

AURELUCI ALVES DE AQUINO

**REQUEIJÃO DO SERTÃO FABRICADO NA MICRORREGIÃO DE
GUANAMBI, BAHIA: CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS,
MICROBIOLÓGICAS E DE PRODUÇÃO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS-BRASIL
2011

AURELUCI ALVES DE AQUINO

**REQUEIJÃO DO SERTÃO FABRICADO NA MICRORREGIÃO DE
GUANAMBI, BAHIA: CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS,
MICROBIOLÓGICAS E DE PRODUÇÃO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 21 de junho de 2011.

Prof. Luis Augusto Nero
(Coorientador)

Prof. Nélcio José de Andrade
(Coorientador)

Prof. Maximiliano Soares Pinto

Prof. José Manoel Martins

Prof. Antônio Fernandes de Carvalho
(Orientador)

À minha família, dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao meu esposo Paulo pelo amor, companheirismo, apoio e incentivo nas minhas escolhas.

Aos meus filhos Mateus e Iael pelo amor e compreensão de minha ausência.

Aos meus pais Antônio e Ada e a minha irmã Arlete pelo carinho e estímulo.

Ao professor e amigo Dr. Antônio Fernandes de Carvalho, pela confiança, oportunidade e orientação.

Ao professor co-orientador, Dr. Luis Augusto Nero, pela contribuição significativa e pelas valiosas sugestões.

Ao professor co-orientador, Dr. Nélio José de Andrade, pelo auxílio.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano (IF Baiano), *Campus* Guanambi, Bahia, na pessoa do Diretor Ariomar Rodrigues dos Santos e do Diretor Carlos Elízio Cotrim, por possibilitar a capacitação.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao Departamento de Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade de realização do curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudos.

Aos membros da Banca Examinadora, pela disponibilidade, atenção e cuidado nas sugestões apresentadas à Tese: Dr. Maximiliano Soares Pinto e Dr. José Manoel Martins.

Aos inestimáveis amigos Verbenes e Paulo Donato pela amizade, disponibilidade sempre e grande ajuda em todo o período do trabalho.

Aos colegas Ana Laura, Carlinne, Geruza, Maria do Socorro, Normane, Paulo Donato, Verbenes, Sérgio e Wagner pela colaboração.

Aos estudantes Gabriel, Erika, Junia, Jessica, Maura e Ramon que muito ajudaram nas análises laboratoriais.

Aos colegas de curso, pela caminhada em comum.

E a todos os demais não citados aqui, mas igualmente merecedores da minha eterna gratidão.

Muito obrigada.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS.....	xi
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xv
1. INTRODUÇÃO GERAL	01
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	04
CHAPTER I	
PHYSICAL – CHEMICAL CHARACTERIZATION AND MICROBIOLOGICAL QUALITY OF THE BACKLANDS CHEESECURD, A TRADITIONAL CHEESE OF THE NORTHEAST REGION OF BRAZIL	07
ABSTRACT	07
1. INTRODUCTION	08
2. MATERIAL AND METHODS	11
2.1. Sampling and preparation	11
2.2. Physical-chemical analyses	12
2.3. Microbiological Analyses.....	13
2.4. Statistical analysis.....	14
3. RESULTS AND DISCUSSION	16
3.1. Physical-chemical analyses	16
3.2. Microbiological analyses	23
4. CONCLUSIONS	26
5. BIBLIOGRAPHIC REFERENCES	27
CAPÍTULO II	
DIAGNÓSTICO DO PROCESSAMENTO E COMERCIALIZAÇÃO DO REQUEIJÃO DO SERTÃO PRODUZIDO NA MICRORREGIÃO DE GUANAMBI, SUDOESTE BAIANO, BRASIL	35
RESUMO.....	35
1. INTRODUÇÃO	35
2. REVISÃO DE LITERATURA	36
2.1. Produção de leite	36
2.2. Produção de queijos artesanais.....	37
2.3. Produção de Requeijão do Sertão	38
3. MATERIAL E MÉTODOS	40
3.1. Amostragem	40
3.2. Diagnóstico	40
3.3. Análise dos dados.....	42
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
4.1. Produtor de leite.....	42
4.1.1. Informações gerais	42

4.1.2. Dados de produção de leite	44
4.2. Produtor de requeijão	50
4.2.1. Informações gerais	50
4.3. Produção de requeijão	54
4.3.1. Etapas do processo	54
4.3.2. Instalações e local de processamento	63
4.3.3. Condições higiênicas do local de processamento	65
4.3.4. Origem e armazenamento da água utilizada na produção	67
4.4. Comercialização do requeijão	67
4.4.1. Destino do requeijão para comercialização	67
4.4.2. Aspectos de mercado	68
4.4.3. Instalações	68
4.4.4. Frequência de comercialização	70
5. CONCLUSÕES	70
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71

CAPÍTULO III

CONTAGEM E ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS PROVENIENTES DO LEITE CRU, SUPERFÍCIES DE UTENSÍLIOS E DO REQUEIJÃO DO SERTÃO PRODUZIDO NA MICRORREGIÃO DE GUANAMBI, SUDOESTE BAIANO, BRASIL

RESUMO	80
1. INTRODUÇÃO	80
2. REVISÃO DE LITERATURA	82
2.1. Bactérias do Ácido Láctico	82
2.2. Fermento láctico	85
3. MATERIAL E MÉTODOS	87
3.1. Avaliação da Microbiota Láctica	87
3.1.1. Coleta e preparo das amostras	87
3.1.2. Identificação das amostras	89
3.1.3. Contagem e isolamento de bactérias ácido lácticas	89
3.1.4. Purificação das bactérias ácido lácticas	91
3.1.5. Confirmação das bactérias ácido lácticas	92
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	93
4.1. População de bactérias ácido lácticas	93
4.2. Confirmação das bactérias ácido lácticas	96
4.2.1. Lactofermentação	96
4.2.2. Exame morfológico	98
4.2.3. Coloração de Gram e catalase	99
5. CONCLUSÃO	100
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	100

CAPÍTULO IV

BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO E PERFIL SENSORIAL DO REQUEIJÃO DO SERTÃO

RESUMO	111
1. INTRODUÇÃO	112
2. REVISÃO DE LITERATURA	113
2.1. Boas Práticas	113
2.1.1. Boas Práticas Agropecuárias	113

2.1.2. Boas Práticas de Fabricação	116
2.1.3. Boas Práticas de Comercialização	117
2.2. Nova tecnologia aplicada à fabricação do Requeijão do Sertão	118
2.3. Análise sensorial	119
3. MATERIAL E MÉTODOS	121
3.1. Capacitação de produtores e/ou comerciantes.....	121
3.2. Check list	121
3.2.1. Metodologia de análise	122
3.3. Nova tecnologia aplicada ao processo de fabricação	123
3.4. Análise sensorial.....	124
3.4.1. Teste de aceitação	124
3.4.2. Teste de intenção de compra	126
3.4.3. Análises estatísticas.....	126
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	127
4.1. Check list	127
4.2. Análise sensorial.....	135
5. CONCLUSÃO.....	139
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	139
3. CONCLUSÃO GERAL	149
ANEXOS.....	150

LISTA DE FIGURAS

CHAPTER I - PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION AND MICROBIOLOGICAL QUALITY OF THE “REQUEIJÃO DO SERTÃO”, A TRADITIONAL CHEESE OF THE NORTHEAST REGION OF BRAZIL07

Figure 1: Aspect, shape and color of the “Requeijão do Sertão”10

Figure 2: Map of the Guanambi Microrregion, plotting the 18 cities of sampling (A), detailing the microrregion of the State of Bahia (B) and this state in Brazil (C)12

CAPÍTULO II - DIAGNÓSTICO DO PROCESSAMENTO E COMERCIALIZAÇÃO DO REQUEIJÃO DO SERTÃO PRODUZIDO NA MICRORREGIÃO DE GUANAMBI, SUDOESTE BAIANO, BRASIL.....35

Figura 1. Microrregião de Guanambi com detalhe dos 18 municípios de coleta das amostras de Requeijão do Sertão (A). Localização da microrregião no Estado da Bahia (B), e o estado no Brasil (C)41

Figura 2. Produção de leite (L), número total de animais e número de vacas em lactação em propriedades rurais da Microrregião de Guanambi, Bahia45

Figura 3. Distâncias das propriedades produtoras de Requeijão do Sertão em relação ao município sede em quilômetros (km) da Microrregião de Guanambi, Bahia.....51

Figura 4. Responsável pelo processo de fabricação do Requeijão do Sertão da Microrregião de Guanambi, Bahia 52

Figura 5. Tempo de experiência dos produtores na fabricação do Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia.....53

Figura 6. Diferentes materiais utilizados para filtrar o leite cru, antes do processamento, na Microrregião de Guanambi, Bahia.....55

Figura 7. Diferentes utensílios utilizados pelos produtores de Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia, para cortar a coalhada57

Figura 8. Diferentes tipos de formas utilizadas na enformagem do Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia.....59

Figura 9. Rendimento econômico do Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia60

Figura 10. Peças de Requeijão do Sertão fabricadas por dia na Microrregião de Guanambi, Bahia61

Figura 11. Infraestrutura do local de produção do Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia64

Figura 12. Destino do lixo produzido nas propriedades produtoras de Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia.....66

Figura 13. Local principal de comercialização do Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia69

Figura 14. Produtos comercializados nas barracas junto com o Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia.....69

Figura 15. Comercialização de Requeijão do Sertão durante a semana pelos comerciantes da Microrregião de Guanambi, Bahia70

CAPÍTULO III - CONTAGEM E ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS PROVENIENTES DO LEITE CRU, SUPERFÍCIES DOS UTENSÍLIOS E DO REQUEIJÃO DO SERTÃO PRODUZIDO NA MICRORREGIÃO DE GUANAMBI, SUDOESTE BAIANO, BRASIL80

Figura 1. Organograma para obtenção dos isolados de bactérias do ácido láctico avaliados a partir do leite cru, superfícies de utensílios e Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia.....92

Figura 2. Contagem de bactérias ácido lácticas em log UFC mL⁻¹ isoladas de amostras de leite cru da Microrregião de Guanambi, Bahia, em meios M17 e MRS às temperaturas de 30 °C e 37 °C94

Figura 3. Contagem de bactérias ácido lácticas em log UFC cm⁻² isoladas de amostras de superfícies de utensílios da Microrregião de Guanambi, Bahia, em meios M17 e MRS às temperaturas de 30 °C e 37 °C.....94

Figura 4. Contagem de bactérias ácido lácticas em log UFC g⁻¹ isoladas de amostras de Requeijão do Sertão da Microrregião de Guanambi, Bahia, em meios M17 e MRS às temperaturas de 30 °C e 37 °C.....94

Figura 5. Distribuição dos microrganismos na forma de cocos, cocobacilos, bacilos, lâminas contaminadas (Contaminadas) e lâminas com microrganismos não cultiváveis (NC) isolados das amostras de leite, superfícies de utensílios e Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia.....97

CAPÍTULO IV - BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO E PERFIL SENSORIAL DO REQUEIJÃO DO SERTÃO111

Figura 1. Fluxograma de processamento do Requeijão do Sertão fabricado na Microrregião de Guanambi, Bahia (linha contínua, processamento artesanal com leite cru; linha tracejada, processamento com leite pasteurizado/inoculado com BAL)125

Figura 2. Conformidades para o bloco1 referente à edificação e instalações das agroindústrias familiares da Microrregião de Guanambi, Bahia. Classificação das agroindústrias: Boa (76-100%), Regular (51-75%) e Deficiente (0-50%)129

Figura 3. Conformidades para o bloco2 referente a equipamentos, móveis e utensílios das agroindústrias familiares da Microrregião de Guanambi, Bahia. Classificação das agroindústrias: Boa (76-100%), Regular (51-75%), Deficiente (0-50%)130

Figura 4. Conformidades para o bloco3 referente aos manipuladores das agroindústrias familiares da Microrregião de Guanambi, Bahia. Classificação das agroindústrias: Boa (76-100%), Regular (51-75%) e Deficiente (0-50%).131

Figura 5. Conformidades para o bloco4 referente à produção e transporte de alimentos das agroindústrias familiares da Microrregião de Guanambi, Bahia. Classificação das agroindústrias: Boa (76-100%), Regular (51-75%) e Deficiente (0-50%)132

Figura 6. Classificação higiênico-sanitária de acordo com o total de conformidades das agroindústrias familiares da Microrregião de Guanambi, Bahia. Classificação das agroindústrias: Boa (76-100%), Regular (51-75%) e Deficiente (0-50%)134

Figura 7. Histograma de freqüências de notas para a aceitação global dos Requeijões do Sertão produzidos com leite pasteurizado (RLP) e leite cru (RLC) na Microrregião de Guanambi, Bahia: 1=desgostei extremamente, 2=desgostei muito, 3=desgostei moderadamente, 4=desgostei ligeiramente, 5=indiferente, 6=gostei ligeiramente, 7=gostei moderadamente, 8=gostei muito, 9=gostei extremamente136

Figura 8. Índice de aceitabilidade da avaliação geral dos requeijões do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia137

Figura 9. Histograma de frequência da intenção de compra do requeijão do Sertão fabricado com leite pasteurizado (RLP) e leite cru (RLC) na Microrregião de Guanambi, Bahia: 1=certamente não compraria, 2=possivelmente não compraria, 3=indiferente, 4=possivelmente compraria, 5=certamente compraria138

LISTA DE TABELAS

CHAPTER I - PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION AND MICROBIOLOGICAL QUALITY OF THE “REQUEIJÃO DO SERTÃO”, A TRADITIONAL CHEESE OF THE NORTHEAST REGION OF BRAZIL07

Table I. Statistical parameters of the physicochemical characteristics of the “Requeijão do Sertão”.....17

Table II. Critical ranges low, medium and high for the physicochemical parameters of “Requeijão do Sertão”20

Table III. Classification of the “Requeijão do Sertão” in accordance with the humidity grade.20

Table IV. Average, standard deviation, coefficient of variation of the physicochemical parameters and level of significance of “Requeijão do Sertão” with low, medium and high humidity grades21

Table V. Classification of “Requeijão do Sertão” in accordance with the fat in dry matter.....22

Table VI. Average, standard deviation, coefficient of variation of the physicochemical parameters and significance level of the non-fat, semi fat and fat “Requeijão do Sertão”.....22

Table VII. Count of coliforms, *Escherichia coli* and *Staphylococcus* in CFU. g⁻¹ in samples of “Requeijão do Sertão”.....24

CAPÍTULO II - DIAGNÓSTICO DO PROCESSAMENTO E COMERCIALIZAÇÃO DO REQUEIJÃO DO SERTÃO PRODUZIDO NA MICRORREGIÃO DE GUANAMBI, SUDOESTE BAIANO, BRASIL.....35

Tabela 1. Distância das propriedades produtoras de leite em relação ao município sede em quilômetros (km) da Microrregião de Guanambi, Bahia.....43

Tabela 2. Tamanho (hectare, ha) das propriedades produtoras de leite da Microrregião de Guanambi, Bahia.43

Tabela 3. Práticas de higiene adotadas pelos produtores de leite da Microrregião de Guanambi, Bahia47

Tabela 4. Produção diária de leite e equipamento utilizado na refrigeração pelos produtores de leite da Microrregião de Guanambi, Bahia49

Tabela 5. Principais características da infraestrutura do local de produção do Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia.....64

CAPÍTULO III - CONTAGEM E ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS PROVENIENTES DO LEITE CRU, SUPERFÍCIES DE UTENSÍLIOS E DO REQUEIJÃO DO SERTÃO PRODUZIDO NA MICRORREGIÃO DE GUANAMBI, SUDOESTE BAIANO, BRASIL80

Tabela 1. Diferenciação quanto à morfologia, temperatura de multiplicação e produtos formados pelos gêneros de BAL presentes em queijos.....84

Tabela 2. Utensílios usados na fabricação de Requeijão do Sertão amostrados para contagem e isolamento de bactérias do ácido láctico e especificações de coleta88

Tabela 3. Identificação das amostras de leite, superfície de utensílios e Requeijão do Sertão da Microrregião de Guanambi, Bahia.....90

Tabela 4. Contagem média e desvio padrão ($\bar{X} \pm \delta$) de bactérias ácido lácticas em log UFC g⁻¹ ou cm⁻² ou mL⁻¹ isoladas de amostras de leite, superfícies de utensílios e Requeijão do Sertão em meios M17 e MRS às temperaturas de 30°C e 37°C, da Microrregião de Guanambi, Bahia.....95

Tabela 5. Morfologia dos microrganismos nos meios de cultura M17 e MRS às temperaturas de 30 °C e 37 °C, isolados das amostras de leite, superfícies de utensílios e Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia.....97

Tabela 6. Produção de catalase pelos microrganismos isolados das amostras de leite, superfícies de utensílios e de Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia98

Tabela 7. Tipos de coágulos formados na prova de lactofermentação, em amostras de leite cru, superfícies de utensílios e Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia99

CAPÍTULO IV - BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO E PERFIL SENSORIAL DO REQUEIJÃO DO SERTÃO111

Tabela 1. Divisão dos blocos e número de itens avaliados.....123

Tabela 2. Classificação higiênico-sanitária para a agroindústria familiar.123

Tabela 3. Número total de conformidades, não conformidades e “não aplicável” (NA), do questionário *check list* aplicado em cinco agroindústrias familiares (A1, A2, A3, A4 e A5) produtoras de Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia.127

Tabela 4. Classificação higiênico-sanitária para a agroindústria familiar.128

Tabela 5. Notas médias atribuídas no teste de ordenação-preferência do Requeijão do Sertão elaborado com leite pasteurizado e leite cru137

RESUMO

AQUINO, Aureluci Alves de, D.Sc. Universidade Federal de Viçosa, junho de 2011. **Requeijão do Sertão fabricado na Microrregião de Guanambi, Bahia: características físico-químicas, microbiológicas e de produção.** Orientador: Antônio Fernandes de Carvalho. Coorientadores: Luis Augusto Nero e Nélio José de Andrade.

O Requeijão do Sertão é um típico queijo artesanal do Nordeste do Brasil, com sabor e textura bastante apreciáveis pelo consumidor local. Devido à grande variação na qualidade e a inexistência de dados científicos, o presente estudo procurou realizar um levantamento de informações em relação à identidade, às características, às condições higiênico-sanitárias e às técnicas de processamento. Objetivou ainda aplicar no processo as Boas práticas de Fabricação, procurando preservar as características do produto tradicional. O requeijão foi caracterizado físico-química e microbiologicamente e os resultados apresentaram as seguintes faixas críticas: pH entre 5,17 e 5,93; Acidez entre 0,27 e 0,55 (% de ácido láctico); Gordura entre 20,12 e 28,78 (%m/m); Extrato Seco Total entre 52,05 e 61,27 (%m/m); Proteína entre 24,70 e 30,66 (%m/m); Cloretos entre 0,81 e 1,41 (%m/m); Cinzas entre 1,97 e 3,05 (%m/m); e Atividade de Água entre 0,96 e 0,98. O produto também pôde ser classificado como de média umidade (entre 38,74 e 47,94) e semi gordo (gordura no extrato seco entre 35,00 e 50,88). No diagnóstico da cadeia produtiva, realizado por meio de questionário aplicado aos produtores e comerciantes, as propriedades produtoras estudadas foram caracterizadas como de baixa tecnologia. No estudo da biodiversidade da cadeia produtiva, que envolveu o leite cru, superfícies dos utensílios e requeijão, um total de 935 isolados foi obtido, com 782 cepas de bactérias do ácido láctico confirmadas. Avaliaram-se, quanto às Boas Práticas de Fabricação, por meio de *check-list*, cinco agroindústrias familiares produtoras do requeijão, as quais foram classificadas como “regulares” segundo RDC nº 275/ 2002. Nova tecnologia foi aplicada à fabricação do Requeijão do Sertão, a partir de leite

pasteurizado/inoculado com bactérias ácido lácticas. Os resultados obtidos, por meio da análise sensorial, apresentaram índice de aceitação e de intenção de compra satisfatório, porém inferior ao resultado obtido pelo requeijão fabricado com leite cru.

ABSTRACT

AQUINO, Aureluci Alves de, D.Sc. Universidade Federal de Viçosa, June, 2011. **Requeijão do Sertão manufactured in the Microrregion Guanambi, Bahia: characteristics physical - chemical, microbiological and production.** Advisor: Antônio Fernandes de Carvalho. Co-advisors: Luís Augusto Nero and Nélcio José de Andrade.

The “Requeijão do Sertão” is a typical handmade cheese in Northeastern of Brazil, with flavor and texture a lot appreciable by local consumers. Due to the wide variation in quality and lack of scientific data, this study was based on a survey of information regarding the identity, characteristics, sanitary conditions and processing techniques. It also aimed to apply new technology in the manufacturing process, seeking to preserve the traditional characteristics of the product. The “Requeijão do Sertão” was characterized physico-chemically and microbiologically and the results showed the following critical ranges: pH between 5.17 and 5.93; acidity between 0.27 and 0.55 (% w / w); Fat between 20.12 28.78 (% w / w); dry matter total between 52.05 and 61.27 (% w / w; Protein between 24.70 and 30.66 (% w / w); Chlorides between 0.81 and 1.41 (% w / w); Ash between 1.97 and 3.05 (% w / w) and water activity between 0.96 and 0.98. The product could also be classified as medium humidity (between 38.74 and 47.94) and half fat (fat in dry matter between 35.00 and 50.88). On the diagnosis of the production chain, accomplished through a questionnaire applied to producers and traders, the producing properties studied were characterized as low-tech. On the study of biodiversity in the productive chain, which involved non-processing milk, “Requeijão do Sertão” and equipment surface, a total of 935 isolates was obtained with 782 strains of lactic acid bacteria confirmed. It was assessed as the Good Manufacturing Practices, through a check-list, five small family producers of “Requeijão do Sertão”, which were classified as "regular" second law. New technology was applied to the manufacture of “Requeijão do Sertão” from pasteurized milk / inoculated with lactic acid bacteria. The results obtained by means of sensorial

analysis, presented an index of acceptance and purchase intent satisfactory, but lower than the result obtained by the “Requeijão do Sertão” made from non-processing milk.

