamento dos queijos é um fator importante na qualidade e segurança final do produto. Dessa forma, as boas práticas de fabricação e as medidas de sanificação durante o processamento são cruciais para a garantia de um produto de qualidade (FOX, 2000; PICOLI et al, 2006).

Diante da problemática que é a detecção de onde e quando ocorre a contaminação no processamento do queijo na indústria, tanto pela lentidão dos métodos disponíveis como pelo custo das análises, estudos que determinem os principais pontos de contaminação e localização de resíduos auxiliam no direcionamento de ações corretivas e na implementação de procedimentos preventivos na indústria. O conhecimento dos principais focos de contaminação também permite diminuir os pontos amostrados na rotina, priorizando pontos de perigo.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Determinar os principais pontos de contaminação microbiológica e de resíduos de alimento em equipamentos de processamento de queijo tipo mussarela em indústrias de laticínios.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a eficiência da limpeza e sanitização das superfícies de equipamentos envolvidos no processo de fabricação de queijo utilizando micro-organismos indicadores: aeróbios mesófilos, coliformes, *Escherichia. coli* e *Staphylococcus aureus*.
- Avaliar a eficiência da limpeza das superfícies de equipamentos envolvidos no processo de fabricação de queijo utilizando o *Clean-Trace™ Surface Protein Plus*, como método de identificação de pontos de contaminação residual.
- Verificar se há coincidência entre pontos de maior contaminação e pontos com resíduos.

4 REFERÊNCIAS

- 3M. *Clean-Trace™ Surface Protein Plus*. **Boletim Técnico**. 3M do Brasil Ltda. 2009.
- ABIQ. Associação Brasileira das Indústrias de Queijo. **QUEIJOS - MERCADO TOTAL BRASILEIRO**. Dados cedidos pelo departamento técnico da ABIQ. Disponível em: <<http://www.abiq.com.br>>. Acesso em: 20 ago. 2011.
- ADHIKARI, H., TAPPEL, A. Fluorescent probes from irradiated amino acids and proteins. **Radiation Research**, 61, 177–183, 1975
- ANDRADE, N.J.; MACÊDO, J.A.B. **Higienização na indústria de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1996. 182p.
- ANUALPEC 2011. Anuário da Pecuária Brasileira. **Informa Economics-FNP/South America**. Pecuária de Leite. p.217-248. 2011.
- ARAÚJO, V.S. Occurrence of Staphylococcus and enteropathogens in soft cheese commercialized in the city of Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, v.92, n.6, p.1172-1177, 2002.
- BARBANO, D. M.; MART, Y.; SANTOS, M. V. Influence of raw milk quality on fluid milk shelf life. **Journal of Dairy Science**, v. 89, (E. Suppl.), p. E15-E19, 2006.
- BARROS, J. J. C., AZEVEDO, A. C., JÚNIOR, L. R. F., TABOGA, S.R., PENNA, A.L.B.. Queijo Parmesão: caracterização físico-química, microbiológica e microestrutura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, n. 2, Junho. 2011.
- BEHMER, M.L.A. Tecnologia do leite: leite, manteiga, queijo, caseína, sorvetes e instalações; produção, industrialização, análise. 7ª ed. São Paulo, Nobel, 1977.
- BOHNER, B., WILBRETT, G., GMEINER, M. Cleanability of slip resistant tiles. **Tile Brick International** 7, 238–242, 1991.
- BONFOH, B. et al. Microbiological quality of cow's milk taken at different intervals from the udder to selling point in Bamako(Mali). **Food Control**, v.14, n.7, p.495-500, 2003.
- BOURGEOIS, C.M.; MESCLE, J.F.; ZUCCA, J. **Microbiología alimentaria**. Zaragoza: Acribia, S.A., 437p. 1994.
- BRANT, L.M.F.; FONSECA, L.M.; SILVA, M.C.C. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo-de-Minas artesanal do Serro-MG Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.59, n.6, p.1570-1574, 2007.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146 de 07 de março de 1996. **Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos**. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do>>. Acesso em: 8 ago. 2011.

BRASIL. Ministério do Trabalho e Emprego. **Relação Anual de Informações Sociais — RAIS**: 2009. Brasília, 2009. CD-ROM.

BRUM, Jaime Victor Ferreira. **Tecnologia de produção**: leite e derivados. Curitiba: SENAI, 184p. 2006.

CAMPOS, Vânia Maria Corrêa de. Uso e necessidade de informação tecnológica: um diagnóstico do setor de laticínios do estado de Minas Gerais. **Perspectivas em Ciência da Informação**, Belo Horizonte, v.2, n.1, p.37-63, jan./jun. 1997.

CANSIAN, E. A. **Avaliação da padronização do queijo mussarela com uso de ferramentas da qualidade: Estudo de caso**. 2005. 138 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

CARVALHO, G. R. A Indústria de laticínios no Brasil: passado, presente e futuro. **Circular Técnica, Embrapa Gado de Leite**, n.102. 2010b.

CARVALHO, G. R. O retrato do mercado nacional. **Revista Leite ; Derivados**, v. 19, n. 118, p. 22-28, 2010a.

CARVALHO, J. D. G.; VIOTTO, W. H.; KUAYE, A. Y. The quality of Minas frescal cheese produced by different technological processes. **Food Control**, v. 18, n. 3, p. 262-267, Mar. 2007.

CARVALHO, L. A.; NOVAES, L. P.; MARTINS, C. E.; ZOCCAL, R.; MOREIRA, P.; RIBEIRO, A.C. C.L.; LIMA, V. M. B. Sistema de Produção de Leite (Cerrado). Embrapa Gado de Leite. 2002. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Leite/LeiteCerrado/introducao.html>>. Acesso em: 10 ago. 2011.

CATÃO, R. M. R.; CEBALLOS, B. S. O. *Listeria spp.*, coliformes totais e fecais e *E. coli* no leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínio, no estado da Paraíba (Brasil). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 21(3): 281-287, set.-dez., 2001.

CHAMBERLAIN, A.H.L. Biofilms and corrosion. **Biofilms — Science and Technology** 223, 207–217, 1992

CHAVES, J. B. P. **Noções de microbiologia e conservação de alimentos**. 2 ed. Viçosa: Universidade de Viçosa, 1993. 114 p.

CHYE, F.Y. Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia. **Food Microbiology**, v.21, n.5, p.535-541, 2004.

CONSELEITE PARANÁ. Manual do Conseleite. 2002. Disponível em: <<http://www.sistemafaep.org.br/Faep/conseleite/regulamento.htm>>. Acesso em: 19 jan. 2010.

CORREIA, Marlene; RONCADA, Maria José. Características microscópicas de queijos prato, mussarela e mineiro comercializados em feiras livres da Cidade de São Paulo. **Rev. Saúde Pública**, 31(3): 296-301, 1997.

COSTA, P. D.; **Avaliação da técnica de ATP- bioluminescência no controle do procedimento de higienização na indústria de laticínios.** Viçosa, 2001. 79f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.

DAVIDSON, C., GRIFFITH, C., PETERS, A., FIELDING, L. Evaluation of two methods for monitoring surface cleanliness — ATP bioluminescence and traditional hygiene swabbing. **Luminescence**, 14, 33–38, 1999.

DIAS, J. C. **500 anos de leite no Brasil.** São Paulo: Calandra Editorial, 2006.

DOYLE, M.P. et al. E. coli O157:H7. In: DOYLE, M.P. et al. (Eds). **Food microbiology – Fundamentals and frontiers.** Washington, DC: ASM, p.171-191, 1997.

EDWARDS, C. The Madness of American Milk Prices. **Cato Institute**, Washington, 2007. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/outras-secoes/comercio-internacional/cenario-internacional-do-setor-agroindustrial-leiteiro-eua-e-canada-73784n.aspx>> Acesso em: 05 ago. 2011.

EISEL, W.G.; LINTON, R.H.; MURIANA, P.M. A survey of microbial levels for incoming raw beef, environmental sources, and ground beef in a red meat processing plant. **Food Microbiology**, v. 14, p.273-282, 1997.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Gado de Leite. **Produção, Industrialização e Comercialização** (Produção – tabela 02.30). Disponível em: <<http://www.cnpqgl.embrapa.br>>. Acesso em: 12 ago. 2011.

ESPER, L.M.R. Diagnóstico da qualidade de ricotas comercializadas no município de Campinas SP. Dissertação para Obtenção do Título de Mestre em Tecnologia de Alimentos, Fac. Eng, Alimentos, UNICAMP, Campinas, 2006.

FAGAN, E. P.; BELOTI, V.; BARROS, M. A. F.; MÜLLER, E. E.; NERO, L. A.; SANTANA, E. H. W.; MAGNANI, D. F.; VACARELLI, E. R.; SILVA, L. C.; PEREIRA, M. S. Avaliação e implantação de boas práticas nos principais pontos de contaminação microbiológica na produção leiteira. **Semina, Ciências Agrárias**, Londrina, v.26, n.1, p.83-92, jan./mar. 2005.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Food Outlook** . 2011. Disponível em: <<http://www.fao.org/worldfoodsituation>>. Acesso em: 01 ago. 2011.

FILHO, R. R. L.; POMBO, G.. Aumenta o consumo de queijo no Brasil. **Carta Leite – Scot Consultoria**. 2010. Disponível em: <www.scotconsultoria.com.br>. Acesso em: 18 ago. 2011.

FLOWERS, R. S. et al. Pathogens in milk and milk products. In: MARSHALL, R. T. **Standard methods for the examination of dairy products.** Washington: American Public Health Association, 2005. p. 103-212.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). **Methods to reduce/eliminate pathogens from fresh and fresh-cut produce**. 2001. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov>>. Acesso em: 03 mar. 2008.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Bacteriological analytical manual**. 8.ed. Arlington: AOAC, 1998, p.29-34.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2005.

FOX, P. F. **Fundamentals of cheese science**. Gaithersburg: AN Aspen Publication, 2000. 587 p.

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

FURTADO, M. M. **Principais problemas dos queijos: causas e prevenção**. Edição Revisada e Ampliada. São Paulo: Fonte Comunicação e Editora, 2005. 200 p.

FURTADO, M.M. A arte e a ciência do queijo. 2aed. São Paulo: Ed. Globo, 1991. 297p.

FURTADO, M.M. Manual prático da mussarela (pizza cheese). Campinas: Master Graf, 1997. 70p.

GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. **Higiene e Vigilância Sanitária dos Alimentos**. 2 ed. São Paulo: Varela, 2001. p.252-255.

GILL, C.O. Microbiological contamination of meat during slaughter and butchering of cattle, sheep and pigs. **In: Microbiology of Meat and Poultry**, eds. DAVIES, A.; BOARD, R. Blackie Academic and Professional, London, p.118-157, 1998.

GOUNGA, M.E., XU, S.Y., WANG, Z. Whey protein isolate-based edible films as affected by protein concentration, glycerol ratio and pullulan addition in film formation. **Journal of Food Engineering** 83, 521–530, 2007.

HAJDENWURCEL, J. R. **Atlas de microbiologia de alimentos**. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora, 1998. 66p.

HAYES, P. R. **Microbiología e higiene de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, S.A., 369p, 1993.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de orçamento familiares (POF) 2008-2009. Brasília, 2010. Disponível em: www.ibge.gov.br. Acesso em: 10 ago. 2011.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Sistema IBGE de Recuperação Automática. Disponível em: <www.sidra.ibge.gov.br>. Acesso em: 09 ago. 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Estatística da produção pecuária**. Brasília, 2010. Disponível em:

<<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=74;z=t;o=23>>. Acesso em: 05 jan. 2011.

IPARDES. Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social. Relatório: Caracterização socioeconômica da atividade leiteira no Paraná. Curitiba : **IPARDES**, 2008.

IPARDES. Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social. Relatório: Caracterização da indústria de processamento e transformação do leite no Paraná. Curitiba: **IPARDES**, 2010.

JANK, Marcos Sawaya; GALAN, Valter Bertini. Competitividade do sistema agroindustrial do leite. In: FARINA, Elizabeth Maria Mercier Querido; ZYLBERZTAJN, Décio (coord.). **Competitividade no agribusiness brasileiro**: estudo elaborado para o IPEA. São Paulo: PENZA/FIA/FEA/USP, jul. 1998. Vol. 2, p. 177-271. Disponível:

<http://www.fundacaofia.com.br/pensa/pdf/relatorios/ipea/Vol_II_Leite.PDF>. Acesso em: 22 ago. 2011.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**, 6ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2005, 711p.

JERONIMO, M. **O cotidiano no ensino do processamento de queijos: recursos instrucionais alternativos**. Seropédica: UFRRJ, 118 f. Dissertação, Mestrado em Educação Agrícola, Rio de Janeiro, 2005.

LACAZE, V. **Las regulaciones de alimentos y los consumidores**: Estudio de caso en el sector lácteo de la Argentina actual, Diseño y Gestión de Políticas y Programas Sociales. Facultad Latinoamericana de Ciencias Sociales, Mar del Plata, pp. 271, 2008. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/outras-secoes/comercio-internacional/cenario-internacional-do-setor-agroindustrial-leiteiro-eua-e-canada-73784n.aspx>>. Acesso em: 05 ago. 2011.