1. INTRODUÇÃO GERAL

Atualmente os queijos artesanais têm sido objeto de pesquisa devido a sua grande importância social no processo de manutenção do homem no campo. Destaca-se que a existência destes produtos é consequência de seu ambiente histórico e cultural e devem ser preservados (Pinto, 2008). Há também uma demanda crescente pelos consumidores desses produtos que trazem consigo identidade, cultura e tradição. Em diversos países são produzidos queijos artesanais a partir do leite cru com características sensoriais próprias. Esses produtos possuem relevância cultural regional e econômica (Fox et al., 2000).

No Brasil, a produção artesanal de queijos ocorre desde o século XVIII e algumas técnicas de fabricação continuam preservadas, desempenhando também um importante papel social, econômico e cultural (Pinto et al., 2009). Queijos artesanais são típicos em várias regiões do Brasil, como os queijos de Coalho e Manteiga produzidos no Nordeste (Guerra & Guerra, 2003; Nassu et al., 2001). Em Minas Gerais, são produzidos os queijos do Serro (Brant et al., 2007; Machado et al., 2004), Canastra (Nóbrega et al., 2006), Minas Frescal e Padrão (Carvalho et al., 2007; Nogueira et al., 2005), Araxá (Araújo et al., 2004; Martins et al., 2004) e Salitre (Lima et al., 2009) hoje denominado Cerrado (Resende, 2010). O queijo Serrano ou Colonial é produzido na região Sul (Ross et al., 2005; Souza et al., 2003, Ide & Benedet, 2001).

O requeijão é um queijo artesanal típico brasileiro (Dender, 2006), fabricado, principalmente, nas regiões Norte e Nordeste do Brasil há mais de 150 anos e muitas propriedades ainda se mantêm em sistema tradicional de produção (SEBRAE, 2008). Esse produto recebe diversas denominações devido a certas particularidades regionais. Os requeijões Marajó (Hotta et al., 2005; Lourenço & Souza, 2005), de Corte ou do Norte (Vieira & Lourenço Junior, 2004; FAO, 1990) são produzidos na região Norte, o do Sertão ou Baiano na região Nordeste (Escudero, 1979).

Sua origem está ligada à fabricação artesanal, fato que persiste até os dias atuais, principalmente em pequenas unidades localizadas na zona rural.

De maneira geral, os produtores não contam com tecnologias apropriadas e fabricam o requeijão a partir de leite cru de vaca e os comercializam à temperatura ambiente (26°C) no próprio local de fabricação ou ainda nas feiras livres. Seu consumo é imediato e não é armazenado refrigerado.

O Requeijão do Sertão tem participação considerável na economia da Microrregião de Guanambi. Faz parte da renda dos produtores de leite, principalmente, daqueles que não têm acesso às usinas de beneficiamento. Porém, estes não contam com tecnologias apropriadas, necessitando aperfeiçoar o processo de fabricação para melhorar a qualidade do produto, sem promover a sua descaracterização. Entretanto, o produto obtido tradicionalmente possui grande popularidade (Nassu et al., 2003).

As técnicas artesanais empreendidas na fabricação do requeijão, como a utilização de leite cru de vacas alimentadas com pastagens naturais, bem como o micro-clima específico da microrregião, conferem ao produto características físicas e organolépticas únicas, que lhe dão especificidade e o distinguem de outros queijos.

A composição desse queijo oscila em uma ampla faixa, variando de produtos macios e textura suave, a produtos de elevada consistência (Rodrigues, 2007). Trata-se de um produto nutritivo e de sabor agradável, resultante da fusão da massa coalhada, cozida ou não, dessorada e lavada, obtida por coagulação ácida e/ou enzimática do leite, opcionalmente adicionada de creme de leite, ou manteiga, ou gordura anidra de leite, ou “butter oil” (Brasil, 1997).

Devido à grande variação na qualidade e à inexistência de dados científicos da identidade e de técnicas de fabricação, é imprescindível combinar legislação, normas fiscais e sanitárias e o “saber-fazer” tradicional em padrões que possibilitem a reprodução social dessas famílias, ao mesmo tempo, em que garantam a qualidade do produto aos consumidores.

Isto pode ser feito por meio de determinações químicas e físico-químicas, de avaliação da qualidade microbiológica e sensorial e de aplicação de boas práticas na fabricação e comercialização.

Tais procedimentos ajudam a tornar o requeijão seguro para o consumo, sem deixar de expressar preocupação com a manutenção de aspectos culturais, históricos, econômicos e sensoriais. Essas características estão associadas à produção em pequena escala e são muito apreciadas pelos consumidores.

Assim, o presente estudo, procurou realizar um levantamento dessas informações relacionadas com o Requeijão do Sertão. Para alcançar este conhecimento foi realizado um trabalho de pesquisa, dividido em sete etapas: **I)** caracterização físico-química e qualidade microbiológica (identidade); **II)** diagnóstico da cadeia produtiva por meio de questionário aplicado aos produtores e comerciantes; **III)** isolamento das bactérias ácido lácticas da cadeia produtiva envolvendo o leite cru, os superfícies dos utensílios e o requeijão; **IV)** capacitação e treinamento dos produtores, com uso das principais ferramentas de gestão de segurança as Boas Práticas Agropecuárias (BPA), Boas Práticas de Fabricação (BPF) e Boas Práticas de Comercialização (BPC); **V)** avaliação de agroindústrias familiares produtoras do requeijão, em conformidades com as Boas Práticas de Fabricação, por meio de *check list*; **VI)** nova tecnologia aplicada à fabricação do Requeijão do Sertão que agreguem valor qualitativo e quantitativo; e, por fim, **VII)** teste de aceitação sensorial e de intenção de compra do produto após a implantação do novo fluxograma.

O presente trabalho está organizado em quatro capítulos, assim denominados: Caracterização físico-química e qualidade microbiológica do Requeijão do Sertão, um queijo tradicional da Região Nordeste do Brasil (capítulo I); Diagnóstico do processamento e comercialização do Requeijão do Sertão produzido na Microrregião de Guanambi, Sudoeste Baiano, Brasil (capítulo II); Contagem e isolamento de Bactérias Ácido Lácticas provenientes do leite cru, superfícies dos utensílios e do Requeijão do Sertão produzido na Microrregião de Guanambi, Sudoeste Baiano, Brasil (capítulo III) e Perfil sensorial do Requeijão do Sertão produzido com segurança alimentar na Microrregião de Guanambi, Sudoeste Baiano, Brasil (capítulo IV).

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

ARAÚJO, R. A. B. M.; MARTINS, J. M.; PINTO, M. S.; OLIVEIRA, N. P.; OLIVEIRA, R. C.; FURTADO, M. M.; FERREIRA, C. L. L. F. Avaliação microbiológica do queijo Minas artesanal da região de Araxá. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, vol. 59, p. 93-96, 2004.

BRANT, L. M. F.; FONSECA, L. M.; SILVA, M. C. C. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo-de-minas artesanal do Serro-MG. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, vol. 9, p. 1570-1574, 2007.

BRASIL. Portaria nº 359 de 04 de agosto de 1997. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Requeijão Cremoso ou Requesón. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal, 1997.

CARVALHO, J. D. G.; VIOTTO, W.H.; YOS, A. The quality of Minas Frescal cheese produced by different technological processes. **Food Control**, vol. 18, p. 262-267, 2007.

DENDER, A. G. F. V. Requeijão: Aspectos Gerais. In: **Requeijão Cremoso e Outros Queijos Fundidos: Tecnologia de Fabricação, Controle do Processo e Aspectos de Mercado**. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora Ltda. Cap.1, p. 11-17, 2006.

ESCUADERO, C. J. **Estudos do requeijão do Norte: composição, qualidade e comportamento durante a estocagem**. 1979. 103f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 1979.

FAO. A Tecnologia de Produtos Lácteos tradicional nos países em desenvolvimento. **Animal Production and Health**, n. 85, Alimentação e Agricultura das Nações Unidas, Roma: Food and Agricultural Organization das Nações Unidas, p. 333, 1990.

FOX, P. F.; GUINEE T. P.; COGAN, T. M.; MCSWEENEY, P. L. H. **Microbiology of Cheese Ripening, in Fundamentals of Cheese Science**, Vol.1. Aspen Publishers, Gaithersburg, MD, 2000. 657p.

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). **Brazilian Journal of Food Technology**, vol. 6 , p.259-265, 2003.

HOTTA, R. M.; OLIVEIRA, C. A.; CUNHA NETO, O. C.; FERNANDEZ, A. M.; SOBRAL, P. J. A.; FRANZOLIN NETO, R. Effect of direct acidification and pasteurization of buffalo milk on the quality of Marajoara cheese, Italian. **Journal of Food Science**, vol. 17, p. 295-303, 2005.

IDE, L. P. A.; BENEDET, H. D. Contribuição ao conhecimento do queijo colonial produzido na região serrana do estado de Santa Catarina, Brasil. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, vol. 25, p. 1351-1358, 2001.

LIMA, C. D. L. C.; LIMA, L. A.; CERQUEIRA; M. M. O. P.; FERREIRA, E. G.; ROSA, C. A. Bactérias do ácido láctico e leveduras associadas com o queijo-de-minas artesanal produzido na região da Serra do Salitre, Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, vol. 61, p. 266-272, 2009.

LOURENÇO, L. F. H.; SOUSA, C. L. Análise microbiológica e teste de aceitação de requeijão marajoara elaborado com leite de búfala. **Higiene Alimentar**, vol. 19, p. 84-88, 2005.

MACHADO, E. C.; FERREIRA, C. L. L. F.; FONSECA, L. M.; SOARES, F. M.; PEREIRA JÚNIOR, F. N. Características físico-químicas e sensoriais do queijo Minas artesanal produzido na região do Serro, Minas Gerais. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, vol. 24, p. 516-521, 2004.

MARTINS, J. M.; PINTO, M. S.; ARAÚJO, R. A. B. M.; CUNHA, L. R.; FURTADO, M. M.; FERREIRA, C. L. L. F. Características físico-químicas dos queijos Minas artesanais produzidos na região de Araxá. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, vol. 59, p. 317-320, 2004.

NASSU, R. T.; ARAÚJO, R. S.; BORGES, M. F.; LIMA J. R.; MACÊDO, B. A.; LIMA, M. H. P.; BASTOS, M. S. R. Diagnóstico das condições de processamento de produtos regionais derivados do leite no Estado do Ceará. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, n.1, Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2001.

NASSU, R. T.; ARAÚJO, R. S.; GUEDES, C. G. M.; ROCHA, R. G. A. Diagnóstico das Condições de Processamento e Caracterização Físico-Química de Queijos Regionais e Manteiga no Rio Grande do Norte. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, n.11, dezembro 2003.

NOBREGA, J. E.; MARTINS, J. M.; PIMENTEL, FILHO N. J.; FERREIRA, C. L. L. F. Perfil do fermento endógeno utilizado na produção de queijo Minas artesanal na Serra da Canastra, Minas Gerais. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, vol. 61, p. 427-429, 2006.

NOGUEIRA, M. C. L.; LUBACHEVSKY, G.; RANKINB, S. A. A study of the volatile composition of Minas cheese. **Food Science and Technology**, vol. 38, p. 555-563, 2005.

PINTO, M. S. **Efeito da microbiota endógena e da nisina sobre *Listeria* sp. E *Staphylococcus aureus* em queijo Minas artesanal do Serro**. 2008. 84 f. Tese (Doutorado em Ciências e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais. 2008.

PINTO, M. S.; CARVALHO, A. F.; PIRES, A. C. S.; PAULA, J. C. J.; SOBRAL, D.; MAGALHÃES, F. A. R. Survival of *Listeria innocua* in Minas Traditional Serro cheese during ripening. **Food Control**, vol.20, p. 1167-1170, 2009.

RESENDE, M. F. S. **Queijo Minas artesanal da Serra da Canastra: influência da altitude e do nível de cadastramento das queijarias nas características físico-químicas e microbiológicas**. 2010. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte, Minas Gerais. 2010.

RODRIGUES, F. **Requeijão Crioulo**. Juiz de Fora, 2007. Disponível em <http://www.queijosnobrasil.com.br/requeijao_norte.htm>. Acesso em: 03 jun. 2008.

ROOS, T. B.; SCHEID FILHO, V. B.; TIMM, C. D.; OLIVEIRA, D. S. Avaliação microbiológica de queijo colonial produzido na cidade de Três Passos. **Higiene Alimentar**, vol. 19, p. 94-96, 2005.

SEBRAE - SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS. Série Mercado - **Queijos Nacionais. Estudos de Mercado** SEBRAE/ESPM, 150 p. Setembro, 2008.

SOUZA, C. F. V.; ROSA, T. D.; AYUB, M. A. Z. Change in the microbiological and physicochemical characteristics of *Serrano* cheese during manufacture and ripening. **Brazilian Journal of Microbiology**, vol. 34, p. 260-266, 2003.

VIEIRA, L. C.; LOURENÇO JUNIOR, J. B. Tecnologia de Fabricação do Requeijão Integral de Corte. Belém, PA: Comunicado Técnico, n. 124, 2004.

Chapter I - Physicochemical characterization and microbiological quality of the “Requeijão do Sertão” ⁽¹⁾, a traditional cheese of the Northeast

Region of Brazil

Aureluci Alves de AQUINO, Laboratório de Leite e Derivados, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, aureluciaquino@ufv.br

Antonio Fernandes de CARVALHO*, Laboratório de Leite e Derivados, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, antoniofernandes@ufv.br

Luís Augusto NERO, Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, nero@ufv.br

Nélio José de ANDRADE, Laboratório de Leite e Derivados, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, nandrade@ufv.br

Maximiliano Soares Pinto, Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, maxonze@yahoo.com.br

* Laboratório de Leite e Derivados, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

ABSTRACT

Traditional cheeses are produced all over the world, in small rural properties. They have their own particular manufacturing system, sensory characteristics and economical, historical and cultural relevance for their region of origin. The “Requeijão do Sertão” is a typical traditional cheese from the Brazil’s Region Northeast, with taste and texture much appreciated by the local consumers. The present study proposed to characterize it, establishing their physicochemical parameters and verifying their microbiological quality. A number of 62 samples of “Requeijão do Sertão” made by small producers in the Southwest Region of Bahia, Brazil, were collected. The data obtained were submitted to descriptive statistical analysis.

Some physicochemical parameters have presented high variability. In order to guide the characterization, critical ranges were defined for these parameters ⁽¹⁾

The “Requeijão do Sertão” is a cheese produced with unprocessed milk by lactic acidification made by the autochthonus bacteria and additional anhydrous fat.

and the classes were stratified. The samples presented the following critical ranges: pH between 5,17 and 5,93; Acidity between 0,27 and 0,55 (% w/w); Fat between 20,12 and 28,78 (% w/w); Total Dry Extract between 52,05 and 61,27 (% w/w); Protein between 24,70 and 30,66 (% w/w); Chlorides between 0,81 and 1,41(% w/w); Ash content between 1,97 and 3,05 (% w/w); and Water activity between 0,96 and 0,98. The product was classified as of medium humidity (between 38,74 and 47,94), and semi fat (fat in dry matter between 35,00 and 50,88). The “Requeijão do Sertão” does not attend the microbiological standards of the Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Requeijão (RTIQ) e da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (Technical Regulations for the Fixation of Identification and Quality of “Requeijão” and of the National Agency of Sanitary Surveillance).

Key words: “Requeijão”, traditional cheeses, physicochemical parameters, microbiological quality, cheese classification.

1. INTRODUCTION

Traditional cheeses are produced in various countries from unprocessed milk, and have their particular sensory characteristics. These products have regional cultural relevance and economical importance [15]. In France, more than 360 types of traditional cheeses are fabricated, with traditional taste and characteristics of the region where they are produced, as it is the case of the cheeses Roquefort [3] and Camembert [52]. The fabrication of the Cheddar

cheese was initiated many centuries ago in the Southwest Region of Great Britain [40]. Italy produces many cheeses such as the Grana Padano and the Parmegiano-Reggiano with their own particular characteristics of fabrication and taste. Other traditional regional cheeses are the Stilton (United Kingdom), Manchego (Spain), Swiss Cheese (Switzerland), Feta (Greece), Reino Cheese (Portugal) [41].

In Brazil the hand made production of cheeses has occurred since the 18th century and some of the fabrication techniques remain preserved, performing also an important social, economical and cultural role [47]. Traditional cheeses are typical in various brazilian regions, such as the “Queijo de Coalho” (curd cheese) and “Queijo Manteiga” (butter cheese) produced in the Northeast Region [18, 43]. In Minas Gerais state the cheeses Serro [5, 38], Canastra [44], Minas Frescal and Padrão [8, 45], Araxá [2, 39], and Salitre [36] are produced. The Serrano or Colonial cheese is produced in the South of Brazil [48, 51, 25].

The “Requeijão do Sertão” is a typical brazilian traditional cheese [11] fabricated mainly in the North and Northeast Regions of Brazil, and to they are given various different names, in accordance with certain regional particularities. The “Requeijão Marajó” [23, 37, 24] and the “Requeijão de Corte” or “Requeijão do Norte” [55, 13] are produced in the North Region, and the cheese called “Requeijão do Sertão” or “Requeijão Baiano” is produced at Bahia State (Northeast Region) [12].

From a cultural perspective, the “Requeijão do Sertão” is produced through the fermentation of the unprocessed cow milk. After the acidification, the cream is separated, the curd is heated at 45°C and the whey is drained off.

The curd is again heated and washed two or three times with water and fresh milk in order to reduce the acidity level. At the end of the process occurred the fusion of the dough at 80°C during 20 to 30 minutes with the addition of salt and sodium bicarbonate and at the end, anhydrous fat is added. Since it is made empirically, there is not a standard of identification or quality. The cheese has cylindrical or rectangular shape, weight varying from 1 a 15 kg, the color from straw-color and caramel brown, firm and oily rind, soft texture and high fat content when the cutting is done, closed dough or with small mechanical holes (Figure 1). The physicochemical and the microbiological composition vary within the same producing unit.

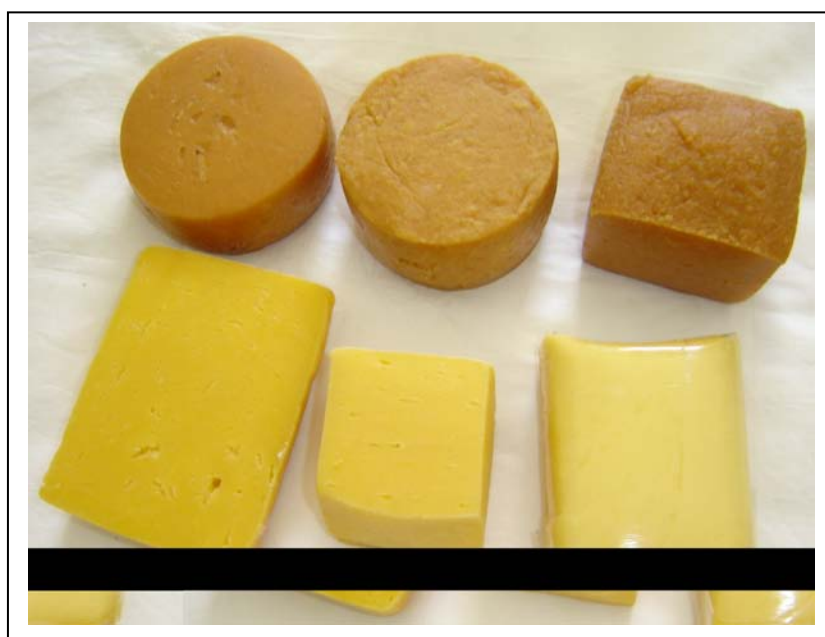


Figure 1: Aspect, shape and color of the “Requeijão do Sertão”.

Taking into consideration the social and economical relevance of “Requeijão do Sertão” and the inexistence of quality and standards data, the present study had as objective to characterize the product, establishing

physicochemical parameters, verifying the microbiological quality and proposing a classification.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Sampling

A number of 62 samples of the “Requeijão do Sertão” from 18 districts of the Guanambi Microrregion (Guanambi, Caetité, Pindaí, Candiba, Urandi, Palmas de Monte Alto, Iuiú, Malhada, Sebastião Laranjeiras, Igaporã, Ibiassucê, Jacaraci, Mortugaba, Licínio de Almeida, Caculé, Lagoa Real, Matina e Riacho de Santana), in the Southwest Region of Bahia, Brazil, were collected (Figure 2).

Since there are no producers formally registered, the samples were collected at random, and attempting to obtain a representative feature of the producing region. The samples with less than to 48 hours of fabrication were collected at street markets, where the commercialization of this product normally takes place. After the collection, the labeled samples were packed in trays and maintained at ambient temperature, simulating the commercialization conditions of the product.

In order to carry out the physicochemical and microbiological analyses, portions of “Requeijão do Sertão” samples were collected, the rind being removed, following the determinations of the Association of Analytical Communities (AOAC) [1] in their reference method number 920.122. The portions of the samples were prepared with distinct methodologies for the physicochemical and for the microbiological analyses.