LÁCTEA BRASIL. **Cadeia láctea**: definições de produtos lácteos (MAPA). Ribeirão Preto (SP), 2006a. Disponível em:

<<http://www.lactea.org.br/pagina.asp?idS=12;idN=49>>. Acesso em: 22 ago. 2011.

LÁCTEA BRASIL. **Queijo**: alimento nobre e saudável 2006b. Disponível em:

<<http://www.lactea.org.br>>. Acesso em: 25 ago. 2011.

LISITA, M. O. **Evolução da população bacteriana na linha de produção do queijo Minas Frescal em uma indústria de laticínios**. Piracicaba, SP. 61 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 2005.

MACHADO, E. C. et al. Características físico-químicas e sensoriais do queijo Minas artesanal produzido na região do Serro, Minas Gerais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 4, p. 516-521, out./dez. 2004.

MANOLOPOULOU, E. Evolution of microbial populations during traditional Feta cheese manufacture and ripening. **International Journal of Food Microbiology**, v. 82, n. 2, April 2005.

MARTINS, Marcelo Costa. Competitividade da cadeia produtiva do leite no Brasil. **Revista de Política Agrícola**, Brasília, v.27, n.3, p.38-51, jul./set. 2004.

MARTINS, Paulo do Carmo; FARIA, Vital Pedroso de. Histórico do leite no Brasil. In: CÔNSOLI, Matheus Alberto; NEVES, Marcos Fava (Coord.). **Estratégias para o leite no Brasil**. São Paulo: Atlas, p.48-65, 2006.

MASSAGUER, P.R. **Microbiologia dos processos alimentares**. São Paulo: Livraria Varela. 1 ed. 2006. 258p.

MCSWEENEY, P. L. H.; SOUSA M. J. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheese during ripening: a review. **Le Lait**, v. 80, p. 293 – 324, 2000.

MORENO, I.; VIALTA, A.; LERAYER, A. L. S.; SALVA, T. J. G.; VAN DENDER, A G. F.; MACHADO, R. C. Qualidade microbiológica de leites pasteurizados produzidos no estado de São Paulo. **Indústria de Laticínios**, São Paulo, v.13, n. 20, p. 56-61, 1999.

MORENO, I.; VIALTA, A.; VALLE, E.J.L. Micro-organismos responsáveis pelas principais deteriorações do requeijão e outros tipos de queijos fundidos (artigo de revisão). **Revista Indústria de Laticínios**, Caderno Fazer Melhor, São Paulo, v.19, p.72-5, set./out. 2002.

MORENO, L.S. **Higiene de lá alimentación**, Barcelona: Editora Aedos, 1982. 250p.

MOSHE; D. F. **Projeto piloto de sustentabilidade da cadeia agroalimentar do leite de base familiar em Pernambuco**: implantação de padrões de segurança alimentar para o Queijo de Coalho do Agreste Pernambucano. Recife: SEBRAE-PE, 2007.

NERO, L. A. ; BELOTI, V. ; BARROS, M. A. F. Métodos rápidos e automatizados para enumeração de micro-organismos indicadores em leite - utilização no Brasil. **Semina Ci. Agrárias**, Londrina, v. 21, n. 1, p. 115-126, mar. 2000

NASCIMENTO, H.H., PORTO, E. **Avaliação higiênico sanitárias de ricotas comercializadas em Piracicaba**, SP In: 15^o Simpósio de Iniciação Científica da Universidade De São Paulo, Pirassununga.2007.

NEVES, Marcos Fava; CONSOLI, Matheus Alberto. Projeto PENZA: mapeamento e quantificação da cadeia produtiva do leite – relatório final. In: **WORKSHOP DO SISTEMA AGROINDUSTRIAL DO LEITE/PENZA/USP**, São Paulo, 2006. 34 p. Disponível em: <http://www.fundacaofia.com.br/pensa/workshop/leite/1_sumario_executivo_tomografia_cadeia_do_leite.pdf>. Acesso em 20 ago. 2011.

NUMA, E. N. Two-pack aqueous coating composition. U.S. Patent Number 5,519,089. May 21, 1996.

OLIVEIRA, A. J.; CARUSO, J. G. B. **Leite**: obtenção e qualidade do produto fluido e derivados. 2.ed. Piracicaba: FEALQ, cap.3, p.27-43, 1996.

OLIVEIRA, C. A.F. Características físico-químicas e microbiológicas de queijos minas frescal e mussarela produzidos em algumas fábricas de laticínios de São Paulo. **Higiene Alimentar**, v.12, n.55, p.31-35, 1998.

OLIVEIRA, S. J. Queijo: Fundamentos Tecnológicos. 2 Ed. Editora UNICAMP. Campinas-SP, 1986.

OLIVER, C. A.; MORENO J. F. G ; MISTIER L.; GERMAN; P. M. L. Características físico-químicas e microbiológicas de queijos minas frescal e mussarela, produzidos em algumas fábricas de laticínios do estado de São Paulo. **Revista Higiene Alimentar** – 2002.

PENSA (Programa de Estudos dos Negócios do Sistema Agroindústria – USP); FNP CONSULTORIA. Anualpec 2004: anuário de pecuária brasileira. São Paulo, FNP, 2004. Disponível em: <<http://www.fnp.com.br/prodserv/anuarios/index.php>>. Acesso em: 23 ago. 2011.

PEREIRA, M.L., LARA, M.A., DIAS, R.S. et al. Intoxicação por *Staphylococcus aureus* provocada por queijo "tipo Minas". *Rev Microbiol*, São Paulo, v.22, p.349-350, 1991.

PERRY, Katia da Silva Peixoto. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, São Paulo, v.27, n.2, p.293-300, mar./abr. 2004.

PICOLI, S. U.; BESSA, M. C.; CASTAGNA, S. M. F.; GOTTARDI, C. P. T.; SCHMIDT, V.; CARDOSO, M. Quantificação de coliformes, *Staphylococcus aureus* e mesófilos presentes em diferentes etapas da produção de queijo frescal de leite de cabra em laticínios, **Ciênc. Technol. Aliment.**, Campinas, 26(1): 64-69, jan.-mar. 2006.

ROSA, C. C. B. Avaliação dos efeitos de temperaturas de filagem de agentes coagulantes sobre as características físico-químicas e funcionais do queijo mussarela. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Viçosa. Minas Gerais 63 p., 1998.

SALLOTI, B.M.; CARVALHO, A.C.F.B.; AMARAL, L.A., VIDAL MARTINS, A.M.C. ; CORTEZ, A.L. Qualidade microbiológica do queijo Minas frescal comercializado no município de Jaboticabal, Sp, Brasil. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.73, n.2, p.171-175, abr./jun., 2006

SANGALETTI, N.; PORTO, E.; BRAZACA, S.; CANNIATTI, G.; YAGASAKI, C. A.; DALLA DEA, R.; SILVA, M.V. Estudo da vida útil de queijo Minas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 29(2): 262-269, abr.-jun. 2009.

SANTOS, M; SILVA, T.V.; GIOSKI, L.J.; PELOZATO, E. ; SANTA, H.S.D. Avaliação microbiológica dos queijos fabricados por pequenos produtores rurais do município de Guarpuava e região In: Salão de Cultura e Extensão, Universidade Estadual do Centro Oeste, Paraná, 2008.

SEAB. Secretaria da Agricultura e do Abastecimento do Paraná – SEAB. **Informativo Diário-Pecuária de Leite**. 2010. Disponível em: <http://www.seab.pr.gov.br/modules/qas/categoria.php?pagina=2;cod_categoria=16>

ordenacao=data;tipo_ordem=DESC;filtroTitulo=;filtroDataIni=1262609400;filtroDataFim=1293721800>. Acesso em: 20 ago. 2011.

SEBRAI. Agência de Apoio ao Empreendedor e Pequeno Empresário. Queijos nacionais : estudos de mercado SEBRAE, ESPM 2008 : sumário. Disponível em:<[http://www.biblioteca.sebrae.com.br/bds/BDS.nsf/4416AA3881FA433B832574DC00471EF1/\\$File/NT0003909A.pdf](http://www.biblioteca.sebrae.com.br/bds/BDS.nsf/4416AA3881FA433B832574DC00471EF1/$File/NT0003909A.pdf)>. Acesso em: 18 ago. 2011.(a)

SEBRAI. Agência de Apoio ao Empreendedor e Pequeno Empresário. Queijos nacionais : estudos de mercado SEBRAE, ESPM 2008 : relatório completo. Disponível em:
<[http://www.biblioteca.sebrae.com.br/bds/BDS.nsf/CE9D867B5588F857832574DC00472D49/\\$File/NT0003909E.pdf](http://www.biblioteca.sebrae.com.br/bds/BDS.nsf/CE9D867B5588F857832574DC00472D49/$File/NT0003909E.pdf)>. Acesso em: 18 ago. 2011.(b)

SILVA JR, E.A. **Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação**. 6ed. São Paulo: Varela, 2007. 623p.

SILVA, A.C.O., COSTA, H.L., HOTTA, J.M. et al. Pesquisa de coliformes a 30oC e coliformes a 45oC em queijo tipo mussarela. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, v.327, p.301-304, 2002.

SILVA, A.C.O., COSTA, H.L., HOTTA, J.M. et al. Pesquisa de coliformes a 30°C e coliformes a 45°C em queijo tipo mussarela. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, v.327, p.301-304, 2002.

SIQUEIRA, R. S. **Manual de Microbiologia de Alimentos**. Brasília: EMBRAPA – SPI; Rio de Janeiro: EMBRAPA – CTAA, 1995. 159 p.

TAMIME, A. Y.; LAW, B. A. Mechanisation and automation in dairy technology, U.S.A.- Canada. **Sheffield Academic Press**, p. 336, 2001.

USDA. United States Department of Agriculture. Foreign Agricultural Service. **Production, Supply and Distribution – Online**. 2011. Disponível em:
<http://www.fas.usda.gov/psdonline/psdQuery.aspx>. Acesso em: 16 ago. 2011.

VALLE, J.L E. Influência de parâmetros físico-químicos na fermentação e filagem do queijo tipo Mussarela. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. São Paulo, 1991.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D.F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3.ed. Washington: American Public Health Association, 1992. 1219p.

VERRAN, J., BOYD, R.D., HALL, K.E., WEST, R. The detection of microorganisms and organic material on stainless steel food contact surfaces. *Biofouling* 18, 167–176, 2002.

VERRAN, J., WHITEHEAD, K.A. Assessment of organic materials and microbial components on hygienic surfaces. *Food and Bioproducts Processing* 84, 260–264, 2006.

WHITEHEAD, K.A., COLLIGON, J., VERRAN, J. Retention of microbial cells in substratum surface features of micrometer and sub-micrometer dimensions. *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces*, 41, 129–138, 2005.

WHITEHEAD, K.A., SMITH, L.A., VERRAN, J. The detection of food soils and cells on stainless steel using industrial methods: UV illumination and ATP bioluminescence. *International Journal of Food Microbiology*, 127, 121–128, 2008.

YAMADA, A. K. Rastreamento de contaminações microbiológicas e resíduos de proteína em indústrias de laticínios. 2011. 77 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2011.

5 ARTIGO 1

AVALIAÇÃO DOS PRINCIPAIS PONTOS DE CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA NA PRODUÇÃO DE QUEIJO TIPO MUSSARELA.

RESUMO: O presente trabalho buscou identificar os principais pontos de contaminação microbiológica em instalações e equipamentos de processamento de queijo tipo mussarela em laticínios. A pesquisa foi conduzida em quatro laticínios produtores de queijo tipo mussarela, em diferentes municípios, localizados na região central e sul do estado do Paraná, no período de abril de 2010 a outubro de 2012. As visitas eram pré-agendadas nos laticínios, localizados nos municípios de Ivaiporã, Jardim Alegre, Cândido de Abreu e Ponta Grossa. Todos os laticínios utilizavam sistema similar de produção de queijo tipo mussarela, com capacidade média de processamento de 300 mil/litros/mês, sob sistema de inspeção estadual (SIP). Utilizando o sistema *Petrifilm*TM para análise microbiológica verificou-se que os principais pontos de contaminação para aeróbios mesófilos foram a tubulação de vazão do leite pasteurizado, a tubulação de saída do tanque de coagulação e corte, e as mãos dos manipuladores. Para coliformes totais os principais pontos de contaminação foram a tubulação de saída do tanque de coagulação e corte, e as prateleiras de fermentação e repouso. Para *Escherichia coli* os principais pontos foram a tubulação de saída do tanque de coagulação e corte, as prateleiras de fermentação e repouso da massa e às mãos de funcionários que manipulavam o produto. Já para *Staphylococcus aureus* o único ponto de contaminação foram às mãos dos manipuladores. Esses resultados indicam ineficiência nos processos de higienização dos equipamentos.