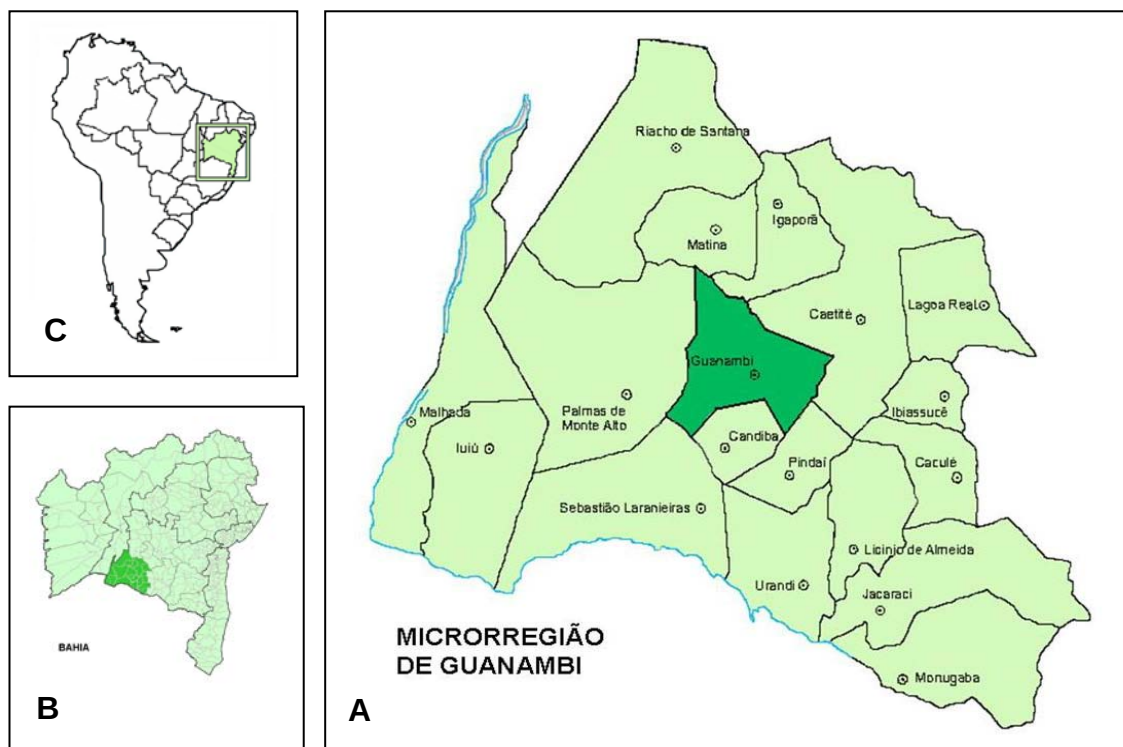


Figure 2: Map of the Guanambi Microrregion, plotting the 18 cities of sampling (A), detailing the microrregion of the State of Bahia (B) and this state in Brazil. (C).

2.2. Physicochemical analyses

After obtained the portions, the “Requeijão do Sertão” samples were homogenized in a food processor until an uniform dough was obtained and they were subsequently packed in sterilized plastic bags and identified.

Immediately after the preparation of the samples, aliquots in duplicate were collected for each of the analyses, which were carried out in accordance with the methodologies from: Instituto Adolfo Lutz [27] for **pH** through the Electroanalytical Method and **acidity** through the Ponderal Method; from the International Organization for Standardization (ISO) for **fat** through the Van Gulik Method [28], **fat in dry matter (FDM)** and **humidity** through the Indirect Method, **total dry extract (TDE)** through the Gravimetric Method [29], **protein**

through the Kjeldahl Method of nitrogenized compounds [33] multiplied by the factor 6,38 [27], and **sodium chloride** through the Ash Dosage Method [30]; from the International Dairy Federation (FIL) for **ash** through the Gravimetric Method [25]. The **Water Activity (A_w)** was analysed at 25°C with the utilization of the Aqualab (Decagon 3TE, Decagon Dewires Inc., U.S.A).

2.3. Microbiological Analyses

After obtained of the portions of “Requeijão do Sertão” samples, 25 g of each sample were aseptically weighed in a sterilized plastic bag. An initial dilution of the samples was carried out with homogenization for 30 seconds in 225 mL of peptone water (PW) 0,1% in a Stomacher. From this initial dilution, serial decimal dilutions were prepared, utilizing the same diluting substance [53]. Total Coliforms and *Escherichia coli* were enumerated using Petrifilm™ EC at 35°C for 24-48 hours. Thermonuclease-positive *Staphylococcus* were enumerated using Petrifilm™ STX incubated at 35°C for 48 hours, (3M Microbiology, St. Paul, MN, USA), in accordance with the recommendations of the manufacturer. The obtained results were expressed as colony forming- units per gram (CFU.g⁻¹).

For *Salmonella* detection, 25 g of each sample were homogenized in a Stomacher with 225 mL of lactose broth and incubated at 35 ± 1°C for 24 ± 2 hours. Subsequently, aliquots of 1 mL were transferred to tubes containing 10 mL of selenite cystine broth and 10 mL of tetrathionate broth, with incubation at 35°C for 24 ± 2 hours. After incubation, the cultures were streaked on Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD) and Hektoen Enteric Agar (HE), incubated at 35°C for 24 ± 2 hours. Suspect *Salmonella* colonies were transferred to the

Triple Sugar Iron Agar (TSI) and Lysine Iron Agar (LIA) media. Incubated at 35°C for 21 ± 3 hours, *Salmonella* typical reactions were transferred to Agar McConkey and incubated again at 35°C for 12-18 hours [53]. The identification was done through biochemical tests: Sulphite Indole Motility medium (SIM), H₂S (TSI and LIA), citrate, urease (broth), glucose (O/F), malonate, utilization of dulcitol, sucrose and lactose [31]. The results were expressed as presence or absence of *Salmonella* in 25 g of sample.

For the detection of *Listeria monocytogenes*, 25 g of each sample were homogenized in a Stomacher with 225 mL of Fraser broth and incubated at 30°C for 24 hours. Subsequently, aliquots of 0,1 mL were transferred to tubes containing 10 mL of Fraser broth and incubated at 35°C for 26 ± 2 hours. The cultures obtained were streaked on dishes with Palcam Agar and incubated at 35°C for 24 and 48 hours [32].

Typical colonies were sub cultivated in Tryptone Soya Yeast Extract Agar (TSYEA) and identified by Polymerase Chain Reaction (PCR). The DNA of the colonies was extracted by temperature lysis and the oligonucleotides primers were LM1: CCTAAGACGCCAATCGAA and LM2: AAGCGCTTGCAACTGCTC, which amplify a fragment of 701 pb of the listeriolysin O. The products of the amplification were separated by electrophoresis in agarose gel at 1,5 % (w/v), stained with ethidium bromide at 0,005 % (w/v) and photodocumented. The results were expressed as presence or absence of *Listeria* in 25 g of the sample.

2.4. Statistical analysis

The data of the physicochemical and microbiological parameters of “Requeijão do Sertão” were submitted to descriptive statistical analysis [10] using the software Statistical Analysis System [50]. The statistical measurements determined for the physicochemical analyses were: average ($\bar{X}$), average standard deviation ($\bar{\sigma}$), inferior limit (li) and superior limit (Li), variance ($\bar{\sigma}^2$) and coefficient of variation (CV) and for the microbiologic analyses they were: average ($\bar{X}$), inferior limit (li) and superior limit (Li).

The results were analysed taking into consideration the standards of the RTIQ for “Requeijão do Sertão” [7] for coliforms and *Staphylococcus*, and of the ANVISA [6] for *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes*. The samples were considered improper for consumption when the established limits were exceeded.

After the performance of the analyses, in order to guide the characterization, the critical ranges for the physicochemical parameters were defined and the classes were stratified. The critical ranges of the parameters were established according to Martinez et al. [42], in which from the results of the statistical measurements the critical range (CR) was calculated: $CR = \bar{X} \pm k\bar{\sigma}$, where:

$\bar{X}$ is the average of the parameters;

$\bar{\sigma}$ is the average standard deviation;

k is the correction factor to avoid very broad critical ranges.

The values of k were established in connection with the CV, in the following way:

k = 1,0 for the parameters with CV lower than 20%;

k = 0,8 for the parameters with CV varying from 20 to 40%;

$k = 0,6$ for the parameters with CV varying from 40 a 80%;

$k = 0,4$ for the parameters with CV higher than 80%.

By utilizing the critical ranges of each parameter, the samples were classified.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Physicochemical analyses

The statistical measurements of the results of the physicochemical analyses of “Requeijão do Sertão” are shown in Table I.

Heterogeneity was verified in the physicochemical composition of the 62 samples of “Requeijão do Sertão”.

The acidity, fat, FDM, chlorides and ash contents presented a high variation, shown by the high (20 to 30%) and very high (above 30%) coefficients of variation (CV) [17].

This fact can be explained by the particular empirical manner of fabrication of each producer which aims at attending a specific consumer.

The variation in the acidity occurred due to the lack of standardization in the determination of final stage of acidity elimination. The “Requeijão do Sertão” is fermented naturally and the final stage of coagulation is not controlled by an objective method (pH or percentage of lactic acid). Different coagulation periods of time have resulted in diverse lactose grades transformed into lactic acid and in the acidity developed. The variation of acidity occurred also as a consequence of consecutive washings of the dough after coagulation, with milk and/or water, which may vary from one to three times. Also, the empirical addition of sodium bicarbonate is a common practice.

Table I. Statistical parameters of the physicochemical characteristics of the “Requeijão do Sertão”.

Parameter	n	$\bar{X} \pm \delta$	li	Li	δ^2	CV
pH	62	5,55 $\pm$ 0,38	4,91	6,59	0,14	6,85
TDE (% w/w)	62	56,66 $\pm$ 4,61	43,68	68,53	21,20	8,13
Acidity (%w/w)	62	0,41 $\pm$ 0,23	0,12	1,03	0,05	56,40
Fat (%w/w)	62	24,45 $\pm$ 5,41	10,50	38,00	29,23	22,10
Humidity (%w/w)	62	43,34 $\pm$ 4,60	31,46	56,32	21,20	10,62
FDM (%w/w)	62	42,94 $\pm$ 7,94	21,69	59,50	63,07	18,49
Chlorides (%w/w)	62	1,11 $\pm$ 0,50	0,21	2,36	0,25	45,13
Ash (%w/w)	62	2,51 $\pm$ 0,68	1,05	4,83	0,47	27,26
Protein (%w/w)	62	27,68 $\pm$ 2,98	19,21	33,96	8,91	10,78
A _w	43	0,97 $\pm$ 0,01	0,95	0,99	0,0001	0,95

n= number of samples; $\bar{X}$ = average; δ = average standard deviation; li= inferior limit; Li= superior limit; δ^2 = variance; CV= coefficient of variation; TDE= total dry extract; FDM= fat in dry matter; A_w= water activity.

The average fat content for samples of “Requeijão do Sertão” was 24.45%. The heterogeneity in the fat content resulted from the variation of the quantity of anhydrous fat added during the processing of “Requeijão do Sertão” in accordance with the consumers preference for a more or less fat product. The exudation of the anhydrous fat (very common in the “Requeijão do Sertão”, especially when the cutting is done) occurs due to the low grade of sodium chloride added to the product. According to Gunasekaran et al. and Kindstedt et al. [20, 35] the tendency of the fat globule to desunite as free oil depends on how it is emulsified in the protein content. The high concentration of salt promotes the substitution of the calcium by the sodium in the bond with the

casein, making it highly emulsifying. In this manner, it decreases the tendency of the fat to flow as free oil.

The average levels of moisture and GES were 43.34% and 42.94% respectively. The differences found for the humidity and FDM occurred due to the variations of the unprocessed milk, alterations in the grain sizes of the curd, size and shape of “Requeijão do Sertão” and sodium chloride content. According to Furtado [16], the humidity grade of the cheese significantly influences the texture and taste of the product. This factor is difficult to control in the hand made fabrication.

The high CV found for the analyses of chlorides may be explained by the empirical addition of different quantities of salt to the “Requeijão do Sertão” dough. The concentration of salt causes influence in the quality of “Requeijão do Sertão” through the reduction of the water activity inhibiting the microbial growth [46].

The variation in the ash content was due to the different quantities of sodium chloride added. According to Harbers [21] the ash content in food contains mainly the ions calcium, potassium, sodium, magnesium, iron, copper, cobalt and aluminum; and the anions sulfate, chloride, silicate and phosphate. Figueiredo [14] proved that the increase of fixed mineral residue is directly related to the high proportions of sodium chloride in dairy products.

Considering percentage of protein, the results showed the good yield of “Requeijão do Sertão” (27,68%). The concentration in the cheese can vary from 10 to 40 %, depending on the type. The predominant protein in the cheese is the casein, and the higher its content, the higher the yield is [46].

The average A_w for the “Requeijão do Sertão” samples was of 0,970, within the variation limits for cheese, which varies from 0,999 for fresh cheese to 0,900 for those of prolonged cure [19, 15].

All the variations in the results found are explained by the lack of standardization in the conditions of processing, storage and commercialization. Therefore, the discrepancy in these values may be a hindrance for a better acceptance of the product.

Due to the heterogeneity of the results and in order to increase the flexibility of the diagnosis, the samples were categorized taking into consideration a range and not a sole critical value. The critical ranges of the parameters calculated through the statistical measurements of the physicochemical analyses results of “Requeijão do Sertão” are shown in Table II.

Out of the analysed samples, 64,50% were within a critical range of medium acidity, 22,60% low acidity and, 12,90% high acidity. Regarding the chloride content, 51,62% of the samples were in the medium critical range, 27,41% in the low critical range and 20,97% in the high critical range (Table II).

The classification of “Requeijão do Sertão” according to humidity grade based in the critical range (CR) calculated through the statistical measurements of the analyses physicochemical results is shown in Table III.

The physicochemical parameters and levels of significance of “Requeijão do Sertão” with low, medium and high humidity grades are shown in Table IV.

Table II. Critical ranges low, medium and high for the physicochemical parameters of “Requeijão do Sertão”.

Parameter	Low	Medium	High
pH	< 5,17	5,17 a 5,93	> 5,93
TDE (% w/w)	< 52,05	52,05 a 61,27	> 61,27
Acidity (% w/w)	< 0,27	0,27 a 0,55	> 0,55
Fat (% w/w)	< 20,12	20,12 a 28,78	> 28,78
Humidity (% w/w)	< 38,74	38,74 a 47,94	> 47,94
FDM (% w/w)	< 35,00	35,00 a 50,88	> 50,88
Chlorides (% w/w)	< 0,81	0,81 a 1,41	> 1,41
Ash (% w/w)	< 1,97	1,97 a 3,05	> 3,05
Protein (% w/w)	< 24,70	24,70 a 30,66	> 30,66
A _w	< 0,96	0,96 a 0,98	> 0,98

TDE= total dry extract; FDM= fat in dry matter; A_w= water activity.

Table III. Classification of “Requeijão do Sertão” in accordance with the humidity grade¹.

Classification in accordance with the humidity grade			
	(%)	n	(%)
High (> 47,94)		8	12,90
Medium (38,74 a 47,94)		47	75,81
Low (< 38, 74)		7	11,29

¹ Results of the samples collected in 62 producing units in Guanambi Microrregion, in Bahia, Brazil; n= number of samples; %= percentage.

Table IV. Average, standard deviation, coefficient of variation of the physicochemical parameters and level of significance of “Requeijão do Sertão” with low, medium and high humidity grades.

Parameter	Low		Medium		High		p
	$\bar{X} \pm \delta$	CV	$\bar{X} \pm \delta$	CV	$\bar{X} \pm \delta$	CV	
pH	5,62 ± 0,32	5,67	5,51 ± 0,36	6,60	5,76 ± 0,48	8,40	0,184
Acidity (% w/w)	0,37 ± 0,08	21,46	0,42 ± 0,26	61,67	0,37 ± 0,11	29,36	0,784
Fat (% w/w)	30,96 ± 5,31 ^a	17,15	24,67 ± 4,02 ^b	16,31	17,47 ± 5,06 ^c	28,98	0,000
FDM (% w/w)	47,56 ± 7,78 ^a	16,36	43,50 ± 6,86 ^a	15,77	35,60 ± 10,14 ^b	28,51	0,007
Chlorides (% w/w)	1,09 ± 0,62	56,67	1,08 ± 0,50	46,67	1,26 ± 0,37	29,27	0,000
Ash (% w/w)	2,33 ± 0,51	21,75	2,50 ± 0,71	28,61	2,70 ± 0,64	23,69	0,576
Protein (% w/w)	25,42 ± 4,62	18,17	28,15 ± 2,60	9,24	26,93 ± 2,77	10,27	0,276
A _w	0,974 ± 0,01	0,99	0,975 ± 0,01	1,01	0,977 ± 0,01	0,67	0,775

$\bar{X}$ = average; δ = average standard deviation; CV = coefficient of variation; P = significance level (5%); FDM = fat in dry matter; A_w = water activity. Means in the same row followed by different letters differ at 5% probability by Tukey test.

The majority of the samples were classified in respect of the humidity grade as of medium humidity (Table III). This classification did not present a high variability of the parameters: pH, fat, FDM, protein and water activity (Table IV). There was no significant difference in the values of the parameters found after the classification, in relation to the values previously calculated (Table II). Therefore, these were proposed as standard value ranges. There was no difference between the classes ($p > 0,05$) for the parameters: pH, acidity, ash, protein and A_w (Table IV).

The classification of “Requeijão do Sertão” in accordance with the fat in dry matter based on the critical ranges (CR) calculated through the statistical measurements of the physicochemical analysis is shown in Table V.

Table V. Classification of “Requeijão do Sertão” in accordance with the fat in dry matter ¹.

Classification in accordance with the FDM content			
	(%)	N	(%)
Fat (> 50,88)		11	17,74
Semi fat (35,0 a 50,88)		44	70,97
Non-fat (< 35,0)		7	11,29

¹ Results of samples collected from 62 producing units in Guanambi Microrregion, in Bahia, Brazil; n= number of samples; %= percentage.

The physicochemical parameters and significance levels of the non-fat, semi fat and fat “Requeijão do Sertão” are shown in Table VI.

Table VI. Average, standard deviation, coefficient of variation of the physicochemical parameters and significance level of the non-fat, semi fat and fat “Requeijão do Sertão”.

Parameter	Non-fat		Semi fat		Fat		p
	$\bar{X} \pm \delta$	CV	$\bar{X} \pm \delta$	CV	$\bar{X} \pm \delta$	CV	
pH	5,59 ± 0,40	7,13	5,55 ± 0,37	6,69	5,54 ± 0,44	7,92	0,554
TDE (% w/w)	52,91 ± 4,57 b	8,64	56,65 ± 3,99 ab	7,04	59,08 ± 5,66 a	9,58	0,046
Acidity (% w/w)	0,39 ± 0,13	34,18	0,41 ± 0,22	55,35	0,43 ± 0,31	71,99	0,705
Humidity (% w/w)	47,08 ± 4,57 a	9,71	43,35 ± 3,99 ab	9,21	40,91 ± 5,66 b	13,83	0,046
Chlorides (% w/w)	1,22 ± 0,79	64,34	1,14 ± 0,47	38,22	0,87 ± 0,49	56,58	0,139
Ash (% w/w)	2,81 ± 1,02	36,30	2,52 ± 0,66	26,23	2,24 ± 0,44	19,71	0,471
Protein (% w/w)	30,89 ± 2,50 a	8,09	27,99 ± 2,25 b	8,03	24,41 ± 3,07 c	12,58	0,000
A _w	0,97 ± 0,01	1,49	0,97 ± 0,01	0,88	0,97 ± 0,01	0,80	0,855

$\bar{X}$ = average; δ = average standard deviation; CV = coefficient of variation; P = significance level (5%); TDE = total dry extract; A_w = Water Activity. Means in the same row followed by different letters differ at 5% probability by Tukey test.

With regard to the FDM content, the majority of the samples were classified as semi fat type (Table V). For this type of “Requeijão do Sertão”, no significant variation was presented for the parameters: pH, TDE, humidity, protein and water activity (Table VI). There was no major difference in the parameters values found after the classification, in relation to those calculated previously (Table II). Therefore, these were proposed as standard value ranges. There was no difference between the classes ($p>0,05$) for the parameters: pH, acidity, chlorides, ash and A_w (Table VI).

3.2. Microbiological analyses

The count of coliforms, *Escherichia coli* and *Staphylococcus* in CFU.g⁻¹ in samples of “Requeijão do Sertão” is shown in Table VII.

More than half of the samples were out of the standard established for commercialization (higher than 10² CFU.g⁻¹) in accordance with the RTIQ legislation for the “Requeijão do Sertão” [7] (Table VII). Respectively, the minimum, medium and maximum values of the coliform count in the samples were: 1,0X10¹; 1,8X10⁵; 7,6X10⁶.

The coliform count evaluates the quality of dairy products. The results suggest inadequate production practices and environment contamination [9], indicating that a major part of the samples was produced in unsatisfactory hygiene condition. Confirming the results, the exposure of the product for sale in contaminated places, without protection, was observed during the samples collection.

Table VII. Count of coliforms, *Escherichia coli* and *Staphylococcus* in CFU. g⁻¹ in samples of “Requeijão do Sertão”.

Indicator (CFU.g ⁻¹)	n	%
Count of coliforms		
< 10 ¹	23	37,1
10 ¹ - 10 ²	14	22,6
>10 ²	25	40,3
<i>Escherichia coli</i>		
< 10 ¹	57	91,9
10 ¹ - 10 ²	2	3,3
>10 ²	3	4,8
<i>Staphylococcus aureus</i>		
< 10 ¹	29	46,77
10 ¹ - 10 ³	11	17,74
>10 ³	22	35,48

CFU.g⁻¹= colony forming-units per gram; n= number of samples of “Requeijão do Sertão”; %= percentage.

In three samples of “Requeijão do Sertão” the count of *E. coli* with average of $1,0 \times 10^3$ CFU.g⁻¹ was observed. The presence of the microorganism is utilized as reference which indicates contamination in the production environment. Such contamination may occur through the handling personnel or due to utilization of contaminated water during processing [34, 49]. Since “Requeijão do Sertão” is heated at 80°C for 20 to 30 minutes during the fabrication, the presence of *E. coli* probably occurred due to the contamination after the production process.