Palavra-Chave: Leite. Queijo mussarela. Laticínio. Qualidade. Contaminação.

EVALUATION OF THE MAIN POINTS OF MICROBIOLOGICAL CONTAMINATION IN THE PRODUCTION OF MOZZARELLA CHEESE TYPE.

ABSTRACT: This study aims to identify the main points of microbiological contamination in processing equipment of dairy mozzarella cheese. The research was conducted in four dairy mozzarella cheese producers in different counties, located in the central and southern state of Paraná, in the period April 2010 to October 2012. The visits were pre-arranged in dairy products, which were located in the municipalities of Ivaiporã, Jardim Alegre, Cândido de Abreu and Ponta Grossa. All used dairy production system similar to mozzarella cheese. Using *Petrifilm*TM system for microbiological analysis it was found that the main points of contamination for aerobic mesophilic was the pipe flow of pasteurized milk, the outlet pipe from the tank coagulation and cutting, and the hands of manipulators. For total coliform contamination the main points were the outlet pipe from the tank coagulation and cutting, and the shelves of fermentation and rest. For *Escherichia coli* the main points of contamination were the outlet pipe cutting and coagulation tank, shelves and fermentation of the dough and rest in the hands of officials who handled the product. As for the single point *Staphylococcus aureus* contaminations were at the hands of manipulators. These results indicate inefficiency in the process of cleaning equipment.

Keyword: Milk. Mozzarella cheese. Dairy. Quality. Contamination.

5.1 INTRODUÇÃO

A indústria paranaense de lácteos possui um número elevado de empresas produtoras de queijos, especialmente o mussarela, que está presente em 48% dos laticínios. O maior volume de leite destina-se ao processamento de queijos, sendo observado que 53,5% do leite processado no Estado do Paraná se destina à produção desse produto. Outra característica desta indústria é a concentração de empresas de micro e pequeno porte, que correspondem a 79,4% do total (CARVALHO, 2010, IPARDES, 2010). Em geral as pequenas indústrias são carentes de tecnologia e ferramentas para controle da qualidade e segurança dos alimentos produzidos. Para garantir tal segurança, é imprescindível a higiene das instalações e dos equipamentos, a atuação eficiente dos responsáveis técnicos pelos estabelecimentos, a origem e a qualidade da matéria-prima, e o nível de conhecimento e preparo dos manipuladores (GERMANO e GERMANO, 2001).

O leite é matéria prima para a produção de queijos e derivados, sendo assim, fundamental que tenha boa qualidade. A composição do leite, sua microbiota natural, a contaminação pós-pasteurização, o transporte, o processamento e manipulação, os equipamentos, a temperatura durante estocagem e a distribuição, podem resultar em altos níveis de micro-organismos indesejáveis e mesmo patogênicos em queijos (ARAÚJO et al., 2002). Por isso, é importante considerar que a contaminação ou recontaminação durante o processamento dos queijos é um fator importante na qualidade e segurança final do produto. Dessa forma, o conhecimento dos principais pontos de contaminação em queijarias permite a implementação das boas práticas de fabricação e as medidas de higienização para garantia de um produto de qualidade (FOX, 2000; PICOLI et al,2006).

Com a finalidade de auxiliar nesse propósito, surgiram a partir da década de 90, os chamados métodos rápidos de análise, como consequência da necessidade de se abreviar o tempo necessário para a obtenção de resultados analíticos e melhorar a produtividade laboratorial. Além desses objetivos, esses métodos visam também a simplificação do trabalho e a redução de custos. Para alguns métodos, a essas vantagens, aliam-se outras como maior sensibilidade e especificidade do que os métodos convencionais. Além de facilitar o trabalho do microbiologista, os sistemas comerciais permitem maior confiabilidade e

reprodutibilidade. Outras vantagens importantes são a facilidade de estocagem, uso e descarte (FRANCO ; LANDGRAF, 2008).

Como exemplo, podemos citar o sistema *Petrifilm*TM que é uma alternativa ao método de plaqueamento convencional. É método aprovado e validado pelos órgãos internacionais como a American Public Health Association - APHA, Association of Official Analytical Chemists - AOAC International, United States Department of Agriculture - Food Safety and Inspection Service - USDA-FSIS, Foods and Drugs Administration-FDA, SAG – Secretaria Nacional de Agricultura do Chile, HPBM – Health Protection Branch Methods do Canadá, AFNOR – Association Française de Normalisation da França, entre outros (AOAC, 2008; 3M Company, St. Paul, MN, EUA), e também no Brasil, pelo Ministério da Saúde e Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento.

Segundo Forsythe (2005), os métodos rápidos em microbiologia têm sido desenvolvidos para encurtar o tempo entre a coleta da amostra e a obtenção do resultado, já que os procedimentos convencionais são trabalhosos, consomem muito tempo e impedem a rápida correção de falhas de higienização, sendo limitante na detecção de pontos de contaminação no processo de fabricação dos alimentos.

O presente trabalho buscou identificar os principais pontos de contaminação microbiológica em equipamentos de processamento de queijo tipo mussarela em laticínios, utilizando o sistema *Petrifilm*TM.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida em quatro laticínios produtores de queijo tipo mussarela, nos municípios de Ivaiporã, Jardim Alegre, Cândido de Abreu e Ponta Grossa, localizados na região central e sul do estado do Paraná, no período de abril de 2010 a outubro de 2012. As visitas para coleta das amostras eram pré-agendadas e todos os laticínios utilizavam sistema similar de produção de queijo tipo mussarela, com capacidade média de processamento de 300 mil/litros/mês, sob sistema de inspeção estadual (SIP). Os laticínios foram identificados aleatoriamente pelas letras A, B, C e D.

5.2.1 Amostragem

A amostragem foi realizada em oitos pontos de superfícies de equipamentos: tubulação de vazão do leite pasteurizado; tanque de coagulação e corte; tubulação de saída tanque de coagulação e corte; tanque e prensa para separação do soro; prateleiras de fermentação e repouso da massa; entrada filadeira; forma de modelagem da massa pós filagem; prateleira da câmara fria depois da salga. Também foram avaliados os seguintes itens: leite cru, leite pasteurizado, massa coalhada antes e pós processo de filagem, salmoura, queijo final, água da indústria e mãos de funcionários, totalizando 16 itens para avaliações. Todas as coletas foram realizadas com três repetições por ponto, por laticínio estudado, e em dias diferentes, exceto o laticínio D onde se realizou apenas duas repetições. Os laticínios foram avaliados no período da manhã antes do início dos trabalhos de cada laticínio. O fluxo de processamento e os pontos de superfícies de equipamentos amostrados estão demonstrados na quadro 1.

Todos os laticínios realizavam seus procedimentos de limpeza e sanitização no final dos trabalhos do dia anterior, portanto, no período das coletas os equipamentos estavam prontos para utilização. Antes da entrada de produto para produção do queijo, foram colhidas amostras das superfícies dos equipamentos, nos pontos de interesse, por meio da técnica de esfregação de superfície (ABNT, 1988), utilizando *Quick Swabs 3M™* (3M Company, St. Paul, MN, USA) contendo 1 mL de caldo Lethen e moldes plásticos estéreis como delimitadores de área. Utilizaram-se dois *swabs* por superfície, nos pontos avaliados, para que se obtivesse volume de caldo Lethen suficiente para realização das análises.

Quadro 1 – Pontos amostrados de processamento de queijo mussarela, identificando pontos de amostragem com *swabs* para análises microbiológicas, aplicados em quatro laticínios, localizados na região central e sul do estado do Paraná, no período de abril de 2010 a outubro de 2012.

Amostragem dentro do processo de produção		Porções Amostradas
A1	Leite cru.	1.000 mL
A2	Tubulação de vazão do leite pasteurizado.	3 cm ²
A3	Leite Pasteurizado.	1.000 mL
A4	Tanque de coagulação e corte.	50 cm ²
A5	Tubulação de saída tanque de coagulação e corte.	3 cm ²
A6	Tanque e prensa para separação do soro.	30 cm ²
A7	Prateleiras de fermentação e repouso da massa.	30 cm ²
A8	Massa pré-filagem.	500 g
A9	Entrada Filadeira.	50 cm ²
A10	Massa pós-filagem.	500 g
A11	Forma de modelagem da massa pós filagem.	15 cm ²
A12	Salmoura.	1.000 mL
A13	Prateleira câmara fria depois da salga.	30 cm ²
A14	Queijo Final.	3.000 g
A15	Mão Manipulador.	palmas das mãos
A16	H2O.	1.000 mL

As amostras de leite cru foram obtidas nas plataformas de recepção. As amostras de leite pasteurizado foram obtidas antes do processo de coagulação do leite. A massa coalhada foi amostrada antes do processo de filagem, sendo colhida uma amostra representativa da mesma massa após processo de filagem, antes de ser colocada para moldagem em forma. As amostras de salmoura foram retiradas após agitação do tanque de salmoura com o auxílio de concha de aço inoxidável esterilizada. Para avaliação do queijo no finaldo processo, foram separadas peças de 1kg do produto após serem embalados. Também foram separadas amostras de água, utilizada nos laticínios e realizado *swab* das mãos de funcionários que manipulavam o produto. Todas as amostras foram armazenadas em bolsas plásticas estéreis (Nasco[®], Estados Unidos), e transportadas de forma refrigerada em caixa térmica, contendo gelo reciclável, até laboratório. As amostras foram analisadas no laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal (LIPOA) da Universidade Estadual de Londrina (UEL) e no Laboratório de Microbiologia do Centro Mesorregional de Excelência em Tecnologia do Leite, na Univesidade

Federal do Paraná, conforme a proximidade com os municípios onde se localizavam os laticínios.

Para todas as amostras de leite e *swabs* de mãos, foram realizadas análises de contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos, coliformes totais (CT), *Escherichia coli* (EC) e *Staphylococcus aureus* (SA). Já para as amostras de massa coalhada antes e pós filagem e queijo, foram realizadas apenas as contagens de CT, EC e SA. Para amostras de água foram realizadas as contagens de CT e EC.

5.2.2 Preparo das Amostras

Ao chegarem ao laboratório as amostras foram homogeneizadas e diluídas em escala decimal seriada com solução salina peptonada estéril 0,85%. As amostras de leite pasteurizado foram diluídas até 10^{-3} , e amostras de água até 10^{-1} . Das amostras sólidas foram separados 25g de produto e diluídos em 225 mL de solução salina peptonada estéril 0,85%, com diluição até 10^{-5} .

Quanto às amostras de superfície, os dois *swabs* de cada superfície foram homogeneizados formando um *pool*, e em seguida diluídos em solução salina peptonada estéril 0,85% até a diluição 10^{-5} . As amostras de *swabs* de mãos foram processadas da mesma forma, mas diluída até 10^{-3} .

5.2.3 Contagem de Micro-Organismos Indicadores

Utilizou-se Petrifilm™ AC, para a contagem de aeróbios mesófilos, Petrifilm™ EC, para contagem de coliformes totais e *Escherichia coli*, e Petrifilm™ STX e Petrifilm™ *Staph Express Count Plates*, para contagem de *Staphylococcus aureus*. Todos foram utilizados de acordo com as instruções do fabricante (3M Company, St. Paul, MN, USA). Após período de incubação foram realizadas as contagens, sendo os resultados calculados pela multiplicação do fator de diluição expressando o resultado em Unidades Formadoras de Colônia (UFC) por mL (UFC/mL). No caso das amostras de superfícies, os resultados da multiplicação dos fatores de diluição foram divididos pela área amostrada, expressando o resultado em UFC por cm² (UFC/cm²). Para leite cru e pasteurizado, realizou-se a semeadura em Ágar Padrão de Contagem (PCA). Todas as amostras de leite cru e pasteurizado foram semeadas em duplicata, sendo em seguida incubadas a 35°C por 48 horas

(BRASIL, 2003). Após esse período, fez-se a contagem do número de colônias em cada placa, multiplicou-se a média aritmética das duplicatas pelo respectivo fator de diluição, e os resultados foram expressos em UFC/ml.

5.2.4 Análise Estatística dos Dados

Para avaliação da contaminação microbiológica foi feito o cálculo da média das contagens dos micro-organismos indicadores e para elaboração dos gráficos as contagens foram convertidas em logaritmo na base 10. Os cálculos e gráficos foram realizados no Microsoft Office Excel 2010.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores dos resultados médios das contagens dos micro-organismos indicadores são apresentados na tabela 1, e ilustrados nos gráficos da figura 2.

As contagens microbiológicas médias para Aeróbios Mesófilos indicaram que as amostras de superfície com maiores contagens foram às amostras de tubulação de vazão do leite pasteurizado (A2), tubulação de saída do tanque de coagulação e corte (A5) e mão de manipulador (A15). Sendo que todas tiveram contagens acima de 10^5 UFC/cm² (tabela 1). A amostra com menor contagem foi a prateleira da câmara fria (A13), onde o queijo aguardava até ser embalado, com contagem média inferior a 10^2 UFC/cm² (tabela 1).

Nas contagens médias de Coliformes Totais, verifica-se que as amostras de superfícies com maiores contagens foram às amostras de tubulação de vazão do leite pasteurizado (A2), e massa pré-filagem (A8), todas com valores superiores a 10^4 UFC por unidade amostrada (tabela 1).

Para as contagens médias de *Escherichia coli*, os resultados demonstram que as amostras com maiores contagens foram as de tubulação de saída do tanque de coagulação e corte (A5), massa pré-filagem (A8) e massa pós-filagem (A10), todas com valores superiores a 10^2 UFC por unidade amostrada (tabela 1).

Todas as amostras de queijo final se encontraram dentro do limite de 10^5 UFC/g previsto para coliformes totais pela Portaria nº 364, de 04 de setembro de 1997 (BRASIL, 1997), além de não indicarem presença significativa de *E. coli*.

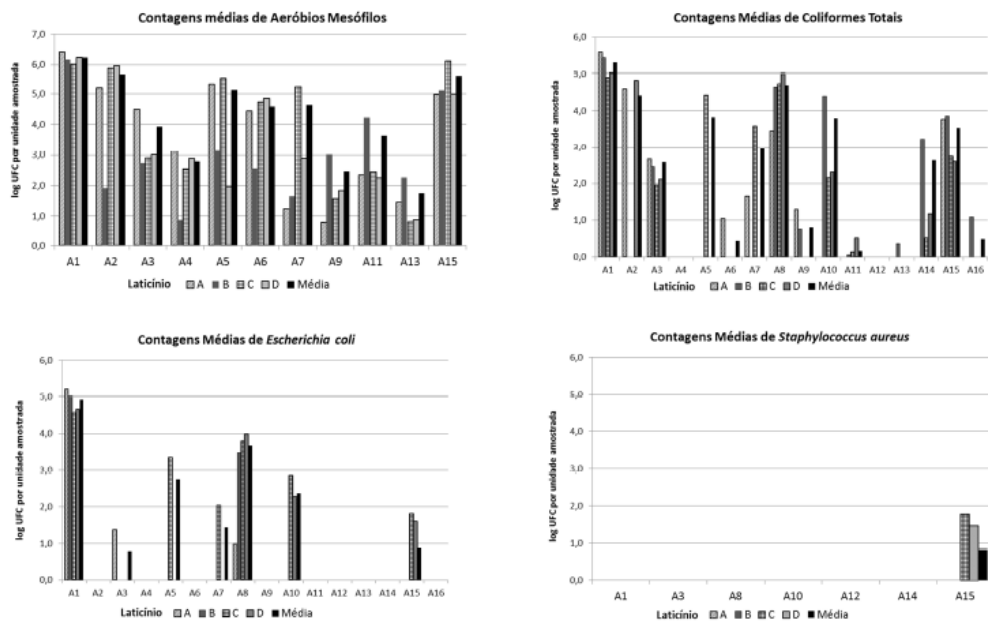
As contagens médias para *Staphylococcus aureus* (SA), indicaram apenas a mão dos funcionários como fonte de contaminação deste micro-organismo, não sendo detectado em nenhuma das outras amostras.

Tabela 1 – Contagens médias de Aeróbios mesófilos, Coliformes totais, *E. coli* e *Staphylococcus aureus* encontradas nas amostras do fluxo de produção de queijo tipo mussarela em 4 laticínios (A, B, C e D), localizados na região central e sul do estado do Paraná, no período de abril de 2010 a outubro de 2012, sendo apresentados os resultados médios por laticínios, e média considerando os resultados por ponto.

Amostra	Aeróbios Mesófilos				Média	Coliformes Totais				Média	<i>Escherichia coli</i>				Média	<i>Staphylococcus aureus</i>				Média
	A	B	C	D		A	B	C	D		A	B	C	D		A	B	C	D	
A1 Leite cru (UFC/ml)	$2,7 \times 10^2$	$1,5 \times 10^2$	$1,1 \times 10^2$	$1,8 \times 10^2$	$1,7 \times 10^2$	$3,9 \times 10^2$	$2,8 \times 10^2$	$8,0 \times 10^2$	$1,1 \times 10^2$	$2,1 \times 10^2$	$1,5 \times 10^2$	$3,3 \times 10^2$	$3,7 \times 10^2$	$4,5 \times 10^2$	$6,9 \times 10^2$	<1	<1	<1	<1	<1
A2 Tubulação de vazão do leite pasteurizado (UFC/cm ²)	$1,5 \times 10^2$	$8,2 \times 10^2$	$8,0 \times 10^2$	$9,5 \times 10^2$	$4,8 \times 10^2$	$3,9 \times 10^2$	<1	1	$5,5 \times 10^2$	$2,5 \times 10^2$	<1	<1	<1	<1	<1	NR	NR	NR	NR	NR
A3 Leite Pasteurizado (UFC/mL)	$3,1 \times 10^2$	$5,5 \times 10^2$	$8,2 \times 10^2$	$1,1 \times 10^2$	$8,4 \times 10^2$	$4,6 \times 10^2$	$2,9 \times 10^2$	$9,1 \times 10^2$	$1,3 \times 10^2$	$2,4 \times 10^2$	$2,4 \times 10^2$	<1	<1	<1	6,0	<1	<1	<1	<1	<1
A4 Tanque de coagulação e corte (UFC/cm ²)	$1,3 \times 10^2$	7,0	$3,6 \times 10^2$	$8,0 \times 10^2$	$6,1 \times 10^2$	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	NR	NR	NR	NR	NR
A5 Tubulação de saída tanque de coagulação e corte (UFC/cm ²)	$2,1 \times 10^2$	$1,4 \times 10^2$	$3,3 \times 10^2$	$9,5 \times 10^2$	$1,4 \times 10^2$	<1	<1	$2,7 \times 10^2$	<1	$6,5 \times 10^2$	<1	<1	$2,2 \times 10^2$	<1	$5,5 \times 10^2$	NR	NR	NR	NR	NR
A6 Tanque e prensa para separação do soro (UFC/cm ²)	$2,8 \times 10^2$	$3,5 \times 10^2$	$5,5 \times 10^2$	$7,2 \times 10^2$	$3,9 \times 10^2$	$1,1 \times 10^2$	<1	<1	<1	2,8	<1	<1	<1	<1	<1	NR	NR	NR	NR	NR
A7 Prateleiras de fermentação e repouso da massa (UFC/cm ²)	$1,8 \times 10^2$	$4,5 \times 10^2$	$1,7 \times 10^2$	$7,8 \times 10^2$	$4,3 \times 10^2$	$4,5 \times 10^2$	<1	$3,9 \times 10^2$	1,0	$9,8 \times 10^2$	<1	<1	$1,1 \times 10^2$	<1	$2,8 \times 10^2$	NR	NR	NR	NR	NR
A8 Massa pré-filagem (UFC/g)	NR	NR	NR	NR	NR	$2,9 \times 10^2$	$4,4 \times 10^2$	$5,3 \times 10^2$	$9,7 \times 10^2$	$4,9 \times 10^2$	$1,0 \times 10^2$	$3,0 \times 10^2$	$6,3 \times 10^2$	$9,5 \times 10^2$	$4,7 \times 10^2$	<10	<10	<10	<10	<10
A9 Entrada Filadeira (UFC/cm ²)	6,0	$1,0 \times 10^2$	$3,5 \times 10^2$	$7,0 \times 10^2$	$2,8 \times 10^2$	$2,0 \times 10^2$	6,0	<1	<1	6,5	<1	1,0	<1	<1	<1	NR	NR	NR	NR	NR
A10 Massa pós-filagem (UFC/g)	NR	NR	NR	NR	NR	<1	$2,5 \times 10^2$	$7,3 \times 10^2$	$2,1 \times 10^2$	$6,3 \times 10^2$	<10	<10	$7,3 \times 10^2$	$1,9 \times 10^2$	$2,3 \times 10^2$	<10	<10	<10	<10	<10
A11 Forma de modelagem da massa pós filagem (UFC/cm ²)	$2,3 \times 10^2$	$1,7 \times 10^2$	$2,9 \times 10^2$	$1,8 \times 10^2$	$4,3 \times 10^2$	<1	1,0	1,0	3,3	1,5	<1	<1	<1	<1	<1	NR	NR	NR	NR	NR
A12 Salmoura (UFC/mL)	NR	NR	NR	NR	NR	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
A13 Prateleira câmara fria depois da salga (UFC/cm ²)	$2,9 \times 10^2$	$1,8 \times 10^2$	7,0	7,5	$5,5 \times 10^2$	<1	2,0	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	NR	NR	NR	NR	NR
A14 Queijo Final (UFC/g)	NR	NR	NR	NR	NR	<1	$1,7 \times 10^2$	3,0	$1,5 \times 10^2$	$4,2 \times 10^2$	<10	<10	<10	<10	<10	<1	<1	<1	<1	<1
A15 Mão (UFC/mL)	$9,9 \times 10^2$	$1,3 \times 10^2$	$1,3 \times 10^2$	$1,0 \times 10^2$	$4,2 \times 10^2$	$5,8 \times 10^2$	$7,2 \times 10^2$	$5,6 \times 10^2$	$4,0 \times 10^2$	$3,5 \times 10^2$	<1	<1	$8,7 \times 10^2$	$4,0 \times 10^2$	$2,7 \times 10^2$	<1	<1	$5,7 \times 10^2$	$3,0 \times 10^2$	$2,3 \times 10^2$
A16 H2O (UFC/mL)	NR	NR	NR	NR	NR	<1	$1,2 \times 10^2$	<1	<1	3,1	<1	<1	<1	<1	<1	NR	NR	NR	NR	NR

UFC = Unidades Formadoras de Colônias; NR – Não realizado.

Figura 1 – Contagens médias de Aeróbios Mesófilos, Coliformes totais, *E. coli* e *Staphylococcus aureus* encontradas nas amostras do fluxo de produção de queijo tipo mussarela em 4 laticínios (A, B, C, e D), sendo apresentados os resultados por laticínio, comparadas a média considerando os resultados por ponto. (A1) Leite cru. (A2) Tubulação de vazão do leite pasteurizado. (A3) Leite Pasteurizado. (A4) Tanque de coagulação e corte. (A5) Tubulação de saída tanque de coagulação e corte. (A6) Tanque e prensa para separação do soro. (A7) Prateleiras de fermentação e repouso da massa. (A8) Massa pré-filagem. (A9) Entrada Filadeira. (A10) Massa pós-filagem. (A11) Forma de modelagem da massa pós filagem. (A12) Salmoura. (A13) Prateleira de câmara fria depois da salga. (A14) Queijo Final. (A15) Mão Manipulador. (A16) H2O.



A qualidade do leite cru depende basicamente das condições adotadas no sistema de produção da propriedade até sua entrega ao laticínio. A alta carga microbiana observada nas amostras de leite cru, além de indicar má condição higiênico-sanitária na produção do leite, prejudica a qualidade dos derivados produzidos com este leite. Todas as amostras de leite cru tiveram contagens de aeróbios mesófilos, acima de $7,5 \times 10^5$ UFC/mL, limite vigente à época no Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite (Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002, do MAPA), norma que prevê os critérios de qualidade do leite. (BRASIL, 2002). Para coliformes totais o leite cru teve contagem média de $2,1 \times 10^5$ UFC/mL, e para as contagens de *Escherichia coli*, teve média de $6,9 \times 10^4$ UFC/mL (tabela 1). Para estes dois últimos indicadores não há parâmetros legais, mas estes resultados indicam alta contaminação inicial do leite cru devido à higiene deficiente na produção.

Para o leite pasteurizado (A3) amostrado imediatamente após a pasteurização, na média, os resultados para aeróbios mesófilos, estavam dentro dos parâmetros microbiológicos, com contagens inferiores ao limite de $8,0 \times 10^4$ UFC/mL, estabelecido pela IN51 (BRASIL, 2002). Após passagem pela tubulação de saída do leite (A2), as contagens para aeróbios mesófilos, foram na média superiores a 10^5 UFC/cm² (tabela 1).

As médias para aeróbios mesófilos indicaram que as amostras de superfície com maiores contagens foram às amostras de tubulação de vazão do leite pasteurizado (A2), média de $4,8 \times 10^5$, e a tubulação de saída do tanque de coagulação e corte (A5), média $1,4 \times 10^5$ UFC/cm².

Peixoto (2012), ao avaliar níveis de contaminação por micro-organismos em queijaria identificou contaminação por aeróbios mesófilos em superfície das mesas de preparo do produto, com média de $1,8 \times 10^3$ UFC/cm², atribuindo este resultado, ao baixo nível tecnológico das construções e baixas condições de higiene das instalações.

As contagens médias de Coliformes Totais, para o ponto A2 (tubulação de vazão do leite pasteurizado) teve valores médios superiores a 10^4 UFC/cm². É importante destacar que, o leite pasteurizado teve contagens médias de $2,4 \times 10^2$ UFC/mL para coliformes totais, resultado em desacordo com a legislação brasileira (BRASIL, 1996), que determina que a contagem de coliformes a 30°C no leite, na saída do pasteurizador, seja <4 NMP/mL de coliformes, indicando possível ineficiência no processo de pasteurização, ou recontaminação na passagem pela tubulação de vazão do leite.