In relation to the contamination by *Staphylococcus*, the samples presented minimum, medium and maximum count of: $1,0 \times 10^1$; $4,7 \times 10^6$; $5,4 \times 10^7$; respectively.

The enumeration of thermonuclease-positive *Staphylococcus* was utilized as basis to indicate the existing quantity of coagulase-positive *Staphylococcus*, since these enumerations are considered equivalent [54].

In accordance with the established commercialization standard (higher than $1,0 \times 10^3$ UFC.g⁻¹) [7], 35,48% of the samples were considered improper (Table VII). When above the standard, there is the indication of handling personnel contaminated by this bacterium. Out of the total number of samples, 14 (22,58%) presented counts above $1,0 \times 10^5$ CFU.g⁻¹, with the risk of enterotoxins production [4, 34]. The microorganism growth, with consequent production of enterotoxins, is favored by the storage temperature and the commercialization without refrigeration [22].

None of “Requeijão do Sertão” samples analysed presented contamination by *Salmonella* spp. or *Listeria monocytogenes*. These microorganisms are used as food safety indicators and must be absent from the 25 g of the product analysed [6].

Based on the microbiological results found for coliforms, *Staphylococcus* [7], *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* [6], only 25 (40,3%) of the samples were within standard. The other 37 samples (59,7%) were improper for human consumption for being contaminated.

The microbiota presence in these samples indicates a recontamination of the cheese surface, as result of a non-packing product, the maintenance at room temperature and the place of commercialization. The microbiological

recontamination generates bad aspect and unpleasant taste and aroma, causing economical losses. The consumer, in many cases, has to scrape a big portion of the product surface before using it.

Inadequate conditions in all the fabrication phases and distribution of the product such as: sanity of the herds, milk quality, hygienic-sanitary fabrication conditions, transportation, commercialization and the maintenance temperature of “Requeijão do Sertão” during storage lead to contamination [5]. The high percentage of samples improper for consumption can be explained by the deficiency of these aspects.

The standardization of the product and the elaboration of production technology in accordance with the norms and at the same time preserving the traditional fabrication process is essential so that the product continues to be appreciated by the consumers of the region still, conquer new markets. Traditional products contribute to the survival of the rural communities with few income options imposed by the local geography and preserve their culture and history.

4. CONCLUSIONS

“Requeijão do Sertão” does not meet the microbiological standards of the Technical Regulations for the Fixation of Identification and Quality of “Requeijão do Sertão” and of the ANVISA.

The acidity and the fat content, fat in dry matter, chlorides and ash of “Requeijão do Sertão” are very variable.

For the “Requeijão do Sertão” classified as of medium humidity, it is proposed standard ranges of pH, fat, FDM, protein and water activity respectively of: 5,17 to 5,93; 20,12 to 28,78 % w/w; 35,00 to 50,88 % w/w; 24,70 to 30,66 % w/w; 0,96 to 0,98.

For the “Requeijão do Sertão” classified as semi fat, it is proposed standard ranges of pH, humidity, total dry extract, protein and water activity respectively of: 5,17 to 5,93; 38,74 to 47,94 % w/w; 52,05 to 61,27 % w/w; 24,70 to 30,66 % w/w; 0,96 to 0,98.

5. BIBLIOGRAPHICAL REFERENCES

[1] AOAC, Association of Analytical Communities, Official Methods of Analysis of AOAC Internatinal, Gaithersburg, 1998.

[2] Araújo R.A.B.M., Martins J.M., Pinto M.S., Oliveira N.P., Oliveira R.C., Furtado M.M., Ferreira C.L.L.F., Avaliação microbiológica do queijo Minas artesanal da região de Araxá, Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes 59, pp. 93-96, 2004.

[3] Ardo Y., Blue cheese, in: McSweeney P. L. H. (Ed.), Cheese problems solved , CRC Press, CRC Press, NW, USA, 2007, pp. 284-288.

[4] Bhunia A.K., Foodborne microbial pathogens: Mechanisms and pathogenesis, New York: Springer, 2008.

[5] Brant L.M.F., Fonseca L.M., Silva M.C.C., Avaliação da qualidade microbiológica do queijo-de-minas artesanal do Serro-MG, Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia 9 (2007) 1570-1574.

[6] Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, 2001.

[7] Brasil. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Leite e Produtos Lácteos. Portaria nº 359 de 04 de agosto de 1997. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Requeijão Cremoso ou Requesón. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal, 1997.

[8] Carvalho J.D.G., Viotto W.H., Yos A., The quality of Minas Frescal cheese produced by different technological processes, Food Control 18 (2007) 262-267.

[9] Chambers J. V., The microbiology of raw milk, in: Robinson R.K. (Ed.), Dairy Microbiology Handbook: The microbiology of milk and milk products, 3rd edn., John Wiley and Sons, New York, 2002, pp.39-90.

[10] Costa Neto P.L.O., Estatística, São Paulo: Edgard Blucher. 1999. 264 p.

[11] Dender A. G. F. V., Requeijão: Aspectos Gerais, in: Requeijão Cremoso e Outros Queijos Fundidos: Tecnologia de Fabricação, Controle do Processo e Aspectos de Mercado, São Paulo: Fonte Comunicações e Editora Ltda, 2006, pp. 11-17.

[12] Escudero C. J., Estudos do requeijão do Norte: composição, qualidade e comportamento durante a estocagem, dissertação de mestrado, Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 1979.

[13] FAO, A Tecnologia de Produtos Lácteos tradicional nos países em desenvolvimento, Animal Production and Health, Paper n ° 85, Alimentação e

Agricultura das Nações Unidas, Roma: Food and Agricultural Organization das Nações Unidas, 1990, pp. 333.

[14] Figueiredo E.L., Elaboração e caracterização do “queijo marajó”, tipo creme, de leite de búfala, visando sua padronização, dissertação de mestrado em Ciência Animal, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, Pará, 2006.

[15] Fox P.F., Guinee T.P., Cogan T.M., McSweeney P.L.H., Microbiology of Cheese Ripening, in Fundamentals of cheese science¹. Aspen Publishers, Gaithersburg, MD, 2000. 657p.

[16] Furtado M.M., A arte e a ciência do queijo, São Paulo: Globo, 1990. 297p.

[17] Gomes F.P., Curso de estatística experimental. 14th edn., Piracicaba: ESALQ/USP, 2000. 477p.

[18] 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), Brazilian Journal of Food Technology 6 (2003) 259-265.

[19] Guinee T.P., Fox P.F., Salt in Cheese: Physical, Chemical and Biological Aspects, in: Fox P.F., Guinee T.P., Cogan T.M., McSweeney P.L.H., Fundamentals of cheese science 1. Gaithersburg: Aspen, 2004, pp. 207-259.

[20] Gunasekaran S., Ak M.M., Factors Affecting Functional Properties of Cheese, in: Gunasekaran, S., AK, M.M., Cheese Rheology and Texture, CRC Press, Boca Raton, London, New York, Washington, 2003. cap. 10.

[21] Harbers L.H., Ash Analysis, in: Nieisen, S.S., Food Analysis 9, Purdue University, West Lafayette, Indiana, 1998, pp. 141-150.

[22] Hasalliu R., Beli E., Terpollari J., The influence of storage temperature of cheese on the incidence of *Staphylococcus aureus* in some markets in Albania, *Research Journal Agricultural Science* 41 (2009) 270-273.

[23] Hotta R.M., Oliveira C.A., Cunha Neto O.C., Fernandez A.M., Sobral P.J.A., Franzolin Neto R., Effect of direct acidification and pasteurization of buffalo milk on the quality of Marajoara cheese, *Italian Journal Food Science* 17 (2005) 295-303.

[24] Hotta R.M., Oliveira C.A.F., Franzolin Neto R., Evaluation of experimental procedures for processing Marajoara cheese manufactured from buffalo milk, *Italian Journal Food Science* 17 (2004) 56-64.

[25] Ide L.P.A., Benedet H.D., Contribuição ao conhecimento do queijo colonial produzido na Região Serrana do estado de Santa Catarina, Brasil, *Ciência e Agrotecnologia, Lavras* 25 (2001) 1351-1358.

[26] IDF (International Dairy Federation), Determination of the ash content of processed cheese products, IDF: (IDF Standard 27), Brussels 1964.

[27] Instituto Adolfo Lutz, Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 3. ed., São Paulo: IMESP, 1985.

[28] ISO 3432:2008, Cheese - Determination of fat content - Butyrometer for Van Gulik method, Standard 3432:2008, International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland 2008.

[29] ISO 5534:2004, Cheese and processed cheese - Determination of the total solids content, Standard 5534:2004, International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland 2004.

[30] ISO 5943:2006, Cheese and processed cheese products - Determination of chloride content - Potentiometric titration method, Standard 5943:2006, International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland 2006.

- [31] ISO 6579:2002, Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland 2002.
- [32] ISO 11290-1:1996. Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* - Part 1: Detection method. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland 1996.
- [33] ISO 17837:2008, Processed cheese products - Determination of nitrogen content and crude protein calculation - Kjeldahl method, Standard 17837:2008, International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland 2008.
- [34] Jay J. M., Loessner M. J., Golden D. A., Modern Food Microbiology, 7th edn., Aspen: Publishers, Gaithersburg, MD, 2005.
- [35] Kindstedt P.S., Kieley L.J., Gilmore J.A., Variation in composition and functional properties within brine-salted Mozzarella cheese, *Journal Dairy Science* 75 (1992) 2913-2921.
- [36] Lima C.D.L.C., Lima L.A., Cerqueira M.M.O.P., Ferreira E.G., Rosa C.A., Bactérias do ácido láctico e leveduras associadas com o queijo-de-minas artesanal produzido na região da Serra do Salitre, Minas Gerais, *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 61 (2009) 266-272.
- [37] Lourenço L.F.H., Sousa C.L., Análise microbiológica e teste de aceitação de requeijão marajoara elaborado com leite de búfala, *Higiene Alimentar* 19 (2005) 84-88.
- [38] Machado E.C., Ferreira C.L. L. F., Fonseca L.M., Soares F.M., Pereira Júnior F.N., Características físico-químicas e sensoriais do queijo minas artesanal produzido na região do Serro, Minas Gerais, *Ciências e Tecnologia de Alimentos*, Campinas 24 (2004) 516-521.

- [39] Martins J.M., Pinto M.S., Araújo R.A.B.M., Cunha L.R., Furtado M.M., Ferreira C.L.L.F., Características físico-química dos queijos Minas artesanais produzidos na região de Araxá, Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes 59 (2004), 317-320.
- [40] McSweeney P. L. H., Cheddar cheese, in: McSweeney P. L. H. (Ed.), Cheese problems solved , CRC Press, NW, USA, 2007, pp. 214-229.
- [41] McSweeney P.L.H., Ottogalli G., Fox P.F., Diversity of Cheese Varieties: An Overview, in: Fox P.F., McSweeney P. L. H., Cogan T.M., Guinee T.P. (Eds.), Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology 2, 2nd edn., Chapman and Hall, London, United kingdom, 2004, pp. 20-41.
- [42] Martinez H.E.P., Menezes J.F.S., Souza R.B., Venegas V.H.A., Guimarães P.T.G., Faixas críticas de concentrações de nutrientes e avaliação do estado nutricional de cafeeiros em quatro regiões de Minas Gerais, Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília 38 (2003) 703-713.
- [43] Nassu R.T., Araújo R. S., Borges M. F., Lima J.R., Macêdo B.A., Lima M.H.P., Bastos M.S.R., Diagnóstico das condições de processamento de produtos regionais derivados do leite no Estado do Ceará, Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 1: 28 (2001).
- [44] Nobrega J.E., Martins J.M., Pimentel Filho N.J., Ferreira C.L.L.F., Perfil do fermento endógeno utilizado na produção de queijo Minas artesanal na Serra da Canastra, Minas Gerais, Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes 61 (2006) 427-429.
- [45] Nogueira M.C.L., Lubachevsky G., Rankinb S.A., A study of the volatile composition of Minas cheese, Food Science Technology 38 (2005) 555-563.

- [46] O'Connor T.P., O'Brien N.M., Nutritional Aspects of Cheese, in: Fox P.F., Guinee T.P., Cogan T.M., McSweeney P.L.H., Fundamentals of cheese science, Gaithersburg: Aspen, Vol. 1, 2004, pp. 504-512.
- [47] Pinto M. S., Carvalho A. F., Pires A. C. S., Paula J. C. J., Sobral D., Magalhães F. A. R., Survival of *Listeria innocua* in Minas Traditional Serro cheese during ripening, Food Control 20 (2009) 1167-1170.
- [48] Roos T.b., Scheid Filho V. B., Timm C.D., Oliveira D.S., Avaliação microbiológica de queijo colonial produzido na cidade de Três Passos, Higiene Alimentar 19, (2005) 94-96.
- [49] Ryser E. T., Public Health Concerns, in: Marth E.H., Steele J.L. (Eds.), Applied Dairy Microbiology, Marcel Dekker, Inc., New York, 2001, pp. 397-545.
- [50] SAS - Statistical Analysis System, SAS User's guide statistics, 5nd edn., NC: SAS Institute Inc., 2001.
- [51] Souza C.F.V, Rosa T.D., Ayub M.A.Z., Change in the microbiological and physicochemical characteristics of *Serrano* cheese during manufacture and ripening, Brazilian Journal Microbiology 34 (2003) 260-266.
- [52] Spinnler H.E., Leclercq-Perlat M.N., White-mould cheese, in: McSweeney P. L. H. (Ed.), Cheese problems solved , CRC Press, NW, USA, 2007, pp. 268-283.
- [53] Wehr H. M., Frank J. F., Standard Methods for the Examination of Dairy Products, in: American Public Health Association. 17nd edn., Washington, 2004.
- [54] Viçosa G.N., Moraes P.M., Yamazi A.K., Nero L.A., Enumeration of coagulase and thermonuclease-positive *Staphylococcus* spp. in raw milk and fresh soft cheese: An evaluation of Baird-Parker agar, Rabbit Plasma

Fibrinogen agar and the Petrifilm™ Staph Express count system, Food Microbiology, (2010) 1-6.

[55] Vieira L.C., Lourenço Junior J.B., Tecnologia de Fabricação do Requeijão Integral de Corte, Comunicado Técnico 124. Belém, PA (2004).

Capítulo II - DIAGNÓSTICO DO PROCESSAMENTO E COMERCIALIZAÇÃO DO REQUEIJÃO DO SERTÃO PRODUZIDO NA MICRORREGIÃO DE GUANAMBI, SUDOESTE BAIANO, BRASIL

RESUMO

No presente capítulo foi feito o diagnóstico da cadeia produtiva do Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia. Para isto, foi aplicado um questionário entre abril a junho de 2009. Foram entrevistados 225 produtores, dentre os quais, 75 produtores de leite, 75 produtores de requeijão e 75 comerciantes de requeijão. Os dados da pesquisa revelaram que tanto os produtores de leite e requeijão, quanto os comerciantes, ainda não adotam técnicas adequadas aos produtos e processos. Essas condições são apontadas como necessárias para a minimização ou prevenção da contaminação do requeijão e, conseqüentemente, obtenção de um produto seguro e de qualidade.

Palavras-chave: diagnóstico, questionário, requeijão, processo, comercialização.

1. INTRODUÇÃO

O Requeijão do Sertão é um dos produtos regionais, derivados do leite, mais consumidos na Região Nordeste do Brasil. Sua fabricação e comercialização participam, consideravelmente, da economia informal da região. Sendo assim, o produto possui extrema significância na renda de pequenos produtores de leite sem acesso às usinas de beneficiamento.

A quantificação da produção artesanal não consta em estatísticas oficiais, no entanto, é de conhecimento empírico a existência de numerosas

unidades de produção caseira e de fazendas produtoras. Os requeijões fabricados na Microrregião de Guanambi têm sua origem ligada à fabricação artesanal e não contam com tecnologias apropriadas.

Neste sentido, torna-se imprescindível a realização de levantamentos e análises de informações relativas às técnicas de processamento, condições higiênico-sanitárias de fabricação e comercialização do produto.

A finalidade de tais ações é fornecer subsídios para a detecção de pontos críticos do processamento e apontar diretrizes para a capacitação e treinamento de mão de obra. Assim, conseguir-se-á a fabricação de produtos de boa qualidade e competitivos no mercado, sem descaracterizar o produto tradicional.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Produção de leite

A deterioração dos alimentos é um problema que gera prejuízos econômicos em níveis mundiais. Por meio da atividade microbiana, aproximadamente, um quarto da oferta mundial de alimentos é perdida (Huis, 1998). Neste contexto, o leite é um alimento rico em nutrientes e um excelente meio de cultura para vários microrganismos (Ruegg, 2003; Rajagopal et al., 2005; Fox, 2009). Por tal razão, é facilmente contaminado, caso não sejam considerados os devidos cuidados.

O leite é um material biológico extremamente complexo, com vários níveis de grupos de constituintes de importância nutricional e tecnológica. É também um sistema dinâmico e extremamente sensível a mudanças nas condições ambientais, como por exemplo, temperatura e pH. Alterações devido à manipulação destes parâmetros têm sido exploradas durante séculos com a finalidade de produzir grande variedade de produtos lácteos (Huppertz & Kelly, 2009) entre os quais bebidas lácteas, queijo, manteiga, leite em pó, leite concentrado, produtos lácteos fermentados, sendo que alguns destes produtos apresentam grande diversidade, como o grupo dos queijos com mais de 1.400 tipos (Fox, 2009).

A qualidade e a segurança do leite e dos produtos lácteos estão diretamente relacionadas com a matéria-prima e seu grau de contaminação por microrganismos e resíduos químicos e físicos (Murphy & Boor, 2000; Vissers & Driehuis, 2009).

A produção de leite de alta qualidade e baixa contagem microbiológica tem início na unidade produtiva e envolve vários fatores relacionados com os animais, ambiente, higiene e equipamentos (Elmoslemany et al., 2009). As principais fontes de contaminação são provenientes do ar, do exterior do úbere, dos equipamentos de ordenha e dos tanques de armazenamento (Bramley & McKinnon, 1990; Murphy & Boor, 2000; Coorevits et al., 2008; Elmoslemany et al., 2009). A falta de instalações de refrigeração, o meio de transporte inadequado (Murphy & Boor, 2000; Asaah et al., 2007; Elmoslemany et al., 2009) e a água usada na limpeza dos equipamentos de ordenha (Bramley & McKinnon, 1990; Elmoslemany et al., 2009) também contribuem para a contaminação. Muitas vezes, a presença de microrganismos no leite surge como um dos principais problemas de saúde pública.

Nero et al. (2009) estabeleceram uma relação entre práticas higiênicas de ordenha e a qualidade microbiológica do leite. Os autores verificaram como reflexo destas práticas, baixas contagens de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrótrófos. Observaram ainda, que a refrigeração representa uma importante ferramenta para manter a qualidade do leite.

Nos mercados, nacional e internacional, a produção de alimentos é influenciada, constantemente, pelos reflexos da percepção dos consumidores. É crescente a demanda por alimentos de alta qualidade, seguros e livres de resíduos (Santos, 2007). Neste contexto, a segurança dos produtos lácteos pode ser reforçada por meio da adoção de um conjunto de práticas de gestão (Ruegg, 2003), entre as quais a conscientização dos agricultores em relação às práticas de higiene (Ruegg, 2003; Vissers & Driehuis, 2009).

2.2. Produção de queijos artesanais

Na Europa (França, Itália e Suíça, principalmente), são produzidos, anualmente, cerca de 700 mil toneladas de queijos fabricados a partir de leite cru e de maneira artesanal. Isto representa cerca de 10% da produção total de queijo da União Europeia e Suíça, apresentando grande importância social e

econômica em vários países europeus. Os queijos destes países possuem muitos anos de tradição. São produtos locais importantes para a evolução das comunidades rurais (Beuvier & Buchin, 2004).

No Brasil, segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Queijo (ABIQ), o mercado informal de produção de queijos representa 40% do total. A produção informal, no ano de 2006, foi de 380 mil toneladas (SEBRAE, 2008). Segundo Ide & Benedet (2001); Nassu et al. (2001); Guerra & Guerra (2003); Nassu et al. (2003); Carvalho et al. (2005); Carvalho (2007); Brant et al. (2007); Bruno & Gasparin (2009); Zegarra et al. (2009) existe a preocupação na preservação dos queijos artesanais, pois muitos deles são referências culinárias regionais e representam importante fonte de renda para o pequeno produtor.

A produção de queijos artesanais na região Nordeste do Brasil existe há mais de 150 anos e muitas propriedades ainda mantêm um sistema tradicional de produção (SEBRAE, 2008).

Os queijos são, em geral, produtos muito manipulados e, por este motivo, passíveis de contaminação, especialmente de origem microbiológica. Estas condições podem ser agravadas quando se processa o queijo com leite cru e sem o emprego de boas práticas produtivas e de tecnologia adequada (Pinto et al., 2009).

Trabalhos científicos, avaliando os queijos artesanais brasileiros, têm demonstrado diversos problemas relacionados à qualidade microbiológica e físico-química dos mesmos (Ide & Benedet, 2001; Feitosa et al., 2003; Nassu et al., 2003; Machado et al., 2004; Duarte et al., 2005; Borelli et al., 2006; Brant et al., 2007; Rossi et al., 2007; Zaffari et al., 2007; Santana et al., 2008; Pereira et al., 2008; Diniz et al., 2009; Lima et al., 2009; Pinto et al., 2009; Komatsu et al., 2010). As falhas na aplicação de boas práticas agropecuárias e de fabricação, a utilização de matéria-prima de baixa qualidade e a produção sem condições higiênico-sanitárias apropriadas são alguns dos fatores que comprometem a qualidade dos queijos artesanais.