Contagens elevadas de bactérias do grupo coliformes têm sido constatadas na produção de queijos (NASSU et al., 2000; FLORENTINO, MARTINS, 1999) indicando que os mesmos foram produzidos sob condições de higiene insatisfatórias. Esse grupo de micro-organismos é considerado o principal responsável pela deterioração de queijos.

Silva (2011) ao avaliar amostras de formas de queijo, mesa de enformagem, tanque de processamento de queijo e prateleira de estocagem dos queijos de dez laticínios, encontrou uma variação para coliformes totais de $5,5 \times 10^2$ a $3,3 \times 10^5$ NMP/cm², para as superfícies avaliadas. No mesmo trabalho o laticínio com maior contaminação apresentou contagem de coliformes totais, variando entre 3×10^5 e 2×10^5 NMP/cm², para prateleira de estocagem e média de 5×10^5

NMP/cm², nas formas de queijo. Para as contagens realizadas nas mesas desse estabelecimento foi obtida média de 3×10^5 NMP/cm². Esses resultados foram atribuídos as condições higiênicas dos equipamentos e utensílios que se encontravam inadequadas.

A maioria dos equipamentos utilizados para preparação de alimentos na indústria de alimentos é construído em aço inoxidável, condição que não era atendida em todos os laticínios avaliados, pois alguns apresentavam prateleiras de resina plástica, com rugosidades, que dificultam a limpeza. A limpeza regular do equipamento é necessária para prevenir o acúmulo de material orgânico e micro-organismos. O desenvolvimento de camadas de substrato orgânico proporciona a formação de biofilme em uma superfície (CHAMBERLAIN, 1992).

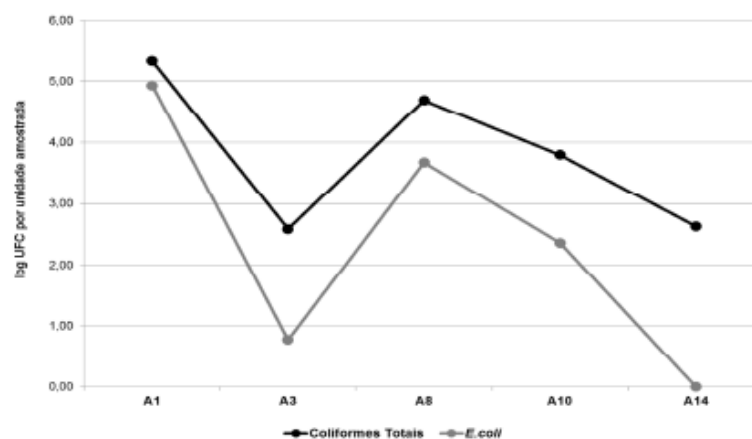
As superfícies comumente usadas para processamento de alimentos, como aço inoxidável, polietileno, polipropileno, policarbonato, aço-carbono, teflon e vidro, permitem o crescimento microbiano, quando não higienizadas adequadamente, podendo originar processos de adesão bacteriana e formação de biofilmes. A presença desses processos nas superfícies de equipamentos e utensílios para processamento de alimentos ocorre em vários níveis de intensidade. A liberação e a incorporação desses micro-organismos poderão trazer consequências indesejáveis à qualidade do alimento produzido, como alteração de cor, sabor, odor, e até mesmo permitir a veiculação de patógenos, caso estes estejam presentes (ANDRADE ; MACÊDO, 1996). Portanto, mesmo com uma matéria prima de qualidade, se o produto não for processado em um ambiente adequado, este pode ter sua qualidade e segurança comprometidas (PERRY, 2004; CARVALHO, VIOTTO, KUAYE, 2007).

Outros pontos importantes a se considerar para contagem de coliformes totais são a tubulação de saída do tanque de coagulação e corte (A5) que apresentou uma contagem média de $6,6 \times 10^3$ UFC/cm², e as prateleiras de fermentação e repouso da massa (A7) onde a contagem média foi de $9,8 \times 10^3$ UFC/cm² (tabela 1). É possível que estes pontos tenham contribuído para a contaminação da massa pré-filagem (A8), assim como na manipulação dos produtos, pois quando comparados os resultados do leite pasteurizado (A3) com a massa pré-filagem (A8) verificamos um aumento de 81,78% nas contagens de coliformes totais, esta variação pode ser observada na gráfico 1.

Para as contagens de *Escherichia coli*, as maiores contagens foram encontradas na, tubulação de saída do tanque de coagulação e corte (A5), massa pré-filagem (A8) e massa pós-filagem (A10). A *E. coli* é considerada o melhor indicador de contaminação fecal e da possível presença de enteropatógenos (CATÃO; CEBALLOS, 2001). A presença de *E. coli*, em grande quantidade nos pontos pós pasteurização, indica recontaminação. Para A8 e A10, os resultados indicam que pode ter ocorrido incorporação durante o processo, sendo que este micro-organismo também esteve presente em pontos após o processo de filagem, mostrando que deve estar colonizando toda a planta de produção e recontaminando o produto em diferentes momentos.

Vale destacar que a massa pós-filagem (A10) sofreu em média redução de 87,14 % nas contagens de coliformes totais, e uma redução de 95,10% para *E. coli*, em relação a massa pré-filagem, indicando que este processo auxilia na redução destes micro-organismos (gráfico 1). O processo de filagem ocorre em água na temperatura de 80°C a 90°C, em uma máquina filadora (VALLE,1991; TAMIME ; LAW, 2001). Durante essa operação a massa atinge cerca de 55 a 60°C e deve ser mantida nessa faixa de temperatura a fim de manter a consistência desejável para a filagem (CANSIAN, 2005; FURTADO, 2005). Essa condição de processamento pode ser responsável pelas reduções observadas.

Gráfico 1 – Contagens médias de Coliformes totais e *E. coli* encontradas nas amostras de produtos no fluxo de produção de queijo tipo mussarela em 4 laticínios (A, B, C, e D), sendo apresentados os resultados por ponto. (A1) Leite cru. (A3) Leite Pasteurizado. (A8) Massa pré-filagem. (A10) Massa pós-filagem. (A14) Queijo Final.



Outro processo importante na redução de coliformes totais e *E. coli*, foi a salga, pois o queijo final apresentou uma redução de 93,33% em relação à massa pós-filagem, para a contagem média de coliformes e praticamente a ausência de *E. coli*, já que o produto final apresentou insignificante presença de *E. coli*, com contagem média inferior a 10 UFC/g (gráfico 1). A concentração da salmoura está entre 18-23% de NaCl, mantida em temperaturas entre 10-14 °C, de modo a facilitar a absorção do sal, no período de 18-24 horas, e manter um grau ótimo de dissolução da para-caseína, e evitar contaminação (PERRY, 2004). Considerando a massa pré-filagem e o queijo final, verifica-se que a redução foi de 99,14%, para contagem de coliformes totais entre estas etapas de produção. Diante destes resultados todas as amostras de queijo final se encontraram dentro do limite de 10^5 UFC/g previsto para coliformes totais pela Portaria nº 364, de 04 de setembro de 1997 (BRASIL, 1997).

Contudo, essa alta redução encontrada após etapa de salga, pode indicar o uso de inibidores de crescimento de micro-organismos. Não é incomum que laticínios empreguem o peróxido de hidrogênio ou hipoclorito de sódio na salmoura para o controle de contaminantes do queijo, porém estes conservantes não tem amparo legal. (FURTADO et al., 2011)

Existem trabalho com o empregado de sorbato de potássio e a natamicina que funcionam como fungicidas e bactericidas. Entretanto os resultados são variáveis, pois dependem do pH dos queijos que pode variar segundo o emprego ou não de culturas lácticas (GUERRA; GUERRA, 2003). Outro produto que tem sido estudado é a clorexidina para preservação e controle da carga microbiológica (contagem total de mesófilos aeróbios, fungos e leveduras, coliformes totais e fecais e *S. aureus*) por imersão e aspensão em queijos Minas Frescal (ROCHA, 2004). Nenhum dos laticínios estudados confirmaram uso de inibidores. Vale destacar que nenhum conservante pode ser usado com a propósito de encobrir práticas higiênicas deficientes. Os conservantes devem ser empregados apenas para preservar as características iniciais adequadas do produto. Por isso é fundamental ter cuidado com a higiene no processo de fabricação e seguir corretamente o binômio tempo/temperatura de pasteurização e temperaturas de armazenamento adequadas na fábrica o no comércio (FURTADO et al., 2011).

As mãos dos manipuladores apresentaram média de $2,7 \times 10^1$ UFC/mL para coliformes totais, e média de $2,3 \times 10^1$ UFC/mL para *E.coli* (tabela 1).

Esse resultado indica a necessidade da melhoria das boas práticas de fabricação, e orientação aos funcionários com relação a higiene, uma vez que esses micro-organismos podem ser introduzidos no alimento (PICOLI et al, 2006).

As contagens médias para *Staphylococcus aureus*, indicaram apenas a mão dos funcionários como fonte de contaminação deste micro-organismo, não sendo detectado em nenhuma das outras amostras. Os estafilococos encontram-se amplamente disseminados no ambiente, o seu reservatório principal é o homem e os outros animais (CHAVES, 1993). *S. aureus* é frequentemente pesquisado em alimentos, pois sua presença está associada a práticas de higiene e manipulação inadequadas, através do ato do manipulador levar a mão à boca ou nariz, ou associada a contaminações por meio de lesões estafilocócicas presentes na pele dos manipuladores (PICOLI et al, 2006). Apesar deste resultado não foi detectado elevada presença deste micro-organismo no queijo final.

O laticínio A foi o que apresentou maior contagem para aeróbios mesófilos, coliformes totais e *E.coli*, tanto para leite cru como para leite pasteurizado, indicando condições irregulares na obtenção da matéria prima, e/ou uma pasteurização ineficiente. Os laticínios C e D foram os que apresentaram maiores valores numéricos para contagem de aeróbios mesófilos, para as superfícies avaliadas, variando entre 7 e $9,6 \times 10^5$ UFC/cm², sendo a menor contagem para a prateleira câmara fria e a maior para tubulação de vazão do leite pasteurizado. Este laticínios também apresentaram maior presença de coliformes totais e *E.coli*, na massa pré e pós-filagem, e também foram os laticínios onde foram detectados *Staphylococcus aureus*, nas mãos do manipuladores, com contagens médias de $5,7 \times 10^2$ e $3,0 \times 10^1$, respectivamente. Curiosamente, o laticínio B que visualmente tinha as piores condições de instalação e higiene, foi o com menores contagens de micro-organismos indicadores (tabela 1 e figura 1).

É importante citar não existem, na legislação brasileira, padrões microbiológicos oficiais para superfícies e equipamentos. Os padrões do FDA (Foods and Drugs Administration) e da APHA (American Public Health Association) consideram utensílio limpo, aquele que possui UFC de aeróbios mesófilos menores de 100/utensílio, e 2/cm² para equipamentos (MASSAGUER, 2006). A OPAS (Organização Panamericana da Saúde) considera contagens de aeróbios mesófilos, por cm², de 0-10 (excelente), de 1 -29 (bom), 30-49 (regular), 50-99 (mau) e maior que 100 (péssimo) (MORENO, 1982). Muitos autores consideram estes padrões

rigorosos para o Brasil, devido às suas condições climáticas. Silva JR (2007) adota 50 UFC/cm² para bactérias mesófilas, e ausência de coliformes a 45° C, *Bacillus cereus* e *Salmonella* na área amostrada dos utensílios, para produção de alimentos em cozinhas. Outros autores (GILL, 1998; EISEL et al., 1997) consideram que superfícies visivelmente limpas podem apresentar contagens totais de 10 a 10³ UFC/cm² de aeróbios mesófilos. As quantidades de contaminantes encontrados na maioria dos pontos foram superiores a qualquer um destes critérios. Os laticínios, pela própria matéria-prima que utilizam e pelo alto teor de umidade nos locais de produção, são particularmente suscetíveis a essa contaminação. Daí, a importância da conscientização dos profissionais do setor, em todos os níveis, para a necessidade da implantação de programas de boas práticas de fabricação e do controle permanente dos processos e seus pontos críticos.

5.4 CONCLUSÃO

Para a análise microbiológica verificou-se que os principais pontos de contaminação foram a tubulação de vazão do leite pasteurizado, a tubulação de saída do tanque de coagulação e corte, as prateleiras de fermentação, e as mãos dos manipuladores.

A alta contaminação ambiental evidenciada pelas altas contagens de coliformes indica que é necessária a implantação de práticas que melhorem a higiene de instalações e equipamentos. Os micro-organismos indicadores isolados das mãos dos funcionários indicam a necessidade de treinamento destes funcionários quando as práticas de higiene pessoal e manipulação de alimentos.