2.3. Produção de Requeijão do Sertão

No Estado da Bahia, a produção de requeijão, a partir de leite cru, é uma atividade tradicional em vários municípios, apresentando importância para a

economia e identidade sócio-cultural da região, além de ser uma das principais práticas geradoras de renda para pequenos produtores de leite.

O requeijão é um queijo tipicamente brasileiro e de fabricação caseira. É uma forma de aproveitamento do leite coagulado devido à ação da microbiota láctica autóctone. Historicamente, trata-se de um produto originário de antigas regiões produtoras de creme para a fabricação de manteiga, que era o derivado mais valorizado do leite. Nessas regiões, o leite desnatado, considerado um subproduto, era deixado coagular, espontaneamente, para obtenção da massa que era, então, transformada em requeijão, e este era consumido na própria unidade produtora (Dender, 2006).

O Requeijão do Sertão produzido artesanalmente é elaborado a partir de leite cru integral com fermentação natural, sem adição de fermento láctico e nem de coalho. O sabor (característica essencial) é condicionado às variações naturais do leite, em função da microbiota autóctone, raça e alimentação do gado, região e clima. A gordura, proveniente de manteiga derretida, é adicionada à massa na etapa final de fabricação.

Este produto possui elevada resistência quanto à conservação, devido ao binômio tempo/temperatura empregado na fabricação (80 °C por 15 a 20 minutos) e à baixa atividade de água. Possui formato cilíndrico ou retangular e peso variável entre 1 e 15 kg. O corte do requeijão é realizado conforme o desejo do consumidor. Sua cor varia do branco-palha ao caramelo. O produto possui casca rígida e oleosa, consistência semidura à seca, textura macia, massa fechada ou com pequenas olhaduras mecânicas e grande presença de manteiga quando se efetua o corte.

A comercialização do Requeijão do Sertão é realizada à temperatura ambiente e seu consumo é imediato, não havendo armazenagem refrigerada.

O produto tem participação considerável na economia da microrregião, fazendo parte da renda dos produtores de leite, principalmente, daqueles que não têm acesso às usinas de beneficiamento. Geralmente, os fabricantes de requeijão não são necessariamente produtores de leite, assim, dependem diretamente do fornecimento de terceiros (Nassu et al., 2001; Nassu et al., 2003). Além disto, estes não utilizam tecnologias apropriadas de produção.

Neste contexto, verifica-se uma necessidade de aperfeiçoar o processo de fabricação do Requeijão do Sertão para melhorar a qualidade do produto,

sem promover a sua descaracterização, pois o mesmo, obtido tradicionalmente, é possuidor de grande popularidade (Nassu et al., 2003).

O objetivo do trabalho, portanto, foi diagnosticar e caracterizar a cadeia produtiva do Requeijão do Sertão em unidades de produção familiar, nos 18 municípios da Microrregião de Guanambi, Bahia, identificando os pontos de contaminação e proliferação microbiana.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Amostragem

O estudo foi realizado no período de abril a junho de 2009, em feiras livres, mercados, padarias e unidades produtoras de requeijão e envolveu os 18 municípios da Microrregião de Guanambi, Sudoeste da Bahia, Brasil. A microrregião pesquisada abrange os municípios de Guanambi, Caetité, Pindaí, Candiba, Urandi, Palmas de Monte Alto, Iuiú, Malhada, Sebastião Laranjeiras, Igaporã, Ibiassucê, Jacaraci, Mortugaba, Licínio de Almeida, Caculé, Lagoa Real, Matina e Riacho de Santana (Figura 1).

Em relação aos procedimentos, foram ministrados três tipos de questionários estruturados aplicados pessoalmente, um para cada segmento da cadeia produtiva (produção de leite, fabricação e comercialização do requeijão), perfazendo um total de 225. Os questionários foram aplicados nos diferentes elos da cadeia com o intuito de se obter uma boa representatividade de cada um.

3.2. Diagnóstico

O diagnóstico sócio-econômico e cultural da cadeia produtiva do Requeijão do Sertão foi realizado com produtores de leite e de requeijão e com comerciantes, por meio da aplicação de questionários individuais, que foram respondidos nas propriedades produtivas, feiras livres, mercados e padarias. A realização do diagnóstico objetivou a obtenção do maior número de informações possíveis do processo produtivo e de comercialização do requeijão.

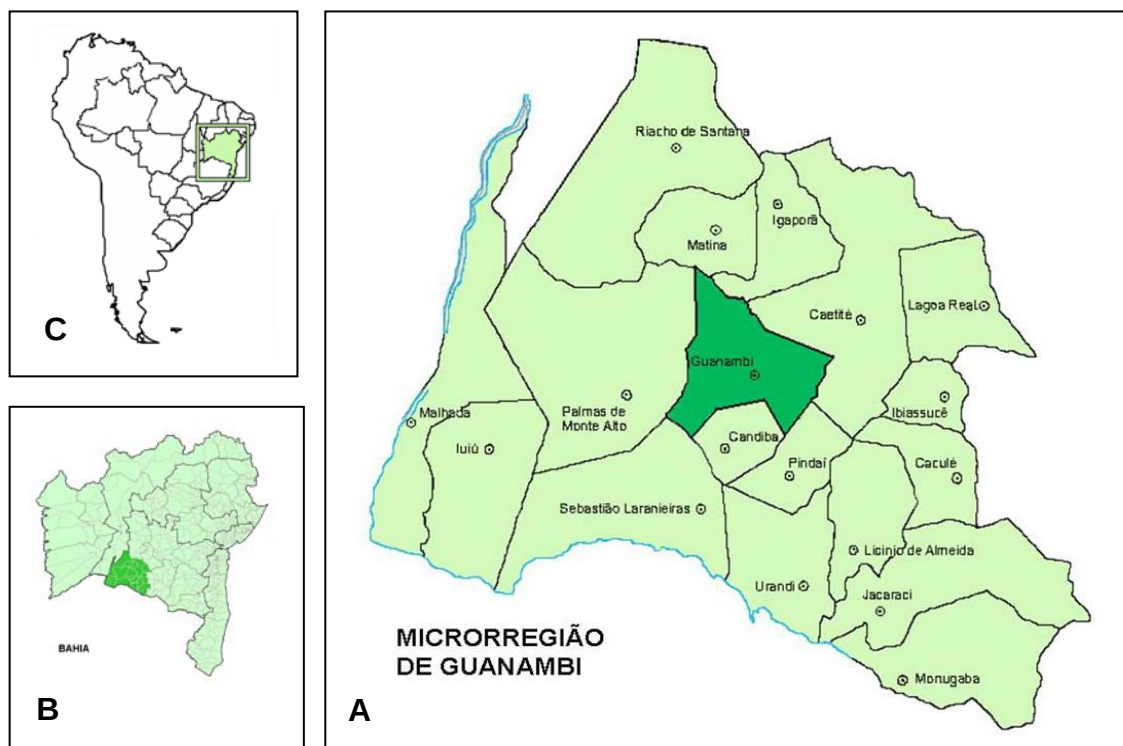


Figura 1. Microrregião de Guanambi com detalhe dos 18 municípios de coleta das amostras de Requeijão do Sertão (A). Localização da microrregião no Estado da Bahia (B) e o estado no Brasil (C).

Foram elaborados previamente três questionários, divididos em tópicos (Anexos A, B e C). O questionário para o produtor de leite contou com 20 itens e abordou temas relativos à propriedade rural, rebanho leiteiro, conhecimento técnico para a obtenção de leite com qualidade como manejo, instalações, edificações, utilização de Boas Práticas Agropecuárias, origem da água para os animais e para o uso na obtenção do leite entre outros.

Para o produtor de requeijão (18 itens) e comerciante (20 itens) o questionário enfocou o envolvimento da família rural na produção do requeijão, renda relacionada com o produto, destino do produto, forma de venda, local de comercialização, cursos de qualificação, instalações do local de fabricação, processo, utilização de Boas Práticas de Fabricação, utensílios e equipamentos utilizados na fabricação dos requeijões, embalagem, temperatura de armazenamento, comercialização, origem da água para consumo humano e para a produção e limpeza do local.

O preenchimento dos questionários foi feito por meio das respostas dos segmentos nos locais pesquisados. As opções de respostas eram fornecidas aos pesquisados que optavam pela que melhor atendia ao item observado.

3.3. Análise dos dados

Os dados provenientes dos 225 entrevistados foram tabulados, transformados em valores percentuais e foram construídos tabelas e histogramas, com o auxílio do programa *Microsoft Office Excel® 2003*, para auxiliar na interpretação dos dados obtidos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O diagnóstico permitiu o conhecimento da cadeia produtiva do Requeijão do Sertão fabricado de maneira artesanal na Microrregião de Guanambi, Bahia, e também dos fatores humanos e tecnológicos envolvidos no processo.

4.1. Produtor de leite

Durante três meses, o trabalho de pesquisa de campo desenvolvido junto ao produtor de leite na microrregião, levantou dados referentes às características gerais, gerenciais e tecnológicas. A pesquisa mostrou dados importantes que podem ajudar nas tomadas de decisões quanto aos investimentos no setor, ou mesmo na elaboração de projetos para o segmento de leite.

4.1.1. Informações gerais

Distância da propriedade em relação ao município

Uma das variáveis analisadas foi a distância das unidades produtoras de leite ao município sede, ou seja, o local de comercialização do produto. Os resultados encontram-se na Tabela 1.

Das propriedades avaliadas, 89,3% estão localizadas até 50 km da sede do município e 10,7% ficam mais distantes. Os municípios pesquisados, geralmente, têm em torno de 50 km de raio como território.

Tabela 1. Distância das propriedades produtoras de leite em relação ao município sede em quilômetros (km) da Microrregião de Guanambi, Bahia.

Distância do município sede (km)	Nº de produtores	(%)
Até 20	37	49,3
De 21 a 50	30	40,0
De 51 a 100	7	9,3
Mais que 100	1	1,4
Total	75	100,0

A maioria dos produtores não entrega sua produção nas usinas ou em locais para a comercialização, mesmo que a infraestrutura, como estradas, sejam razoáveis. Eles fazem a opção de beneficiar o leite, por verem nisto, mais uma fonte de renda.

Área das propriedades produtoras de leite

Outra variável analisada junto aos produtores de leite se refere ao tamanho das unidades produtoras. Os resultados encontram-se listados na Tabela 2.

Tabela 2. Tamanho (hectare, ha) das propriedades produtoras de leite da Microrregião de Guanambi, Bahia.

Área (ha)	Nº de produtores	(%)
< 20	20	27
entre 21 a 50	26	35
entre 51 a 100	22	29
>100	7	9
Total	75	100

Grande parte das propriedades possui uma área de até 50 ha (62%), o que caracteriza uma prevalência na região de pequenas propriedades. Apenas 9% da região pesquisada possuem área superior a 100 ha. Na microrregião, a produção de leite é a atividade principal de pequenas propriedades.

A extensão das propriedades no estado da Bahia varia em função da localização. Na Microrregião de Itapetinga, 87,86% dos produtores de leite, possuem áreas acima de 100 ha, mas com menor densidade demográfica devido às maiores extensão das propriedades (Ferreira et al., 2005). No Sul da Bahia, Santos et al. (2009) mostraram que as áreas utilizadas pela pecuária leiteira tinham em média de 27,92 ha.

4.1.2. Dados de produção de leite

A produção de leite é uma atividade extremamente importante no desenvolvimento sócio-econômico dos municípios por ser menos vulnerável à seca, quando comparada com outras explorações agrícolas, e se constitui num dos principais fatores de fixação do homem no campo e de geração de emprego e renda durante o ano todo (Dorea et al., 2003; Ferreira, 2009).

Produção diária de leite

O estudo mostra como ocorre a produção de leite na microrregião pesquisada. Além da produção de leite diária ($L\ dia^{-1}$), foram levantados dados referentes ao número de animais das propriedades e número de animais em lactação (Figura 2).

Ao se analisar a Figura 2, verifica-se a predominância de pequenos produtores na região pesquisada, com uma produção de leite média diária de até $50\ L\ dia^{-1}$ (82% das propriedades), um baixo número de animais criados (de 10 a 30; 57% das propriedades) e baixo número de vacas em lactação (até 30 animais; 95% das propriedades).

A produção média de leite na microrregião pesquisada é de $1,6\ L\ vaca^{-1}\ dia^{-1}$. O estado da Bahia produz em média $1,55\ L\ vaca^{-1}\ dia^{-1}$, a Região Nordeste $2,2\ L\ vaca^{-1}\ dia^{-1}$, a Região Sudeste $3,85\ L\ vaca^{-1}\ dia^{-1}$ e o Brasil $3,6\ L\ vaca^{-1}\ dia^{-1}$ (IBGE, 2009). Quando comparado com o estado da Bahia, a Microrregião de Guanambi está um pouco acima da média. Mas, se comparado com produção brasileira, esta se encontra em torno de 46% da média, o que pode ser considerada baixa. Alguns fatores podem influenciar esta baixa produção como rebanho de qualidade inferior e atividade pouco tradicional na microrregião.

Os dados referentes ao rebanho mostraram a predominância de animais cruzados ou mestiços (51%), principalmente com algum grau de sangue da raça Holandesa. Vacas mestiças possuem menor produtividade quando comparadas a vacas da raça Holandesa, porém, são adaptadas à produção de leite, nas condições de manejo e alimentação da região estudada (Sá & Sá, 2007).

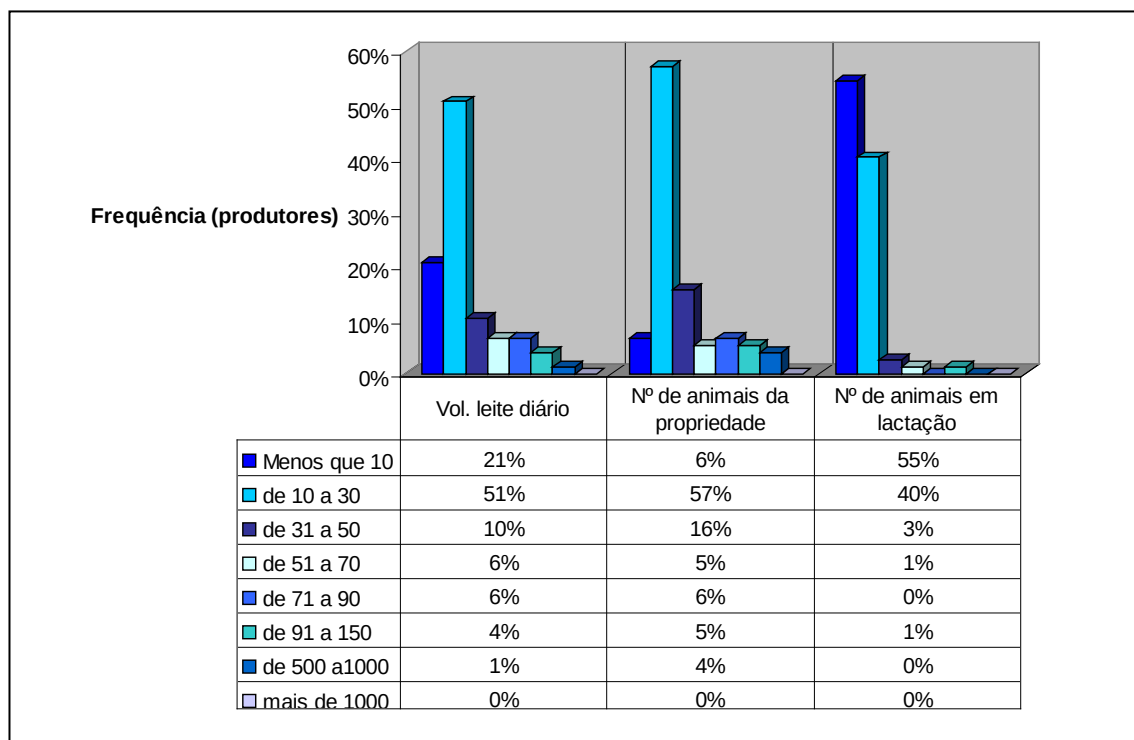


Figura 2. Produção de leite (L), número total de animais e número de vacas em lactação em propriedades rurais da Microrregião de Guanambi, Bahia.

Para agravar a situação, o Município de Guanambi, por pertencer ao Polígono das Secas (Ministério da Integração, 2005), possui uma distribuição irregular das chuvas, com um período de estiagem relativamente grande (sete meses), o que dificulta a produção de forragem. Segundo Moreira et al. (2007) e Ferreira et al. (2009), a alimentação inadequada leva à baixa produtividade em animais de bom potencial produtivo.

Ordenha

O tipo de ordenha realizada pelos produtores da microrregião estudada mostra o nível de diferença tecnológica dos mesmos. Dos pesquisados, 96% adotam a ordenha manual, sendo que 99% destes realizam a ordenha com o

bezerro ao pé. Os 4% restantes adotam a ordenha mecânica, sendo 67% no sistema circuito semi fechado (balde-ao-pé ou similar).

Entre os produtores pesquisados, predomina a prática de se realizar somente uma ordenha por dia (91%), a qual é adotada em rebanhos de baixo potencial leiteiro.

A ordenha manual, e realizada uma vez ao dia, se justifica para rebanhos bastante reduzidos e com baixa produção, e identifica a realidade da produção de leite na Microrregião de Guanambi. O investimento em sistemas de ordenha mecânica, só é viável em criações nas quais o número de vacas a serem ordenhadas diariamente é elevado e o processo manual necessitaria de grande mão-de-obra, e geralmente é utilizado para produções de leite acima de 250 L dia⁻¹ (Bergamaschi, 2011).

Reis et al. (2004) afirmam que a obtenção de leite de boa qualidade pode ser atingida por ordenha manual ou mecânica. Os autores destacam que o mais importante é a condução do sistema de ordenha como um todo.

Práticas de higiene

Em todo o ambiente da propriedade rural são encontradas bactérias e outros microrganismos que causam doença e/ou afetam a qualidade do leite e de outros alimentos. Entretanto, existem medidas que permitem reduzir essa contaminação a patamares que tornam os alimentos seguros para o consumo (Brito et al., 2006).

Essas medidas estão basicamente relacionadas com o sistema de produção, como saúde dos animais, boas práticas de higiene na ordenha, higiene do ambiente (Murphy & Boor, 2000; Brito et al., 2006; Silva Netto et al., 2006; Santos, 2007; Zafalon et al., 2008; Vissers & Driehuis, 2009).

A utilização das boas práticas de higiene adotadas pelos produtores pesquisados é mostrada na Tabela 3.

É possível observar que as práticas mais comuns adotadas pelos produtores são: lavar as mãos antes de ordenhar (28,4%) e lavar (23,6%) e secar as tetas (21,2%). Contudo, sabe-se que somente estas medidas não garantem a higienização adequada e a segurança do produto. Muitas outras práticas de manejo de ordenha baratas, fáceis de serem executadas e

acessíveis a qualquer produtor, podem garantir a melhoria da qualidade do leite, como por exemplo, lavar as mãos antes de ordenhar.

Tabela 3. Práticas de higiene adotadas pelos produtores de leite da Microrregião de Guanambi, Bahia.

Práticas de higiene	% produtores
Lavar as mãos antes de ordenhar	28,4%
Uso de toca ou boné durante a ordenha	14,8%
Lavar as tetas da vaca	23,6%
Secar as tetas da vaca	21,2%
Uso de caneca de fundo preto	2,0%
Pré-dipping	1,6%
Pós-dipping	0,8%
Despreza os 3 primeiros jatos	7,6%
Total	100,0%

A lavagem e desinfecção correta das mãos, embora não garanta que as mesmas fiquem livres de microrganismos, é o primeiro requisito da higiene pessoal para reduzir a população bacteriana (Almeida et al., 1995; Cramer, 2006; Millezi, et al., 2007; Kochanski et al., 2009). No entanto, essa prática, simples e eficaz, é uma das mais difíceis de ser realizada por parte dos manipuladores de alimentos (Almeida et al., 1995).

Filtragem do leite

Após a ordenha, 95% dos produtores filtram o leite. Destes, 42% em tecido de algodão, 30% em tecido sintético, 27% em tela plástica e 1% em tela metálica. O leite obtido é acondicionado em vasilhames construídos com materiais variados, com predominância do plástico (66%) e do estanhado (34%). Os vasilhames plásticos não são os mais indicados quando se pretende obter um leite de qualidade, devido à sua difícil higienização e facilidade de formação de biofilmes.

Infraestrutura

Dos produtores pesquisados, 94% utilizam o curral para ordenhar as vacas, onde 65% destas instalações não possuem área coberta e 84% não têm piso concretado.

Outros trabalhos também mostram a utilização do curral de chão batido pelos produtores de leite para realizar a ordenha. Em 56,1% das propriedades da região do agreste do estado de Pernambuco estudadas por Monteiro et al. (2007), e 88,6% da Região Tocantina e Médio Mearima, São Luis, Maranhão, (SEBRAE, 2003).

Esses resultados são significativos, uma vez que reduzem as condições básicas necessárias para a produção de leite de qualidade pelos produtores da região.

A existência de infraestrutura apropriada para realização das ordenhas constitui-se um fator importante para a produção de leite de qualidade, uma vez que os maiores riscos de contaminação estão presentes no momento da ordenha dos animais (Fonseca & Santos, 2000; Dorea et al., 2003; Brito et al., 2006).

Armazenamento do leite

Do total dos entrevistados, 14% realizam o resfriamento do leite na propriedade. Quanto à forma de resfriamento, vale destacar que os maiores produtores o realizam em tanques de expansão individual (9,1%). Os menores produtores utilizam tanques de expansão comunitários (36,4%), geladeira (27,3%), freezer (18,2%) e tanque de imersão (9,1%), como é mostrado na Tabela 4.