É necessária a implementação e/ou intensificação de boas práticas de fabricação em combate à contaminação por micro-organismos indesejáveis, de forma a melhorar e manter uma higiene rigorosa em todo o processo de fabricação.

5.5 REFERÊNCIAS

ANDRADE, N.J.; MACÊDO, J.A.B. **Higienização na indústria de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1996. 182p.

ARAÚJO, V.S. Occurrence of Staphylococcus and enteropathogens in soft cheese commercialized in the city of Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, v.92, n.6, p.1172-1177, 2002.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Preparo da amostra para exame microbiológico. Rio de Janeiro: **ABNT**, 03 p., (NBR 10203), mar., 1988.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa no. 051, de 18 de setembro de 2002. Diário Oficial da União, Brasília, 20 set. 2002. Seção 1, p.13-22.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 364, de 04 de Setembro de 1997. **Aprovar o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Queijo Mozzarella (Muzzarella ou Mussarella)**. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do>. Acesso em: 8 ago. 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146 de 07 de março de 1996. **Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos**. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do>. Acesso em: 8 ago. 2011.

CANSIAN, E. A. **Avaliação da padronização do queijo mussarela com uso de ferramentas da qualidade: Estudo de caso**. 2005. 138 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

CARVALHO, G. R. O retrato do mercado nacional. **Revista Leite ; Derivados**, v. 19, n. 118, p. 22-28, 2010.

CARVALHO, J. D. G.; VIOTTO, W. H.; KUAYE, A. Y. The quality of Minas frescal cheese produced by different technological processes. **Food Control**, v. 18, n. 3, p. 262-267, Mar. 2007.

CATÃO, R. M. R.; CEBALLOS, B. S. O. *Listeria spp.*, coliformes totais e fecais e *E. coli* no leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínio, no estado da Paraíba (Brasil). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 21(3): 281-287, set.-dez., 2001.

CHAMBERLAIN, A.H.L. Biofilms and corrosion. **Biofilms — Science and Technology** 223, 207–217, 1992

CHAVES, J. B. P. **Noções de microbiologia e conservação de alimentos**. 2 ed. Viçosa: Universidade de Viçosa, 1993. 114 p.

CORREIA, Marlene; RONCADA, Maria José. Características microscópicas de queijos prato, mussarela e mineiro comercializados em feiras livres da Cidade de São Paulo. **Rev. Saúde Pública**, 31(3): 296-301, 1997.

EISEL, W.G.; LINTON, R.H.; MURIANA, P.M. A survey of microbial levels for incoming raw beef, environmental sources, and ground beef in a red meat processing plant. **Food Microbiology**, v. 14, p.273-282, 1997.

FLORENTINO, E.S.; MARTINS, R.S. Características microbiológicas do "queijo de coalho" produzido no estado da Paraíba. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 59, p. 43-48, 1999.

FOX, P. F. **Fundamentals of cheese science**. Gaithersburg: AN Aspen Publication, 2000. 587 p.

FURTADO, M. M. **Principais problemas dos queijos: causas e prevenção**. Edição Revisada e Ampliada. São Paulo: Fonte Comunicação e Editora, 2005. 200 p.

FURTADO, M.M. SAMPAIO, M. H. D.; NUNES, L. G. **Aplicação de Clorexidina em Queijo Minas Frescal**. Artigos Técnicos Engormix. 2011. Disponível em: <http://http://pt.engormix.com>. Acesso em: 01 dez. 2012.

GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. **Higiene e Vigilância Sanitária dos Alimentos**. 2 ed. São Paulo: Varela, 2001. p.252-255.

GILL, C.O. Microbiological contamination of meat during slaughter and butchering of cattle, sheep and pigs. In: **Microbiology of Meat and Poultry**, eds. DAVIES, A.; BOARD, R. Blackie Academic and Professional, London, p.118-157, 1998.

GUERRA, T. M. M.; GUERRA, N. B. **Influência do Sorbato de Potássio e do Tipo de Embalagem Sobre a Vida Útil do Queijo de Manteiga (Requeijão do Norte)**. Braz. J. Food Technol. Preprint Serie, n.139, 2003.

IPARDES. Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social. Relatório: Caracterização da indústria de processamento e transformação do leite no Paraná.

MANOLOPOULOU, E. Evolution of microbial populations during traditional Feta cheese manufacture and ripening. **International Journal of Food Microbiology**, v. 82, n. 2, April 2005.

MASSAGUER, P.R. **Microbiologia dos processos alimentares**. São Paulo: Livraria Varela. 1 ed. 2006. 258p.

MORENO, L.S. **Higiene de lá alimentación**, Barcelona: Editora Aedos, 1982. 250p.

NASSU, R.T; MOREIRA, C.G.; ROCHA, R.G. de A.; FEITOSA, T.; BORGES, M. de F.; MACEDO, A.A.M. Diagnóstico das condições de processamento e qualidade microbiológica de produtos regionais derivados do leite produzidos no estado do Rio Grande do Norte. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 55, p. 121-126, 2000.

PEIXOTO, J.P. N., NASCIMENTO, J. W.B., FURTADO, D. A., OLIVEIRA, C.J. B., GOMES J.P. Qualidade do ambiente e níveis de contaminação por microorganismos em queijarias no agreste Paraibano. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.14, n.2, p.177-183, 2012.

PERRY, Katia da Silva Peixoto. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, São Paulo, v.27, n.2, p.293-300, mar./abr. 2004.

PICOLI, S. U.; BESSA, M. C.; CASTAGNA, S. M. F.; GOTTARDI, C. P. T.; SCHMIDT, V.; CARDOSO, M. Quantificação de coliformes, *Staphylococcus aureus* e mesófilos presentes em diferentes etapas da produção de queijo frescal de leite de cabra em laticínios, **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 26(1): 64-69, jan.-mar. 2006.

ROCHA, A.M.P. **Controle de fungos durante a maturação de queijos minas padrão**. 2004. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS. 2004.

SILVA JR, E.A. **Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação**. 6ed. São Paulo: Varela, 2007. 623p.

SILVA N. B. N., CAHAVES, K. F., GRAVINA, C. S., et al. Avaliação microbiológica de equipamentos e utensílios utilizados em laticínios da região de Rio Pomba – MG. **Rev. Inst. Latic.** “**Cândido Tostes**”, Jan/Fev, nº 378, 66, 5:10, 2011

TAMIME, A. Y.; LAW, B. A. Mechanisation and automation in dairy technology, U.S.A.- Canada. **Sheffield Academic Press**, p. 336, 2001.

VALLE, J.L E. Influência de parâmetros físico-químicos na fermentação e filagem do queijo tipo Mussarela. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. São Paulo, 1991.

YAMADA, A. K. **Rastreamento de contaminações microbiológicas e resíduos de proteína em indústrias de laticínios**. 2011. 77 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2011.

6 ARTIGO 2

PRINCIPAIS PONTOS DE CONTAMINAÇÃO MICROBIANA E DE ACÚMULO DE RESÍDUOS NA PRODUÇÃO DE QUEIJO MUSSARELA.

RESUMO: A pesquisa foi conduzida em quatro laticínios produtores de queijo tipo mussarela, em diferentes municípios, localizados na região central e sul do estado do Paraná, no período de abril de 2010 a outubro de 2012. Os laticínios utilizavam sistema similar de produção de queijo tipo mussarela. Utilizou-se as placas *Petrifilm™AC*, para contagem de aeróbios mesófilos e o teste *Clean-Trace™ Surface Protein Plus* que indica a eficiência da limpeza, a partir da detecção de resíduos de proteína e outras substâncias redutoras na superfície de instalações e equipamentos. Estes métodos foram utilizados em conjunto para determinar os pontos principais de contaminação e verificar se há relação entre os pontos de maior contaminação e pontos com presença de resíduos. Os resultados indicaram que os principais pontos de contaminação microbiana foram a tubulação de vazão do leite pasteurizado e a tubulação de saída do tanque de coagulação e corte. Os resultados dos *swabs Clean-Trace™ Surface Protein Plus* apontaram como principais pontos de acúmulo de resíduo orgânico a tubulação de vazão do leite pasteurizado e saída do tanque de coagulação, as prateleiras, e a forma de moldagem da massa pós-filagem. Esses resultados indicam uma ineficiência nos processos de higienização principalmente nestes pontos. Ao se avaliar os resultados para o teste *Clean-Trace™ Surface Protein Plus* em relação as contagens de aeróbios mesófilos, verificou-se uma coincidência entre os pontos de maior contaminação por micro-organismos e as superfícies com resultado forte positivo do teste. O *Clean-Trace™ Surface Protein Plus* demonstrou ser uma ferramenta útil na avaliação da eficiência da higienização, com resultados rápidos que permitem medidas corretivas antes do processamento do alimento.

Palavra-Chave: Qualidade. Queijo. Métodos rápidos. Leite.

MAIN POINTS OF MICROBIAL CONTAMINATION AND ACCUMULATION OF RESIDUES IN THE PRODUCTION OF MOZZARELLA CHEESE.

ABSTRACT: The research was conducted in four mozzarella cheese producers in different counties, located in the central and southern state of Paraná, in the period April 2010 to October 2012. The dairy industries were using similar system to produce mozzarella cheese. Plates were used *Petrifilm*TM AC, for mesophilic aerobic count and the test *Clean-Trace*TM *Surface Protein Plus* that indicates the cleaning efficiency from the detection of residues of reducing substances and other protein on the surface of facilities and equipment. These methods were used together to determine the main points of contamination and verify if there is a relation between points of higher contamination and points with residues. The results indicated the main points of microbial contamination were pipe flow of pasteurized milk and outlet pipe from the tank coagulation and cutting. The results of the swabs *Clean-Trace*TM *Surface Protein Plus* indicated that pipes of the premises, the shelves, and the shape of the molding mass post-curd stretching were the main points of accumulation of organic waste. These results indicate inefficiency in the process of cleaning these points when compared to the other issues analyzed. When evaluating the results for the test *Clean-Trace*TM *Surface Protein Plus* relative aerobic mesophilic counts, there was a match between the points of greatest contamination by microorganisms with surfaces with strong positive test result. The *Clean-Trace*TM *Surface Protein Plus* proved to be a useful tool in evaluating the effectiveness of hygiene, with results that allow corrective action before processing the food.

Keyword: Quality. Cheese. Quick methods. Milk.

6.1 INTRODUÇÃO

As análises microbiológicas tradicionais para o controle de qualidade em alimentos foram desenvolvidas a partir do final do século XIX (SENYK et al.,1987). Contudo, atualmente muitos dos métodos tradicionais apresentam desvantagens na enumeração de micro-organismos indicadores, podendo-se citar o trabalho excessivo em laboratório, o uso de grande quantidade de vidrarias e meios de cultura, a necessidade da realização de análises em duplicata e de grande espaço para incubação das placas.

Deve-se considerar ainda a possibilidade de falhas na técnica, como a alta temperatura na aplicação do meio de cultura comumente utilizado no método tradicional de semeadura, e maiores riscos de contaminações devido ao grande número de etapas no preparo e semeadura da amostra (CHAIN ; FUNG,1991). Além de trabalhosas, as técnicas são lentas e os resultados só são conhecidos dois a sete dias após o início das análises, dependendo da metodologia empregada, e para

alguns produtos, como o leite e derivados, o tempo para a obtenção de resultados não é compatível com a sua perecibilidade (VASAVADA et al.,1993, FRANCO ; LANDGRAF, 2008).

As limitações da metodologia tradicional levaram ao desenvolvimento de métodos alternativos na microbiologia de alimentos. Várias técnicas para enumerar e identificar bactérias têm sido estudadas, e são denominadas de métodos rápidos. Esses métodos são mais práticos e simples na execução, requerem pequena quantidade de material e fornecem resultados mais rapidamente (FRANCO ; LANDGRAF, 2008).

Os métodos rápidos visam também a simplificação do trabalho e a redução de custos. Para alguns métodos, a essas vantagens, aliam-se outras como maior sensibilidade e especificidade que os métodos convencionais. Além de facilitar o trabalho do microbiologista, os sistemas comerciais permitem maior confiabilidade e reprodutibilidade. Outras vantagens importantes são a facilidade de estocagem, uso e descarte (FRANCO ; LANDGRAF, 2008).

O sistema *Petrifilm*TM é um método rápido alternativo ao método de plaqueamento convencional e é aprovado e validado pelos órgãos internacionais, APHA, AOAC International, USDA, USDA-FSIS, FDA dos Estados Unidos da América, SAG – Secretaria Nacional de Agricultura do Chile, HPBM – Health Protection Branch Methods do Canadá, AFNOR – Association Française de Normalisation da França, entre outros (AOAC, 2008; 3M Company, St. Paul, MN, EUA), e também no Brasil, pelo Ministério da Saúde e Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento.