Vale lembrar que a utilização de tanque de expansão comunitário exige um trabalho junto aos produtores, isso porque o leite de apenas um produtor pode inutilizar o de todos os outros que armazenam o leite em um mesmo tanque (Brito et al., 2009).

Em uma situação de temperaturas elevadas, como ocorre na Microrregião de Guanambi, onde as temperaturas médias atingem 26°C (Donato, 2004), a conservação do leite depende, fundamentalmente, do resfriamento logo após a ordenha.

Tabela 4. Produção diária de leite e equipamentos utilizados na refrigeração pelos produtores de leite da Microrregião de Guanambi, Bahia.

Volume de leite diário	Equipamento				
	Freezer	Geladeira	Tanque de imersão	Tanque de expansão	Tanque de expansão comunitário
Menos de 20 litros	—	27,3%	—	—	—
De 20 a 50 litros	9,1%	—	9,1%	—	18,2%
De 51 a 80 litros	—	—	—	—	9,1%
De 81 a 100 litros	—	—	—	—	—
De 101 a 200 litros	9,1%	—	—	—	9,1%
De 201 a 400 litros	—	—	—	—	—
De 401 a 800 litros	—	—	—	9,1%	—

Neste sentido, o fato de que 86% dos produtores não resfriam o leite nas fazendas, indica que há um longo caminho a ser percorrido rumo à produção de leite de qualidade.

Distribuição do leite

O leite cru poder veicular inúmeros microrganismos patogênicos ao homem (Touch & Deeth, 2009) e sua comercialização tem proibição legal imposta no Brasil desde 1952 (Brasil, 1952; Brasil, 1969).

A venda do leite *in natura*, diretamente para o consumo, pelos produtores pesquisados representa 32% da produção. Os 68% restantes são destinados ao uso próprio, também *in natura*, e para a fabricação de derivados.

A comercialização de leite na forma *in natura*, diretamente ao consumidor final, reflete o elevado grau de informalidade da cadeia produtiva do leite da microrregião em estudo.

Este tipo de comercialização está associado, principalmente, aos aspectos culturais de consumo de leite pela população regional, à reduzida presença de usinas ou de mini-usinas de processamento de leite na região e também à falta de fiscalização sanitária adequada junto ao mercado.

Sanidade do rebanho

A vacinação do rebanho é feita por 100% dos produtores que participaram da pesquisa (febre aftosa - 100%, brucelose - 95%, raiva - 91%).

Um dos fundamentos das boas práticas de produção de leite é a garantia da sanidade dos animais, que pode ser conseguida com um programa de controle sanitário. Tal programa deve ser implantado em todos os rebanhos, visando ao controle e prevenção de doenças (Santos, 2007), o que inclui vacinações periódicas e controle de parasitas (Santos, 2007a).

Mastite é a inflamação da glândula mamária, que é causada por microrganismos, tais como bactérias e fungos. As bactérias são os principais agentes etiológicos. No Brasil, estimativas apontam que em rebanhos que não adotam medidas de controle, cerca de 20% a 38% das vacas encontram-se infectadas com a doença (Fonseca & Santos, 2000).

As vacas com mastite são tratadas por 73% dos produtores pesquisados, destes 54% separam o leite, 21% não ordenham as vacas com úbere doente, 18% deixam o bezerro mamar.

Deve-se enfatizar que qualquer antibiótico utilizado em vacas em lactação, por qualquer via de administração, pode resultar em resíduos no leite. O descarte do leite deve ser realizado durante o período de carência indicado para cada medicamento utilizado, sendo recomendado o descarte total do leite de animais em tratamento (Fonseca & Santos, 2000).

4.2. Produtor de requeijão

4.2.1. Informações gerais

Distância da propriedade em relação ao município sede

As distâncias entre as unidades produtoras de requeijão e o centro do município sede encontram-se ilustradas na Figura 3.

No total de 93,3% das propriedades avaliadas estão localizadas até 20 km da sede do município e 6,6% ficam mais distantes. Esta distância contribui para que os produtores escoem seu produto nas 48 horas após a fabricação, pois os consumidores de requeijão têm a tradição de consumi-lo fresco.

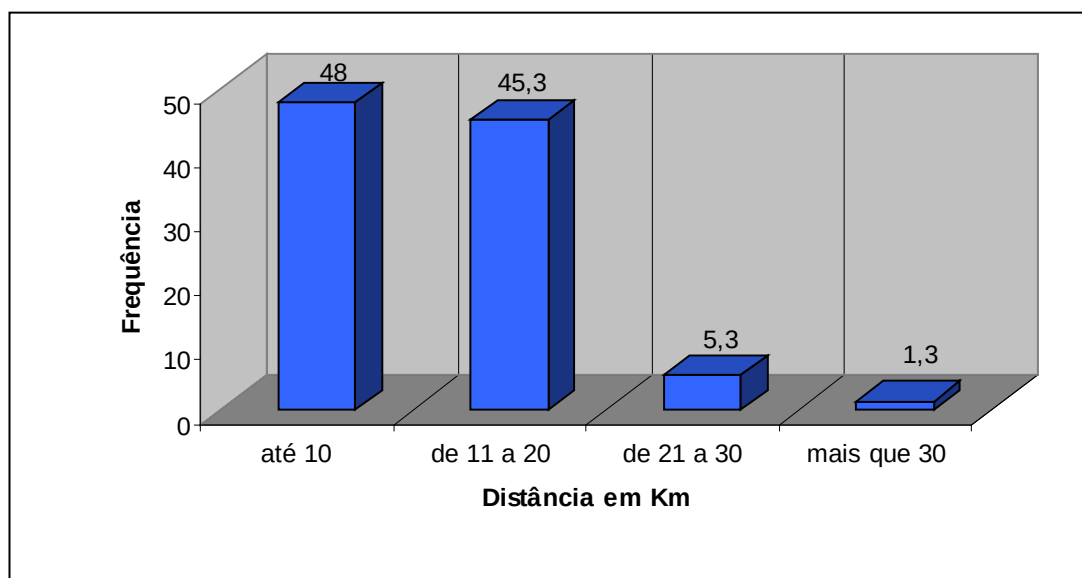


Figura 3. Distâncias das propriedades produtoras de Requeijão do Sertão em relação ao município sede em quilômetros (km) da Microrregião de Guanambi, Bahia.

Mão de obra

A mão de obra familiar utilizada na produção de requeijão totaliza 98% (produtor, mãe, esposa e filhos) e o restante (2%) advém de contratados, caracterizando o processo em agroindústria familiar (Figura 4). A predominância de mão de obra permanente familiar confirma uma economia de subsistência.

A frequência da participação dos filhos na atividade de produção de requeijão é baixa (5%). Isto colabora na dificuldade da sucessão na produção e é uma das causas da diminuição de produtores de requeijão na microrregião, nas últimas décadas.

Fonte de renda

Em relação às fontes de renda, 91% dos produtores de requeijão e suas famílias têm outra renda, além da venda do requeijão como leite, gado, verduras e doces. 9% deles dependem, exclusivamente, da venda dos requeijões.

Dos 9% de produtores, que têm o requeijão como única fonte de renda, 92% são de familiares - casal e filhos (com família) - e 8% são empregados, mostrando que a atividade emprega muito pouco.

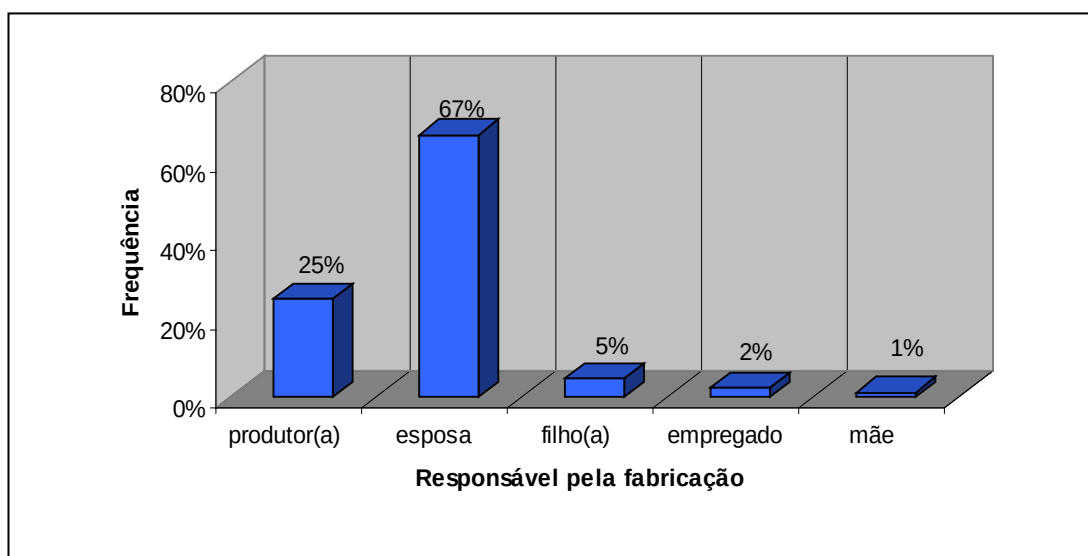


Figura 4. Responsável pelo processo de fabricação do Requeijão do Sertão da Microrregião de Guanambi, Bahia.

Tempo que exercem a atividade

O tempo de experiência dos produtores pesquisados, na arte de produzir requeijão de maneira artesanal, encontra-se ilustrado na Figura 5.

Verificou-se que 51% dos produtores rurais estão na atividade há mais de 10 anos. Ao mesmo tempo, detectou-se que novos produtores (4%) estão iniciando na atividade com menos de 1 ano de experiência, além de outros que estão na atividade de 1 a 5 anos (25%) e de 5 a 10 anos (20%).

Dos produtores entrevistados, 74% afirmaram ter aprendido a fazer requeijão com a mãe, 9% com a avó e 17% com amigos ou outros.

Essas informações nos mostram que a produção de requeijão na Microrregião de Guanambi é uma atividade tradicional, onde os saberes adquiridos são transmitidos para as novas gerações. Essa transmissão de conhecimento pode ser comprovada pela permanência da atividade em sua forma tradicional.

A longa experiência na produção do requeijão, fabricado de maneira artesanal, faz com que esses produtores tenham métodos de fabricação já consolidados.

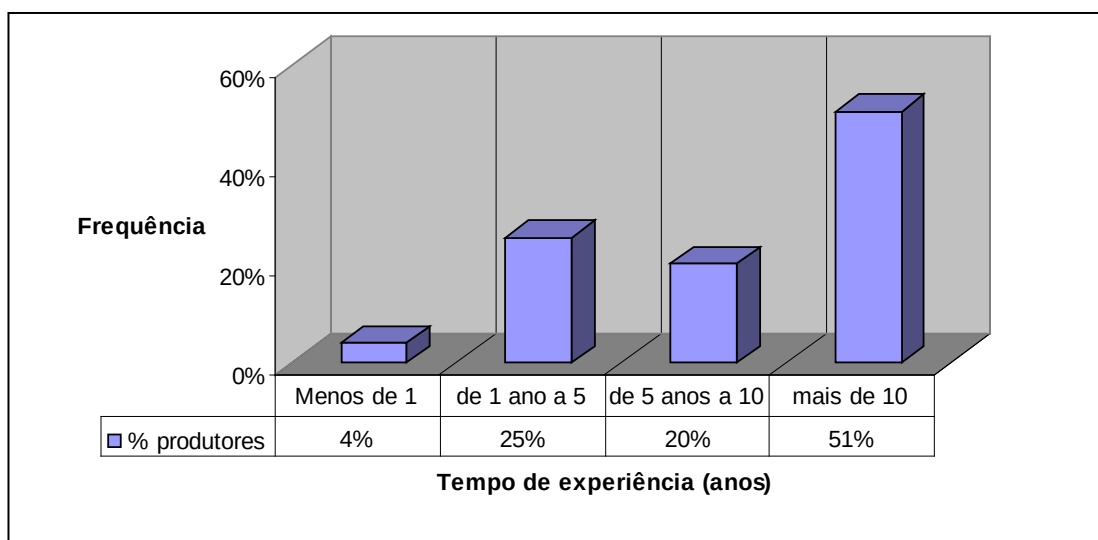


Figura 5. Tempo de experiência dos produtores na fabricação do Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia.

Por isso, há necessidade de um trabalho de conscientização mais aprofundado no sentido de melhorar a qualidade do requeijão sem, no entanto, modificar o processo de fabricação do mesmo, já que este processo é um fator caracterizador do produto.

Capacitação

Apenas 7% dos entrevistados relataram já ter participado de algum programa de capacitação de obtenção de leite de qualidade, produção de queijos, produção de derivados de leite ou produção de requeijão.

Este resultado pode indicar a baixa capacitação da mão de obra empregada na atividade, refletindo na qualidade do requeijão.

O interesse em receber treinamentos nessa área é alto (85%), sendo citados como assuntos de interesse: qualidade do leite, higiene, tecnologia de fabricação de derivados de leite e gestão.

A capacitação dos produtores se faz necessária para tentar corrigir as distorções que se verificam nos sistemas de produção e de processamento, em virtude de práticas inadequadas, tanto no manejo dos rebanhos quanto nas etapas de processamento e acondicionamento do produto.

Filiação a entidades representativas

Quanto à participação dos produtores em instituições que representam seus interesses, 43% responderam afirmativamente que participavam de Associações, Cooperativas e Sindicato Rural.

Este dado ainda representa uma pequena porcentagem de participação dos produtores em entidades coletivas, que poderiam ajudar o pequeno produtor na organização e melhoria do controle do processo produtivo.

4.3. Produção de requeijão

4.3.1. Etapas do processo

O questionário aplicado aos produtores permitiu a caracterização das diversas etapas do processamento do Requeijão do Sertão da Microrregião de Guanambi e possibilitou registrar algumas de suas peculiaridades. O processo de fabricação é um dos fatores mais importantes que define as características do produto.

Procedência da matéria-prima

No caso da microrregião pesquisada, caracterizada por pequenos produtores, a procedência da matéria-prima vincula-se, diretamente, a quem produz o requeijão.

Geralmente, o produtor de leite também é produtor de requeijão (78%), 9% processam o requeijão com leite próprio e de terceiros e 13% compram todo o leite de terceiros.

Após a ordenha, o leite não é resfriado e também não se faz qualquer tipo de análise de controle. O leite vai direto para o processamento do requeijão.

Como a maioria dos entrevistados jamais recebeu orientação técnica (93%), indica que a mão de obra pode ser de baixa qualidade refletindo na qualidade da matéria-prima. Existe a necessidade desta qualificação para adequação dos produtos e processos, como também das instalações, almejando uma matéria-prima de qualidade.

Filtração do leite

O objetivo primário de se filtrar o leite cru é remover sujidades e contaminantes como palhas, folhas, cabelo, sementes, solo e parasitas, com a finalidade de garantir um produto de melhor qualidade; diversos métodos de filtração são empregados em indústrias de laticínios, sendo encontrados, em pequena escala, pano de filtro ou peneira de plástico ou metal. No entanto, este método de filtração tem suas limitações, possibilitando apenas a remoção de grandes partículas no leite (Tamime & Robinson, 2007).

A filtração é o um processo físico no qual o leite é submetido após a ordenha. Durante a pesquisa, foi identificada a utilização de vários materiais neste processo (Figura 6).

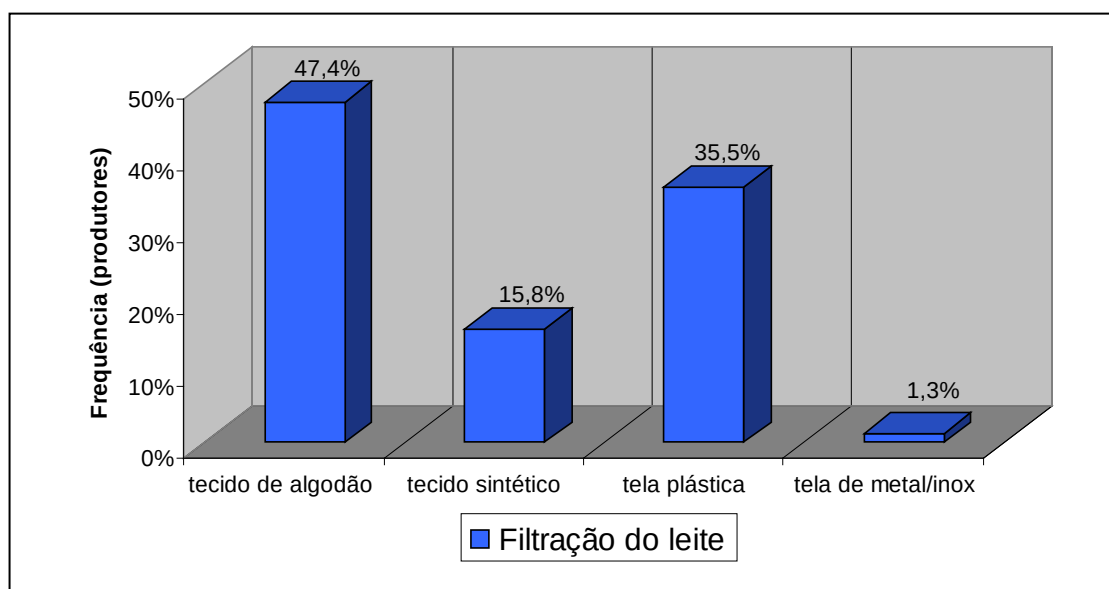


Figura 6. Diferentes materiais utilizados para filtrar o leite cru, antes do processamento, na Microrregião de Guanambi, Bahia.

Dos produtores entrevistados, 47,4% fazem a filtração do leite em tecido de algodão, 15,8% em tecido sintético e 35,5% em tela plástica. Segundo Martins (2006), fragmentos de tecidos de algodão, linho ou nylon, foram encontrados em todas as amostras de leite analisadas em seu trabalho, tendo como fonte principal, tecidos utilizados durante a etapa de filtração, por se tratar de um material de fácil desfragmentação quando em uso contínuo durante longos períodos.

A eficiência da filtração do leite pode ser conseguida com o uso de filtros apropriados, de aço inox ou plástico de alta resistência. Sua troca periódica poderá diminuir a concentração de materiais estranhos nos queijos.

É preciso ressaltar, todavia, que qualquer um dos filtros utilizados deve ser higienizado, adequadamente, para evitar a veiculação de microrganismos ou sujidades que possam contaminar o produto.

Coagulação do leite

A acidificação do leite ocorre geralmente através da produção de ácido láctico, como resultado da fermentação da lactose pelas bactérias do ácido láctico. A velocidade e a extensão da acidificação são dependentes de alguns parâmetros (variação da microbiota presente e temperatura ambiente, dentre outros), resultando em queijos de qualidade variável (Fox et al., 2000).

Todos os produtores pesquisados não fazem uso de coalho para a obtenção da massa no preparo do requeijão, sendo utilizada a fermentação natural pela microbiota autóctone do leite. O tempo de coagulação varia de 12 a 24 horas, dependendo da temperatura ambiente.

A coagulação do leite é feita em tambores plásticos por 62% dos produtores e 4% fazem uso de tanques de aço inoxidável, como exige a legislação vigente.

O produtor faz uso do tambor plástico por ser de uso comum pela maioria dos produtores e principalmente por ter um custo relativamente baixo. A grande maioria desconhece utensílios de aço inox normalmente utilizado na indústria de laticínios.

Ponto e corte da coalhada

O corte da coalhada (tamanho dos grãos) é uma operação fundamental na fabricação de queijos e influencia não só a composição, como também o rendimento, pois pode diminuir as perdas de gordura e finos para o soro (Furtado, 1990; Lawrence et al., 2000).

Nesta pesquisa, a coagulação do leite, feita em tambores plásticos pela maioria dos entrevistados, dificulta o corte da massa pela pequena abertura da boca.

Para determinar o ponto de corte da coalhada, os produtores utilizam as próprias mãos ou então, avaliam visualmente.

A quebra da coalhada não é feita por 60,5% dos produtores, os quais apenas recolhem a massa com a ajuda de um recipiente e a colocam direto em tecido para a dessoragem.

Os 39,5% dos produtores restantes quebram a coalhada utilizando pá de madeira (63,3%), pá de plástico (13,3%), pá de metal (6,7%), mãos (6,7%) e faca (10,0%) (Figura 7).

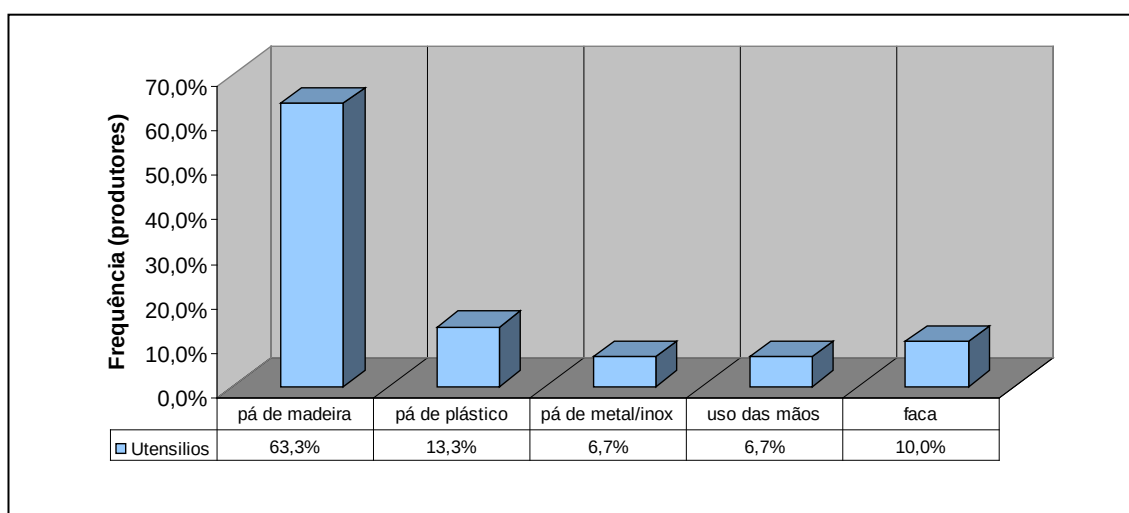


Figura 7. Diferentes utensílios utilizados pelos produtores de Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia, para cortar a coalhada.

Silva (2007) encontrou resultados semelhantes na fabricação do queijo Minas Artesanal da Canastra, em que os materiais utilizados para trabalhar com a coalhada eram, em sua maioria, de madeira (86%), e também de metal/inox (8%), ou plástico (7%).

Geralmente, os instrumentos utilizados para o corte da coalhada, também são utilizados na mexedura da massa. O uso de pás de madeira, que também são fontes potenciais de contaminação, contribui para tornar o produto desuniforme e aumenta a perdas de finos no soro, o que diminui o rendimento do requeijão.

Dessoragem e destino do soro

No processo de fabricação do requeijão, a maioria dos produtores utiliza peneiras de nylon, panos de algodão e sacos de nylon (ráfia) para realizar a dessoragem.

Um ponto positivo observado nos resultados da pesquisa de campo refere-se ao fato da maioria dos produtores apresentar alternativas para o aproveitamento do soro produzido nas fábricas, uma vez que o descarte do mesmo no meio ambiente constitui-se no principal fator responsável pelo impacto ambiental negativo proporcionado pelas indústrias de laticínios.

No caso dos produtores de requeijão pesquisados, 89% coletam o soro. Do total recolhido, 94% têm como destino a alimentação animal (criações próprias) ou é devolvido para os produtores de leite para ser aproveitado por eles. Os 6% restantes são reaproveitados para a elaboração de outros produtos.

Adição de gordura

No processo de fabricação de requeijão, a gordura é adicionada durante a fusão da massa. Assim, a viscosidade diminui, a consistência se torna macia e a massa adquire aspecto amanteigado (Dender et al., 2006).

Na etapa de fusão do requeijão, é adicionada gordura animal por 97% dos produtores e 3% adicionam gordura vegetal. A gordura animal é primeiramente derretida e coada para posterior incorporação à massa. A adição de gordura líquida é feita por 100% dos produtores.

Adição de bicarbonato de sódio

O bicarbonato de sódio (NaHCO_3) é uma substância básica, que reage com o ácido láctico, funcionando como um regulador de pH (Brasil, 1997a; Perrone, 2007; Farkye & Ur - Rehman, 2011). Possibilita a obtenção de produtos sem exsudação de gordura e de consistência macia (Cavalcante & Costa, 2005) e também melhora a cor dos derivados de leite (Farkye & Ur - Rehman, 2011).

O uso de bicarbonato de sódio é realizado por 53% dos produtores, sendo que 95% destes não pesam o mesmo, colocando-o empiricamente. Foi

observado também que os produtores adicionam o bicarbonato sem saberem a real função do mesmo.

Equipamentos e utensílios utilizados na fabricação do requeijão

O uso de utensílios, exclusivos para a fabricação de requeijão, é prática de 85% dos produtores pesquisados.

Pelos dados coletados, observou-se que estes utensílios variam muito em relação ao material que são fabricados, podendo ser de madeira (22%), inox (15%), plástico (22%), alumínio (39%) e outros (2%).

A baixa porcentagem do uso dos utensílios de inox se deve ao fato da dificuldade de encontrá-los no mercado desses municípios e também pelo custo elevado comparado com os utensílios de madeira e alumínio, e que geralmente, são facilmente encontrados.

Formas

Os diversos tipos de formas utilizados na enformagem do requeijão estão ilustrados na Figura 8.

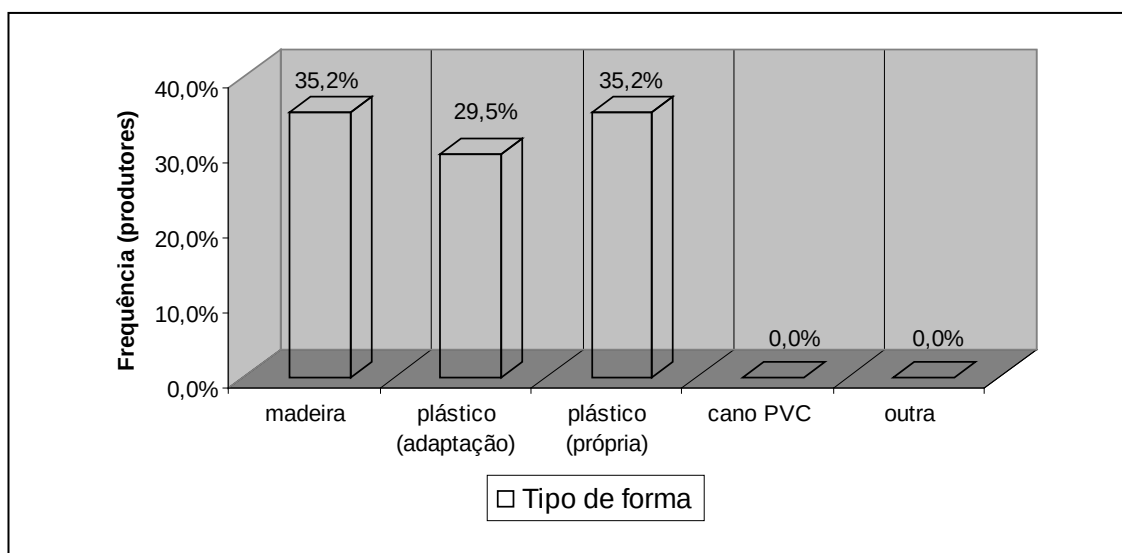


Figura 8. Diferentes tipos de formas utilizados na enformagem do Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia.

Na etapa de enformagem do requeijão, 65% dos produtores utilizam formas de plástico próprias (polipropileno) e também adaptadas (cano cortado

de PVC, embalagens de margarina ou manteiga, ou embalagens plásticas) e 35% usam formas de madeira.

Deve-se evitar o uso de equipamentos e utensílios de materiais propícios à contaminação, e de difícil higienização ou desinfecção, como por exemplo, a madeira, que pode causar a formação de biofilmes, responsáveis por uma possível contaminação dos requeijões (Brasil, 1997; Martins, 2006).

Rendimento

O rendimento econômico se refere à quantidade de massa de queijo produzida em relação ao volume de leite utilizado na produção, nas etapas industriais (Alegro, 2003). Em termos práticos, o rendimento de fabricação determina o volume de leite necessário para se produzir um quilo do produto final.

No caso da indústria de laticínios, a relação entre matéria-prima e produto final representa o principal fator de custo da maioria dos produtos fabricados (Dorea et al., 2003) e é influenciado por muitos fatores como composição e qualidade do leite, temperatura de pasteurização, etapas do processo de fabricação e composição dos queijos (por exemplo, a umidade) (Lawrence et al., 2004).

O rendimento econômico do requeijão alcançado pelos produtores pesquisados encontra-se ilustrado na Figura 9.

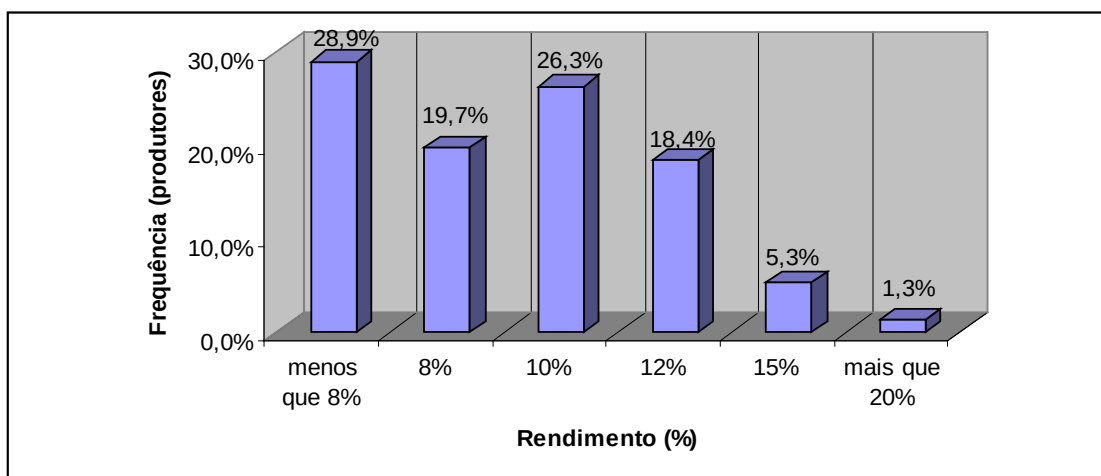


Figura 9. Rendimento econômico do Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia.

Os produtores de requeijão alcançam diferentes rendimentos da massa: menor que 10%, 12% e acima de 12% (74,9%, 18,4% e 6,6% dos produtores, respectivamente).

Esta variação é devida às diferenças entre os diversos procedimentos de fabricação do requeijão como, por exemplo, no corte da coalhada.

A rapidez do corte e do tamanho dos grãos, bem como a intensidade da agitação feita imediatamente após o corte, tem forte influência nas perdas de proteína e gordura para o soro.

A proteína ao formar uma rede (paracaseinato de cálcio) aprisiona em diferentes proporções gordura, lactose e sais minerais. E aumenta consideravelmente a retenção de água no queijo.

Por outro lado, um aumento do teor de gordura provoca o mesmo efeito positivo no rendimento, só que neste caso a maior retenção de água no queijo é devida à menor sinérese.

Produção de requeijão

A quantidade de peças de requeijão fabricada por dia pelos produtores pesquisados encontra-se ilustrada na Figura 10.

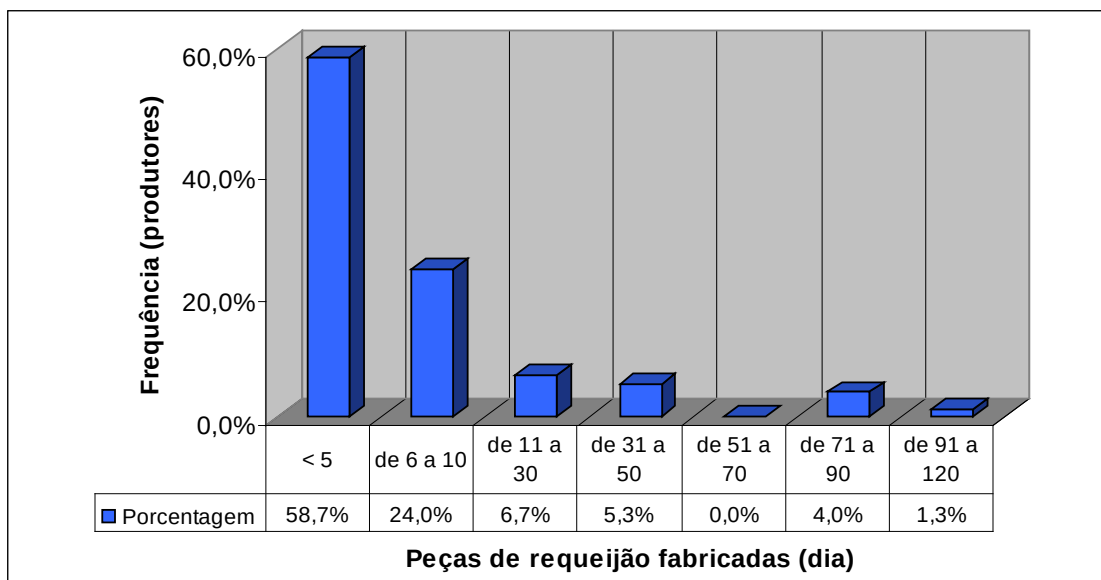


Figura 10. Peças de Requeijão do Sertão fabricadas por dia na Microrregião de Guanambi, Bahia.

A maioria dos produtores de requeijão trabalha com até 50 L diários de leite (67%). Destes, 58,7% fabricam menos que cinco peças de requeijão por

dia e apenas 1,3% deles fabricam mais de 100 peças por dia (Figura 10), indicando a predominância de pequenos produtores. O peso médio predominante dos requeijões fabricados é de até 1 Kg (84%).

Os produtores que trabalham com pouco leite, após a coagulação do mesmo e obtenção da massa, fazem o congelamento desta durante toda a semana. Desta forma, a fabricação de requeijão é realizada utilizando toda a massa produzida e congelada durante a semana, de uma só vez, geralmente, no dia de feira no município em que se realiza a venda do requeijão.

Armazenamento do requeijão depois de fabricado

Finalizado o processo de fabricação, 44% dos produtores deixam o requeijão nas formas e o restante (56%) retira o requeijão da forma e os armazena sobre uma bancada, mesa ou prateleira (ardósia, madeira) até o momento da comercialização.

A madeira e a ardósia têm superfícies irregulares devido a rachaduras e fendas e por isso são de difícil higienização. São materiais que permitem a multiplicação microbiana, podendo originar processos de adesão bacteriana e formação de biofilmes (Kumar & Anand, 1998; Andrade, 2008). Estas superfícies em contato com os requeijões podem ser responsáveis por uma possível contaminação pós-processamento, diminuindo a vida de prateleira do produto.

Embalagem

Relacionado à embalagem, 87% dos produtores não utilizam nenhum tipo de embalagem, 9% embalam o produto em sacos plásticos e uma pequena parcela (4%) embala a vácuo.

Os requeijões vendidos sem embalagem correm o risco de incorporar externamente material de origem biológica (como insetos e ácaros) ou não (como terra) e ainda ficam sujeitos a ações diretas dos microrganismos patogênicos ou não, provenientes do ambiente, podendo alterar sua qualidade. Mas, os consumidores deste produto cultuam o hábito de comprá-lo sem embalagem, porque gostam de tatear o produto na hora da compra.

Temperatura de estocagem e armazenagem

Segundo o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Requeijão Cremoso ou Requesón (Brasil, 1997), as condições de conservação e comercialização do requeijão deverão ser em temperatura inferior a 10°C.

Os dados da pesquisa mostram que o requeijão é armazenado para a venda em duas situações. Em 7% dos casos, o produto é armazenado em temperatura de refrigeração, em refrigeradores ou câmaras frigoríficas e a grande maioria (93%) armazena em temperatura ambiente. Estes são expostos sobre barracas, mesas ou em prateleiras de madeira, em feiras livres, principalmente.

Quando o produtor não consegue escoar toda a produção ele armazena o produto por 48 horas (12%) ou 72 horas (9%), refrigerado ou embalado a vácuo.

Normalmente o produtor fabrica o requeijão no dia anterior em que vai colocá-lo à venda. Pois, segundo eles próprios, o consumidor não compra o produto estocado e refrigerado e, portanto, 76% não realizam essa prática e têm o hábito de incorporar os requeijões armazenados refrigerados em uma nova produção.

4.3.2. Instalações e local de processamento

Local de processamento

O local de fabricação de requeijão da maioria dos produtores é a própria cozinha da casa (54%) ou uma cozinha separada, construída junto à casa, usada somente para produzir requeijão (21%). Os 25% restantes trabalham em pequenas agroindústrias, construídas mais distantes de sua residência, especificamente, para trabalhar com a produção de requeijão.

Energia elétrica

Entre os produtores participantes da pesquisa, 69% possuem energia elétrica no local de produção.

Apesar da presença de energia elétrica na maioria das unidades processadoras, os produtores não têm o costume de armazenar a produção refrigerada.

Características físicas das construções

A infraestrutura disponível para as atividades de produção de requeijão refletem na qualidade final do produto.

Um resumo dos dados da infraestrutura do local de produção, predominante entre os produtores de requeijão, pode ser visualizado na Figura 11 e Tabela 5.

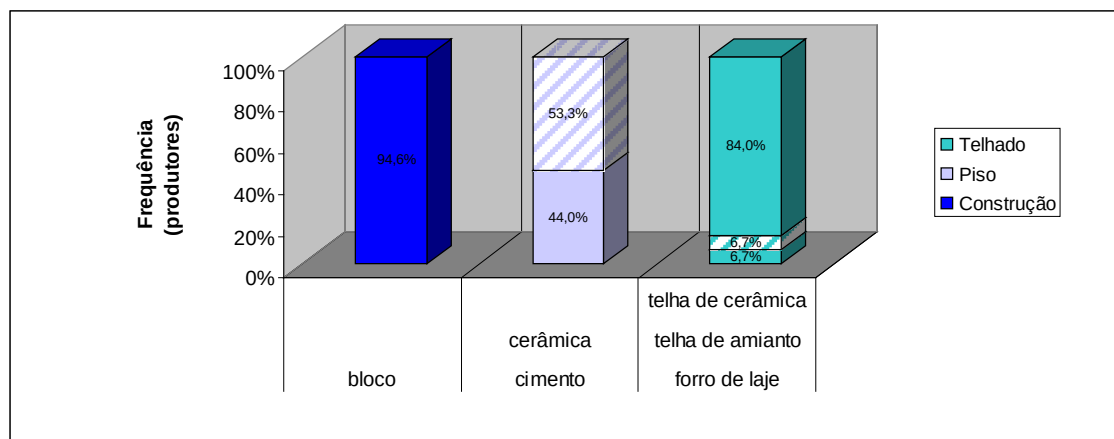


Figura 11. Infraestrutura do local de produção do Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia.

Tabela 5. Principais características da infraestrutura do local de produção do Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia.

Instalações	Características	% produtores
Portas e janelas	bom estado de conservação	58%
Iluminação	artificial	69%
Aspecto geral	bom	81%

Apesar de 95% das paredes serem construídas de bloco e 53% do piso das fábricas serem de cerâmica, é necessário salientar que estes não são suficientes para assegurar a qualidade do produto se não forem bem higienizados.

Foi constatado que 58% das portas e janelas encontram-se em bom estado de conservação e 84% possuem tela, o que revela a preocupação dos produtores com a higiene e controle de pragas.

Os produtores que não se enquadram nessas características têm conhecimento da necessidade da adequação de suas queijarias, mas alegam falta de recursos para promover as modificações necessárias.

É importante destacar que o local de processamento deve ser mantido em boas condições, como piso sem rachaduras ou buracos, janelas e portas bem conservadas e teladas, para evitar a entrada de pragas que possam contaminar o produto.

4.3.3. Condições higiênicas do local de processamento

O local de processamento de alimentos deve possuir requisitos básicos de higiene para não comprometer a qualidade do produto e, conseqüentemente, a saúde do consumidor. A totalidade dos produtores entrevistados afirmou lavar o local de produção dos requeijões diariamente, após o uso. Destes, 97% utilizam para isto detergente neutro.

O procedimento de higienização na indústria de alimentos deve ser efetuado em duas etapas distintas: a limpeza e a sanitização. Segundo Andrade et al. (2008), entre as substâncias utilizadas para a limpeza de equipamentos e utensílios, encontram-se os detergentes de base alcalina ou ácida, podendo ser acrescidos de fosfatos, complexantes e tensoativos.

Lixo

O lixo não deve ser acumulado nas áreas de manipulação, estocagem e outras áreas de serviço que lidam com o produto alimentício, no limite máximo da possibilidade operacional. É de extrema importância que o lixo seja acondicionado em recipiente com tampa e tenha local apropriado para descarte, de forma que não atraia insetos, ratos, moscas ou outros animais que possam contaminar o local de processamento e, conseqüentemente, o produto (PAS Indústria, 2000; PAS Mesa, 2001).

A Figura 12 ilustra os dados de recolhimento do lixo (diariamente, semanalmente ou quinzenalmente) pela prefeitura no local de produção de requeijão e também o destino deste lixo quando não é recolhido (queima, enterra ou descarta).

Do total dos 28% dos produtores pesquisados, que têm o lixo coletado no local de produção do requeijão, 81% responderam que o lixo é recolhido

diariamente, 14% semanalmente e 5% quinzenalmente. Dos 72% de produtores, que o lixo não é coletado, 83,3% fazem a queima, 3,7% enterram e 13% descartam.

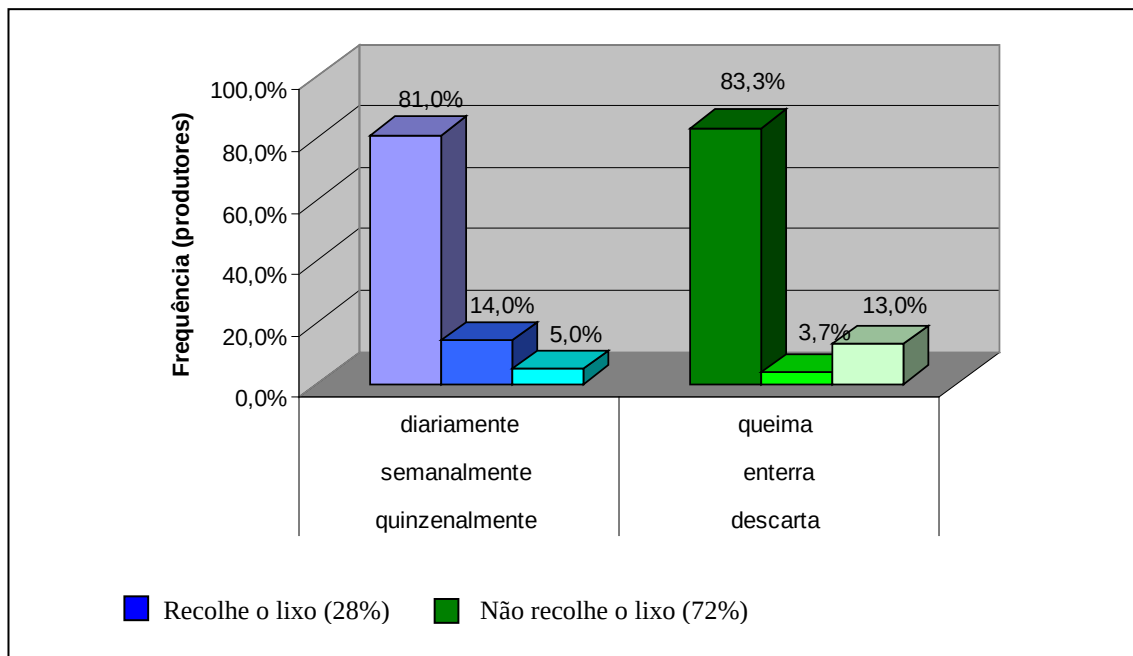


Figura 12. Destino do lixo produzido nas propriedades produtoras de Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia.