Há também, uma série de métodos rápidos disponíveis, que podem ser usados para detectar e / ou quantificar a presença de resíduos de alimentos em superfícies, como a bioluminescência que tem como base a mensuração da quantidade de adenosina trifosfato (ATP) como método de detecção. A presença do material orgânico oferece substrato para o crescimento microbiano e influencia nas propriedades de adesão dos micro-organismos. Portanto, tem consequências como a formação de biofilmes e incrustações de superfície e prejuízo na eficiência da limpeza (WHITEHEAD, SMITH, VERRAN, 2008).

Com o intuito de obter informações sobre a limpeza de superfícies onde são beneficiados alimentos, foi lançado em março de 2010 pela 3MTM no Brasil o *Clean-Trace*TM *Surface Protein Plus*, teste que indica o nível de higiene após a

limpeza, a partir da detecção de resíduos de proteína e outras substâncias redutoras. O princípio do teste é baseado na reação patenteada de Biureto melhorada, de mudança de cor dos reagentes (NUMA, 1996). Em condições alcalinas, os íons Cobre (Cu^{2+}) formam um complexo com as ligações peptídicas das proteínas e são reduzidos a íons cobre (Cu^+). O ácido bicinconínico (BCA) reage com esse íon, formando o complexo lilás que pode ser visualmente detectado. A reação do Biureto pode ser utilizada para demonstrar a presença de proteínas em materiais biológicos, como também quantificá-las. A intensidade da cor depende exclusivamente da concentração de proteína (3M, 2009).

Estudos que determinem os principais pontos de contaminação por micro-organismos e localização de resíduos auxiliam no direcionamento de ações corretivas e na implementação de procedimentos preventivos na indústria. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a utilização do *Clean-Trace™ Surface Protein Plus*, como método de identificação de pontos de acúmulo residual, e verificar se há associação entre estes e os pontos de maior contaminação microbiológica.

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

6.2.1 Amostragem

A pesquisa foi conduzida em quatro laticínios produtores de queijo tipo mussarela, nos municípios de Ivaiporã, Jardim Alegre, Cândido de Abreu e Ponta Grossa, localizados na região central e sul do estado do Paraná, no período de abril de 2010 a outubro de 2012. As visitas eram pré-agendadas e todos os laticínios utilizavam sistema similar de produção de queijo tipo mussarela, com capacidade média de processamento de 300 mil/litros/mês, sob sistema de inspeção estadual (SIP). Os laticínios foram identificados aleatoriamente pelas letras A, B, C e D.

A coleta de material foi realizada em oito pontos de superfícies de equipamentos (Quadro 1) com três repetições por ponto, por laticínio estudado, em dias diferentes, no período da manhã antes do início dos trabalhos de cada laticínio, exceto no quarto laticínio onde foram realizadas apenas duas repetições. Todos os laticínios realizavam seus procedimentos de limpeza e sanitização no final

dos trabalhos do dia anterior, portanto, no período das coletas os equipamentos estavam prontos para utilização.

Quadro 1 – Pontos avaliados no fluxograma de processamento de queijo mussarela, identificando áreas de amostragem com *swabs* para análises microbiológicas e testes *Clean-Trace™ Surface Protein Plus*, para quatro laticínios localizados na região central e sul do estado do Paraná, no período de abril de 2010 a outubro de 2011.

Pontos de Amostragem	Área (cm ²)
P1- Tubulação de vazão do leite pasteurizado	3
P2- Tanque de coagulação e corte	50
P3- Tubulação de saída tanque de coagulação e corte	3
P4- Tanque e prensa para separação do soro	50
P5- Prateleiras de fermentação e repouso da massa	30
P6- Entrada Filadeira	50
P7- Forma de modelagem da massa pós filagem	15
P8- Prateleira câmara fria	30

Antes da entrada do leite pasteurizado para produção do queijo, foram realizadas amostras das superfícies dos equipamentos, nos pontos de interesse, através da técnica de esfregação de superfície (ABNT, 1988), utilizando *Quick Swabs 3M™* (3M Company, St. Paul, MN, USA) contendo 1 mL de caldo Lethen e moldes plásticos estéreis como delimitadores de área.

A amostragem foi realizada utilizando dois *swabs* por superfície, nos pontos avaliados, para que se obtivesse volume de caldo Lethen suficiente para realização das análises de contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos (AM). Todos os pontos foram amostrados, de acordo com a possibilidade de acesso em cada laticínio. O fluxo de processamento e os pontos de superfícies de equipamentos amostrados estão demonstrados na tabela 1.

6.2.2 Preparo das Amostras

Todas as amostras para análise microbiológica foram armazenadas e transportadas de forma refrigerada em caixa térmica, contendo gelo reciclável, até o Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal (LIPOA) da Universidade

Estadual de Londrina (UEL), ou até o Laboratório de Microbiologia do Centro Mesorregional do Leite de Excelência em Tecnologia do Leite, na Universidade Federal do Paraná, conforme localização dos laticínios.

Ao chegarem ao laboratório às amostras dos dois *swabs* de cada superfície foram homogeneizados formando um pool, e em seguida diluídos em solução salina peptonada estéril 0,85% até a diluição 10^{-5} . Na sequência as diluições foram aplicadas nos *Petrifilm*TM AC para contagem de aeróbios mesófilos.

6.2.3 Contagem de Micro-Organismos Indicadores

Utilizou-se *Petrifilm*TM AC, para a contagem de aeróbios mesófilos, utilizando-se de acordo com as instruções do fabricante (3M Company, St. Paul, MN, USA). Após período de incubação foram realizadas as contagens, sendo os resultados calculados pela multiplicação do fator de diluição expressando o resultado em Unidades Formadoras de Colônia por centímetro quadrado (UFC/cm²). Para análise estatística todos os resultados da contagem em *Petrifilm*TM AC foram trabalhados em base logarítmica decimal.

6.2.4 Teste *Clean-Trace*TM *Surface Protein Plus* 3MTM

Em pontos próximos de onde se realizou os *swabs* para as análises microbiológicas, foi aplicado o teste *Clean-Trace*TM *Surface Protein Plus* 3MTM, de acordo com as instruções do fabricante (3M Health Care, St. Paul, MN, USA), sendo todas as amostras realizadas antes do início dos trabalhos. Os testes foram mantidos em temperatura ambiente por 10 minutos antes do uso, e aplicados em uma área de 10 cm por 10 cm utilizando moldes plásticos, sendo que todos foram ativados no local. No caso de tubulações de passagem de leite, foi amostrada toda a superfície interna da tubulação, até o limite de alcance da haste do teste.

Quando a superfície a ser amostrada estava seca, foi utilizado o umidificador fornecido pelo fabricante, aplicando-se 4 gotas na ponta do teste. Após aplicar os testes em todas as superfícies avaliadas, os tubos foram ativados simultaneamente empurrando a parte superior do suporte até que esta estivesse nivelada com a parte superior do tubo do dispositivo. Os testes foram agitados rapidamente de lado a lado durante 5 segundos para misturar a amostra ao

reagente, mantidos na posição vertical a temperatura ambiente até a leitura do resultado, feita após 10 minutos de repouso, de acordo com a recomendação do fabricante. Os pontos onde os testes apresentaram resultado negativo ou suspeito para presença de resíduos de proteína, eram submetidos a uma nova avaliação confirmatória. Os resultados foram registrados para posterior análise, conforme escala de cor da reação do teste. Para cada nível foi atribuído uma pontuação variando de 1- 4 pontos, para análise dos resultados (Quadro 2).

Quadro 2 – Resultados para *Clean-Trace™ Surface Protein Plus*, com a referente concentração de proteína ($\mu\text{g}/100\mu\text{l}$), e relação dos valores de pontuação atribuído aos resultados.

Resultados <i>Clean-Trace™ Surface Protein Plus</i>	Concentração de Proteína ($\mu\text{g}/100\mu\text{l}$)	Cor do teste	Resultado	Pontuação
Nível 01	De 0 a 50	Verde	Negativo	01
Nível 02	De 50 a 100	Cinza	Inconclusivo	02
Nível 03	De 100 a 300	Lilás claro	Fraco Positivo	03
Nível 04	De 300 a 500	Lilás escuro	Forte Positivo	04

6.2.5 Análise Estatística dos Dados

Para avaliação da contaminação microbiológica foi feito o cálculo da média das contagens de aeróbios mesófilos, considerando as repetições realizadas por ponto, por laticínio, para análise de comparação de médias, com análise ANOVA, com nível de confiança 95%. As análises estatísticas foram realizadas através do programa BioStat, 2009 (AnalystSoft . Inc. USA). Para a análise dos resultados dos swabs *Clean-Trace™ Surface Protein Plus* foi realizado o cálculo da média dos resultados da pontuação do teste, sendo os resultados trabalhados em Microsoft Office Excel 2010.

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das contagens microbiológicas médias estão apresentados na sequência do fluxo de produção dos laticínios, identificando os pontos com maior contagem de aeróbios mesófilos (tabela 1).

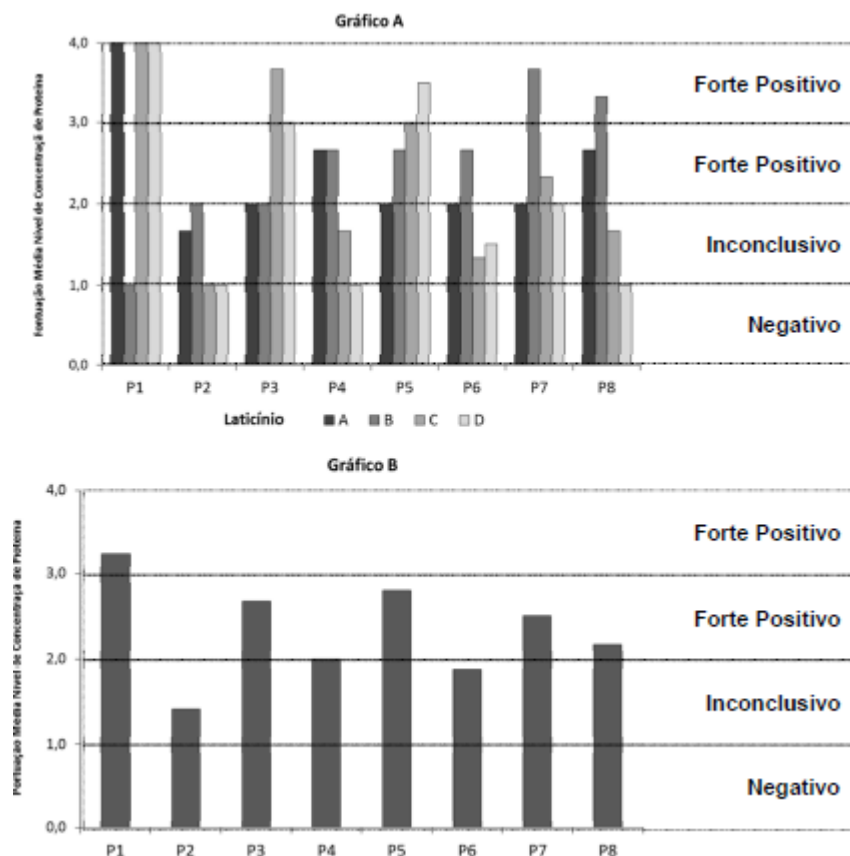
Tabela 1 – Contagens médias de Aeróbios mesófilos, encontradas nas amostras do fluxo de produção de queijo tipo mussarela em 4 laticínios, localizados na região central e sul do estado do Paraná, no período de abril de 2010 a outubro de 2011, sendo apresentados os resultados da média considerando os resultados por ponto, com análise ANOVA, com nível de confiança 95%.

Amostra	Média de Aeróbios Mesófilos (log₁₀UFC/cm²)
P1 - Tubulação de vazão do leite pasteurizado	5,68 a
P2 - Tanque de coagulação e corte	2,78 b
P3- Tubulação de saída tanque de coagulação e corte	5,13 a
P4- Tanque e prensa para separação do soro	4,59 b
P5- Prateleiras de fermentação e repouso da massa	4,63 b
P6- Entrada Filadeira	2,46 b
P7- Forma de modelagem da massa pós filagem	3,64 b
P8 - Prateleira câmara fria	1,75 b

Letras diferentes indica diferença estatística com P = 0,001

Na figura 1 são apresentados os resultados médios por ponto, comparados por laticínio, e a média final por ponto considerando todos os resultados, independente do laticínio. Também, foram comparados os resultados do teste *Clean-Trace™ Surface Protein Plus*, com a média das contagens de aeróbios mesofilos para os mesmos pontos de coleta nos laticínios amostrados.

Figura 1 – Gráfico (A) apresenta os resultados médios do Teste *Clean-Trace™ Surface Protein Plus*, nas amostras do fluxo de produção de queijo tipo mussarela em 4 laticínios, localizados na região central e sul do estado do Paraná, no período de abril de 2010 a outubro de 2011, comparados por laticínio. Gráfico (B) apresenta média final por ponto, considerando todos os resultados, independente do laticínio. (P1) Tubulação de vazão do leite pasteurizado. (P2) Tanque de coagulação e corte. (P3) Tubulação de saída tanque de coagulação e corte. (P4) Tanque e prensa para separação do soro. (P5) Prateleiras de fermentação e repouso da massa. (P6) Entrada Filadeira. (P7) Forma de modelagem da massa pós filagem. (P8) Prateleira câmara fria depois da salga.



O resultado das médias para aeróbios mesófilos apontam que as amostras de superfície com maiores contagens foram as amostras de tubulação de vazão do leite pasteurizado (P1) e a tubulação de saída do tanque de coagulação e corte (P3) (tabela 1). Esses resultados indicam uma ineficiência nos processos de higienização nestes pontos. A higienização de utensílios, equipamentos e superfícies de manipulação que entram em contato com os alimentos constituem ponto importante para a veiculação de micro-organismos contaminantes quando mal higienizados (SILVA JR, 2007).

Os resultados dos swabs *Clean-Trace™ Surface Protein Plus* indicaram acúmulo de resíduo orgânico nas tubulações das instalações, já que tanto a tubulação de vazão de entrada do leite (P1) como a de passagem do tanque de coagulação e corte (P3), apresentaram resultados positivos para o teste. Da mesma forma, as prateleiras, pois tanto a de repouso da massa (P5), como a da câmara fria (P8), onde o produto era estocado após a salga, e aguardava até ser embalado, apresentaram resultados positivos (figura 1), sinalizando a necessidade maior atenção para os processos de limpeza e higienização. Além destes, deve-se ter cuidado com a forma de moldagem da massa pós-filagem (P7), que teve resultado positivo (figura 1), indicando necessidade de melhor limpeza deste instrumento.

Andrade (2008), em uma avaliação das condições microbiológicas de equipamentos e utensílios, verificou em relação aos mesófilos aeróbios, que apenas 18,5 % dos equipamentos e utensílios avaliados encontravam-se corretamente higienizados, segundo a recomendação da APHA (American Public Health Association) que considera utensílio limpo, aquele que possui UFC de aeróbios mesófilos menores de 100/utensílio, e 2/cm² para superfície de equipamentos (APHA, 1992). Por este parâmetro todas as superfícies avaliadas no presente estudo poderiam ser consideradas incorretamente higienizadas.

Peixoto (2012), ao avaliar níveis de contaminação por micro-organismos em queijaria identificou contaminação por aeróbios mesófilos em superfície das mesas de preparo do produto, atribuindo este resultado, ao baixo nível tecnológico das construções e baixas condições de higiene das instalações.

Em geral as pequenas indústrias, com capacidade entre 55 – 900 mil/litros/mês (IPARDES, 2010), como os laticínios avaliados neste trabalho, são carentes de tecnologia e ferramentas para controle da qualidade e segurança de seus produtos. Para garantir tal segurança, é imprescindível a conservação e a higiene das instalações e dos equipamentos, a atuação eficiente dos responsáveis técnicos pelos estabelecimentos, a origem e a qualidade da matéria-prima, e o grau de conhecimento e preparo dos manipuladores (GERMANO e GERMANO, 2001).

Os laticínios C e D foram os que apresentaram maiores valores numéricos para contagem de aeróbios mesófilos, variando entre 0,88 a 5,96 log₁₀UFC/cm², sendo a menor contagem para a prateleira câmara fria (P8) e a maior para tubulação de vazão do leite pasteurizado (P1). O laticínio B foi o que apresentou maior número de resultados positivos para o teste *Clean-Trace™*

Surface Protein Plus, foram ao todo 6 pontos, P1, P4, P5, P6, P7 e P8. Vale destacar que este laticínio era o que visualmente possuía as condições de higiene e limpeza mais precárias.

As contaminações microbiológicas e o acúmulo de resíduos podem estar associadas às condições do ambiente de fabricação (SALLOTI et al., 2006). Em pequenos laticínios, menos estruturados, não é incomum observar uma série de não conformidades que causam contaminação ambiental e resultam na alta contaminação final: é observado leite ou resíduos de massa de queijo no piso, rachaduras e ladrilhos faltando no piso que acumulam leite e água, ralos mal desenhados que acumulam água e restos de produtos, equipamentos e superfícies que não são devidamente higienizados apresentando depósitos minerais ou mesmo resíduos de massa de queijo em equipamentos, além de acondicionamento e manipulação inadequados (SANTOS et al., 2008). Nos laticínios estudados foram encontradas irregularidades semelhantes a estas, com destaque para a presença de acúmulo de resíduos de leite e resíduos de produto na superfície de equipamentos.

A sujidade orgânica de uma superfície favorece a presença e fixação de micro-organismo, e conseqüentemente a formação de biofilme. Do ponto de vista da segurança alimentar e da degradação de alimentos, os biofilmes são importantes devido à sua formação em utensílios e superfícies e à dificuldade encontrada em sua remoção. As falhas nos procedimentos de higienização permitem que os resíduos aderidos aos equipamentos e superfícies transformem-se em potencial fonte de contaminação. Sob determinadas condições, os micro-organismos se aderem, interagem com as superfícies e iniciam crescimento celular (PARIZZI et al. 2004; MACEDO, 2006).

A contaminação ou recontaminação durante o processamento dos queijos é um fator importante na qualidade e segurança final do produto. Silva (2011) ao avaliar amostras de formas de queijo, mesa de enformagem, tanque de processamento de queijo e prateleira de estocagem dos queijos de dez laticínios, concluiu que a falta de limpeza, favorece a presença de micro-organismos. Dessa forma, as boas práticas de fabricação e as medidas de sanificação durante o processamento são cruciais para a garantia de um produto de qualidade (FOX, 2000; PICOLI et al., 2006).

Ao avaliar os resultados para o teste *Clean-Trace™ Surface Protein Plus*, em relação aos resultados das contagens de micro-organismos, verificou-se

que para pontos onde o teste teve resultado forte positivo também se obteve alta contagens de aeróbios mesófilos. A presença do material orgânico como substrato favorece o crescimento microbiano e a adesão dos micro-organismos tendo, portanto, um impacto sobre a contaminação observada nos referidos pontos (WHITEHEAD, SMITH, VERRAN, 2008).

O teste *Clean-Trace™ Surface Protein Plus*, por ser de prática aplicação e rápido resultado, pode auxiliar na identificação de falhas nos processos de limpeza, desafio constante para indústria de laticínios devido à natureza perecível do leite. Assim a utilização desta ferramenta pode contribuir na escolha de ações corretivas ou mesmo na determinação de nova limpeza antes do processamento do alimento, prevenindo sua contaminação, principalmente para indústrias de pequeno porte como as avaliadas neste trabalho.

6.4 CONCLUSÃO

O *Clean-Trace™ Surface Protein Plus* mostrou ser uma ferramenta eficiente na detecção de pontos de higiene deficiente, permitindo a tomada de decisões corretivas que previnam contaminações no processo produtivo do queijo.

Os resultados obtidos indicam más condições de higiene dos equipamentos e utensílios dos laticínios estudados, propiciando o acúmulo de resíduos que favorecem o crescimento microbiano. Para reverter as condições insatisfatórias detectadas é necessário a adoção de medidas corretivas por meio de treinamento e implantação das boas práticas de fabricação.

6.5 REFERÊNCIAS

3M. *Clean-Trace™ Surface Protein Plus*. **Boletim Técnico**. 3M do Brasil Ltda. 2009.

ANDRADE, N. J. Higiene na indústria de alimentos: avaliação e controle da adesão e formação de biofilmes bacterianos. ed. Varela, São Paulo, 2008, 412 p.

APHA. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 16th ed, ed. G. H. Richardson. Am. Pub. Health Assoc. Washington, D. C. 1992

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Preparo da amostra para exame microbiológico. Rio de Janeiro: **ABNT**, 03 p., (NBR 10203), mar., 1988.

BOURGEOIS, C.M.; MESCLE, J.F.; ZUCCA, J. **Microbiología alimentaria**. Zaragoza: Acribia, S.A., 437p. 1994.

CHAIN, V. S.; FUNG, D Y. C. Comparirison of Redigel1 1 , Petrifilm™ . Spiral Plate System, Isogrid™, and Aerobic Plate Count for determining the numbers of aerobic bacteria in selected foods Journaul of Food Protection. v.64. n.3. p.208-211. 1991.

COSTA, P. D.; **Avaliação da técnica de ATP- bioluminescência no controle do procedimento de higienização na indústria de laticínios**. Viçosa, 2001. 79f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2005.

FOX, P. F. **Fundamentals of cheese science**. Gaithersburg: AN Aspen Publication, 2000. 587 p.

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

GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. **Higiene e Vigilância Sanitária dos Alimentos**. 2 ed. São Paulo: Varela, 2001. p.252-255.

GOUNGA, M.E., XU, S.Y., WANG, Z. Whey protein isolate-based edible films as affected by protein concentration, glycerol ratio and pullulan addition in film formation. **Journal of Food Engineering** 83, 521–530, 2007.

HAYES, P. R. **Microbiología e higiene de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, S.A., 369p, 1993.

MACEDO, Jorge Antônio Barros. MILKNET. Biofilmes Bacterianos: Uma Preocupação Para a Indústria de Alimentos. 18 de julho de 2006. Disponível Em <www.milknet.com.br>. Acesso em 4 de setembro de 2012.

NUMA , E. N. Two-pack aqueous coating composition. U.S. Patent Number 5,519,089. May 21, 1996.

PARIZZI, S. Q. F., et al. Bacterial adherence to different inert surfaces evaluated by epifluorescence microscopy and plate count method. **Brazilian Archives of BiologyTechnology**. Mar. 2004, vol.47, no.1, p.77-83. ISSN 1516-8913. 2004.

PEIXOTO, J.P. N., NASCIMENTO, J. W.B., FURTADO, D. A., OLIVEIRA, C.J. B., GOMES J.P. Qualidade do ambiente e níveis de contaminação por microorganismos em queijarias no agreste Paraibano. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.14, n.2, p.177-183, 2012.

PICOLI, S. U.; BESSA, M. C.; CASTAGNA, S. M. F.; GOTTARDI, C. P. T.; SCHMIDT, V.; CARDOSO, M. Quantificação de coliformes, *Staphylococcus aureus* e mesófilos presentes em diferentes etapas da produção de queijo frescal de leite de cabra em laticínios, **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 26(1): 64-69, jan.-mar. 2006.

SENYK, G.F.; KOZLOWSKF, NOAR, P.S. et a l. Comparison of dry culture medium and conventional plating techniques for enumeration of bacteria in pasteurized fluid milk. **J. Dairy Science**. v.70. p-1152-1155. 1987.

SILVA JR, E.A. **Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação**. 6ed. São Paulo: Varela, 2007. 623p.

SILVA N. B. N., CAHAVES, K. F., GRAVINA, C. S., et al. Avaliação microbiológica de equipamentos e utensílios utilizados em laticínios da região de Rio Pomba – MG. **Rev. Inst. Latic. “Cândido Tostes”**, Jan/Fev, nº 378, 66, 5:10, 2011

VASAVADA, C. P. Rapid methods and automation in dairy microbiology. **J. Dairy Sci.**, v.76, p.3101-3113. 1993.

VERRAN, J., WHITEHEAD, K.A. Assessment of organic materials and microbial components on hygienic surfaces. **Food and Bioproducts Processing** 84, 260–264, 2006.

WHITEHEAD, K.A., COLLIGON, J., VERRAN, J. Retention of microbial cells in substratum surface features of micrometer and sub-micrometer dimensions. **Colloids and Surfaces B-Biointerfaces**, 41, 129–138, 2005.

WHITEHEAD, K.A., SMITH, L.A., VERRAN, J. The detection of food soils and cells on stainless steel using industrial methods: UV illumination and ATP bioluminescence. **International Journal of Food Microbiology**, 127, 121–128, 2008.

6.6 CONCLUSÃO FINAL

Para a análise microbiológica verificou-se que os principais pontos de contaminação foram a tubulação de vazão do leite pasteurizado, a tubulação de saída do tanque de coagulação e corte, as prateleiras de fermentação, e as mãos dos manipuladores.

Foi evidenciada nos laticínios estudados, alta contaminação de origem ambiental e pela manipulação do produto, evidenciadas pelas contagens de coliformes e os estafilococos isolados das mãos dos funcionários. Para reverter as condições de higiene insatisfatórias detectadas, é necessário o treinamento de pessoal quanto às de boas práticas de fabricação que melhorem a higiene de instalações e equipamentos, bem como a higiene pessoal.

Os micro-organismos indicadores isolados das mãos dos funcionários indicam a necessidade de treinamento destes funcionários quando as práticas de higiene pessoal e manipulação de alimentos.

Os resultados obtidos indicam deficiência nas condições de higiene dos equipamentos e utensílios dos laticínios estudados.

O acúmulo de resíduo mostrou favorecer o crescimento microbiano.

O *Clean-Trace™ Surface Protein Plus* mostrou ser uma ferramenta eficiente na detecção de pontos de higiene deficiente, permitindo a tomada de decisões corretivas que previnam contaminações no processo produtivo do queijo.