Presença de animais domésticos

Focos de insalubridade e presença de animais domésticos são fatores que devem ser controlados nos locais de processamento, pois podem comprometer a qualidade e segurança do produto (PAS Mesa, 2001).

As propriedades que apresentaram focos de insalubridade, próximos ao local de produção, totalizaram 7% e os 93% restantes criam os animais longe da área de produção.

De acordo com a Portaria SVS/MS nº 326, de 30 de julho de 1997, que estabelece os requisitos gerais sobre as condições higiênico-sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para estabelecimentos produtores - industrializadores de alimentos, deve-se impedir a entrada de animais em todos os lugares onde se encontram matérias-primas, material de embalagem, alimentos prontos ou em qualquer das etapas da produção/industrialização (Brasil, 1997).

A presença de animais com livre acesso aos currais, sala de ordenha e queijaria, é fonte potencial de contaminação do produto, devido à possibilidade de veiculação de microrganismos indesejáveis destes animais ao rebanho, ordenhador e queijeiro, que, conseqüentemente, contaminam o leite e o queijo. A maioria dos produtores tem consciência desses problemas e sempre que possível tem disposição para corrigi-los.

4.3.4. Origem e armazenamento da água utilizada na produção

De modo geral, a disponibilidade de água tratada não é uma constante nas unidades de processamento, a não ser que se situe em zona urbana, realidade de 24% das propriedades pesquisadas.

Na zona rural, a água origina-se de poço artesiano ou nascente e é utilizada por 54% dos produtores avaliados e 22% é originada da captação da chuva ou barragem.

Segundo legislação vigente, a água utilizada na produção do requeijão deve ser potável, com adequado sistema de distribuição e com proteção eficiente contra contaminação. Caso seja necessário o armazenamento, deve-se dispor de instalações apropriadas (Brasil, 1997).

No total, 81% das propriedades avaliadas possuem reservatórios para o armazenamento da água, em boas condições, sem rachaduras, devidamente vedados e tampados.

4.4. Comercialização do requeijão

4.4.1. Destino do requeijão para comercialização

Dos requeijões comercializados, 85% são vendidos no município de origem, 12% em outros municípios do estado e 3% em outros estados.

A quantidade de requeijões comercializados em outros estados poderia ser maior se o mesmo atendesse aos padrões de qualidade estabelecidos pela legislação vigente. Esse fato confirma a necessidade de formação de associações entre os produtores para que estes possam se organizar e, assim, realizar um melhor controle do processo produtivo, desde a obtenção da matéria-prima até a comercialização do produto.

4.4.2. Aspectos de mercado

O requeijão produzido geralmente é distribuído no município local e nos circunvizinhos.

A comercialização e o preço foram apontados como um dos principais problemas para os produtores pesquisados, principalmente, por não conseguirem vender toda a sua produção.

Intermediários

Nos municípios visitados, 53% dos comerciantes de requeijão vendem sua própria produção. Os 47% restantes vendem requeijão de dois até quatro produtores.

Esse fato se deve, principalmente, à distância e às condições precárias das estradas que ligam as propriedades produtoras às cidades. Além disso, a falta de associações, por meio das quais os produtores possam comercializar seu produto, sem depender do intermediário, contribui com essa situação.

O preço do produto, na data em que foi feita a pesquisa (abril a junho de 2009), variava de R\$ 8,00 a 10,00 (80%) e de R\$ 11,00 a 14,00 (20%). O total de requeijão vendido, por semana, girava em torno de 30 kg por 97% dos comerciantes entrevistados.

4.4.3. Instalações

Local de comercialização

Os principais locais de comercialização do requeijão estão ilustrados na Figura 13. Na Figura 14 estão outros produtos vendidos juntamente com o requeijão.

O principal local de comercialização dos requeijões é a feira livre (81%) (Figura 13). A infraestrutura do local onde ocorre o comércio do requeijão conta com barracas construídas em madeira (57%), bloco (36%), ardósia e outros (7%); com piso de cimento (65%), cerâmica (11%), calçamento (16%) e outros (8%).

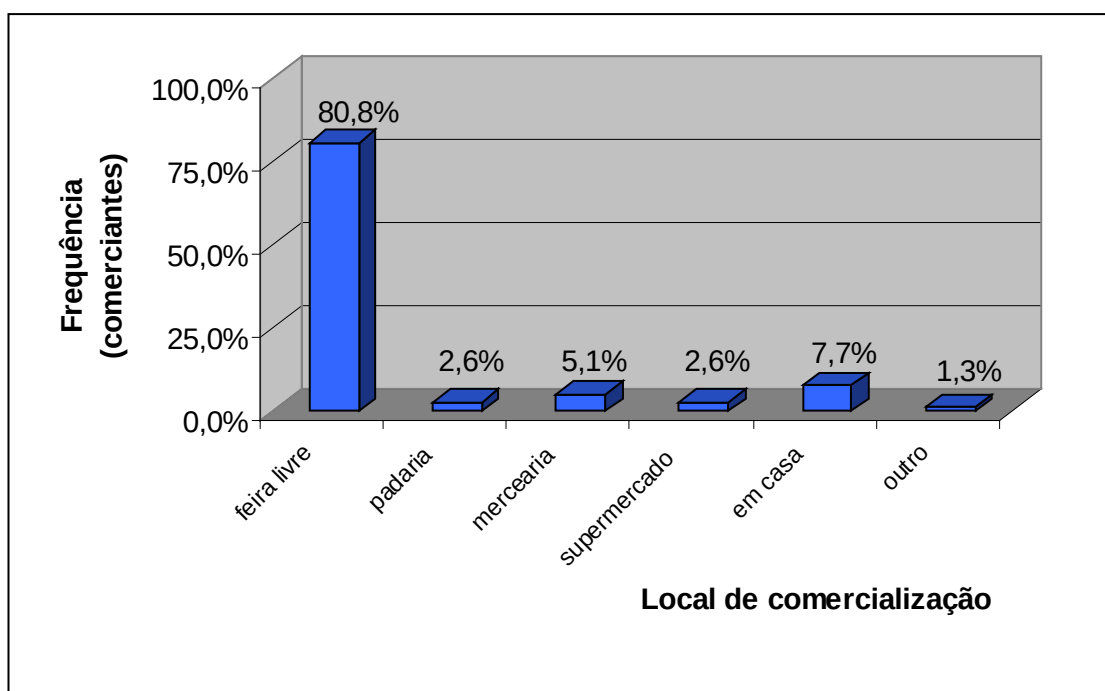


Figura 13. Local principal de comercialização do Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia.

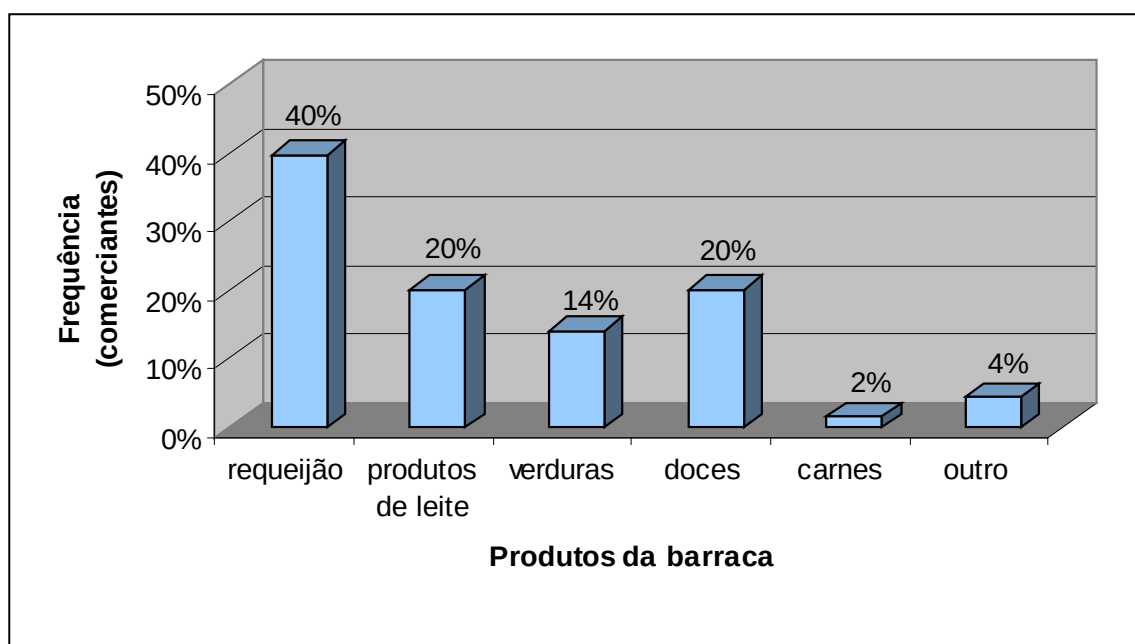


Figura 14. Produtos comercializados nas barracas junto com o Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia.

A Figura 14 mostra que 40% dos comerciantes comercializam apenas requeijão em suas barracas e que 60% comercializam também outros produtos.

Os requeijões comercializados nas barracas ficam expostos sem nenhuma embalagem e, quando vendidos, são colocados em embalagens de polietileno (82%).

97,5% das propriedades rurais estudadas por Silva (2007) e 100% das propriedades da região de Araxá estudadas por Araújo (2004) comercializam, sem embalagem, os queijos Minas Artesanal da Canastra e da Região de Araxá, respectivamente.

4.4.4. Frequência de comercialização

A comercialização do requeijão, dentro do universo estudado é mostrada na Figura 15.

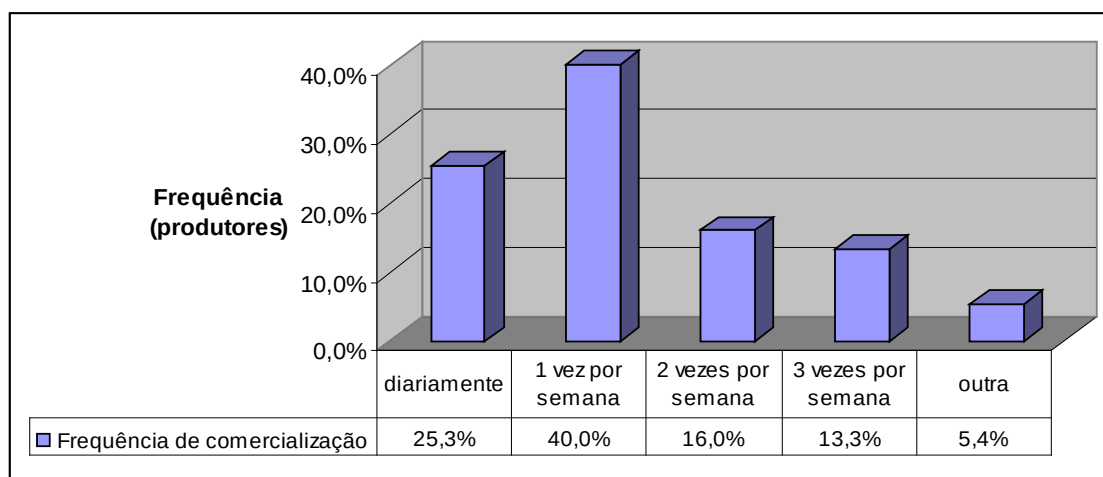


Figura 15. Comercialização de Requeijão do Sertão durante a semana pelos comerciantes da Microrregião de Guanambi, Bahia.

A frequência de comercialização do requeijão se deve à variação de dias em que é realizada a feira livre de cada município e também se o comerciante vende o produto em mais de um município.

5. CONCLUSÕES

As propriedades produtoras estudadas podem ser caracterizadas como de baixa tecnologia. Pelos dados apresentados pela pesquisa de campo, melhorias se fazem necessárias, seja no manejo e nutrição dos rebanhos, seja

na capacitação da mão-de-obra, permitindo maior produtividade e aumento da qualidade do produto final.

Além disso, ainda se percebe a necessidade de uma melhor orientação técnica aos produtores de leite e de requeijão para a adequação dos produtos e processos, como também das instalações.

Com o estabelecimento de procedimentos adequados de higiene e sanitização, será possível a obtenção de produtos com características higiênicas adequadas e, desta forma, aumentar sua qualidade e competitividade.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEGRO, J.H.A. **Desenvolvimento de queijo Minas frescal probiótico com *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis* isolados e em co-cultura**. São Paulo, 2003. 84p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.

ALMEIDA, R.C.C.; KUAYE, A.Y.; SERRANO, A.M.; ALMEIDA, P.F. Avaliação e controle da qualidade microbiológica de mãos de manipuladores de alimentos. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, vol. 29, n. 4, p. 290-294, 1995.

ANDRADE, N.J.; PINTO, C.L.O.; ROSADO, M.S. Controle da Higienização na Indústria de Alimentos. In: ANDRADE, N.J. **Higiene na indústria de alimentos: avaliação e controle da adesão e da formação de biofilmes bacterianos**. São Paulo: Varela, 2008. Cap. 4, p. 181-225.

ANDRADE, N.J. Qualidade e Tratamento da Água no Controle de Adesão Microbiana na Indústria de alimentos. In: _____ **Higiene na indústria de alimentos: avaliação e controle da adesão e da formação de biofilmes bacterianos**. São Paulo: Varela, 2008. Cap. 6, p. 305-331.

ARAÚJO, R.A.B.M. **Diagnóstico socioeconômico, cultural e avaliação dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos do queijo Minas Artesanal da região de Araxá**. 2004. 121 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais.

CARVALHO, J. D. G. **Caracterização da microbiota láctica isolada de queijo de Coalho artesanal produzido no Ceará e de suas propriedades tecnológicas**. 2007. 154 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

ASAAH, N.O.; FONTEH, F. ; KAMGA, P.; MENDI, S.; IMELE, H. Activation of the lactoperoxidase system as a method of preserving raw milk in areas without cooling facilities. **African Journal of Food Agriculture Nutrition and Development**, vol. 7, n.2, 2007.

BERGAMASCHI, M.A. Produção de Leite no Brasil. **Folha de São Paulo**, São Paulo, 06 de janeiro 2011.

BEUVIER, E.; BUCHIN, S. Raw Milk Cheeses. In: FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H.; COGAN, T. M.; GUEENE, T. P. (Eds.). **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology**, vol. 1, 3rd ed., Amsterdam: Elsevier, 2004. Cap. 13, p. 319-346.

BORELLI, B. M.; FERREIRA, E. G.; LACERDA, I. C. A.; FRANCO G. R.; ROSA, C. A. Yeast populations associated with the artisanal cheese produced in the region of Serra da Canastra, Brazil. **World Journal Microbiololy Biotechnology**, vol.22, p.1115-1119, 2006.

BRAMLEY, A. J.; McKINNON, C. H. The microbiology of raw milk. In: ROBINSON, R. K. (Ed.). Dairy Microbiology: **The microbiology of milk**. 2nd ed. London, UK: Elsevier Science Publishers, 1990. p. 163-208.

BRANT L. M. F., FONSECA L. M., SILVA M. C. C. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo-de-minas artesanal do Serro-MG, **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, vol. 9, p. 1570-1574, 2007.

BRASIL, Decreto-Lei nº 30.691, de 29 de março de 1952. Aprova o novo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**, Rio de Janeiro, p.10.785, 07 jul. 1952.

BRASIL, Decreto-Lei nº 923, de 10 de outubro de 1969. Dispõe Sobre a Comercialização do Leite. **Diário Oficial da União**.

BRASIL. Portaria nº. 326 – SVS/MS, 30 de julho de 1997. Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 30 de julho de 1997.

BRASIL. Portaria nº 359 de 04 de agosto de 1997. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Requeijão Cremoso ou Requesón. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal, 1997a.

BRASIL. Instrução Normativa nº 51, de 20 de setembro de 2002. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite tipo... **Diário Oficial da União**, Brasília, p.13, 21 set. 2002. Seção 1.

BRITO, J. R. F.; PINTO, S. M.; BRITO, M. A. V. P. Boas Práticas de Produção de Leite Bovino na Agricultura Familiar. In: Nascimento Neto, F., **Recomendações Básicas para Aplicação das Boas Práticas Agropecuárias e Fabricação na Agricultura Familiar**, Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. Cap. 11, p. 195-205.

BRITO, M.A.V.P.; SOUZA, G.N.; LANGE, C.C.; BRITO, J.R.F. Qualidade do leite armazenado em tanques coletivos. **Circular Técnica**, n.99. Embrapa, Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, Novembro, 2009.

BRUNO, L. M.; GASPARIN, J. D. Microbiota Láctica de Queijos Artesanais. **Documento 124**. Embrapa Agroindústria Tropical. Fortaleza, CE, p.1-30, dezembro 2009.

CARVALHO, J. D. G.; BRUNO, L. M.; NASSU, R. T.; LIMA, C. P.; VASCONCELOS, N. M.; KUAYE, A. Y. Bactérias ácido lácticas isoladas de queijo de Coalho artesanais comercializados em Fortaleza, CE. **Revista do Instituto Cândido Tostes**, vol. 60, n. 345, p. 221-224, 2005.

CARVALHO, J. D. G. **Caracterização da microbiota láctica isolada de queijo de Coalho artesanal produzido no Ceará e de suas propriedades tecnológicas**. 2007. 154 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

CAVALCANTE, A. B. D.; COSTA, J. M. C. Padronização da Tecnologia de Fabricação do Queijo de Manteiga. **Revista Ciência Agronômica**, vol. 36, n. 2, p. 215-220, mai/ago. 2005.

CHAMBERS J. V., The microbiology of raw milk. In: ROBINSON R.K. (Ed.), **Dairy Microbiology Handbook: The microbiology of milk and milk products**, 3rd edn., John Wiley and Sons, New York, 2002. Cap.2, p.39-90.

COOREVITS, A.; DE JONGHE, V.; VANDROEMME, J.; REEKMANS, R.; HEYRMAN, J.; MESSENS, W.; DE VOS, P.; HEYNDRICKX, M. Comparative analysis of the diversity of aerobic-spore-forming bacteria in raw milk from organic and conventional dairy farms. **Systematic and Applied Microbiology**, vol. 31, n. 2, p. 126–140, 2008.

CRAMER, M.M. Employee Good Manufacturing Practices. In: _____ **Food plant sanitation: design, maintenance, and good manufacturing practices**. CRC Press Taylor & Francis Group. NW. 2006.

DENDER, A. G. F. V. Requeijão: Aspectos Gerais. In: _____ **Requeijão Cremoso e Outros Queijos Fundidos: Tecnologia de Fabricação, Controle do Processo e Aspectos de Mercado**, São Paulo: Fonte Comunicações e Editora Ltda., 2006. Cap. 1, p. 11-17.

DENDER, A. G. F. V.; MORENO, I.; SILVA E ALVES, A.T.; SPADOTI, L.M. Tecnologia Básica de Fabricação e Parâmetros de Controle de Processo. In:

DENDER, A. G. F. V. **Requeijão Cremoso e Outros Queijos Fundidos: Tecnologia de Fabricação, Controle do Processo e Aspectos de Mercado**, São Paulo: Fonte Comunicações e Editora Ltda., 2006. Cap. 3, p. 39-73.

DINIZ, T. T.; PAULO, P. D.; CRUZ, A. L. M.; VIEIRA, V. A.; ALMEIDA, A. C. A. Diagnóstico Sanitário da Produção de Queijo Minas Artesanal em uma Propriedade Rural Localizada no Distrito de Nova Esperança – MG. **Revista Brasileira de Agroecologia**, vol. 4, n. 2, nov. 2009.

DONATO, P. E. R. **Sistema de produção e qualidade do material utilizado como semente de algodão (*Gossypium hirsutum* L.), na região de Guanambi**. (Tese de Mestrado). Faculdade de Agronomia "Eliseu Maciel", Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, 2004. 63 p.

DOREA, A.T.N.; PAULA, H.M.; VIANA, I.N.S. **Diagnostico da Cadeia Produtiva do Leite e Derivados. Desenvolvimento da Bacia Leiteira da Região Tocantina e Médio Mearim**. SEBRAE/MA: São Luís / Maranhão. 2003. 128p.

DUARTE, D. A. M.; SCHUCH, D. M. T.; SANTOS, S. B.; RIBEIRO, A. R.; VASCONCELOS, A. M.; SILVA, J. V. D.; DA MOTA, R. A. Pesquisa de *Listeria Monocytogenes* e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijo de coalho produzido e comercializado no estado de Pernambuco. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, vol.72, n.3, p.297-302, jul./set., 2005.

ELMOSLEMANY, A. M.; KEEFE, G. P. ; DOHOO, I. R.; JAYARAO B. M. Risk factors for bacteriological quality of bulk tank milk in Prince Edward Island dairy herds. Part 1: Overall risk factors. **Journal of Dairy Science**, vol. 92, n. 6, p. 2644-2652, 2009.

FARKYE, N.Y.; UR - REHMAN, S. Concentrated Fluid Milk Ingredients. In: CHANDAN, R.C.; KILARA, A. **Dairy Ingredients for Food Processing**. Blackwell Publishing Ltd., USA. 2011. Cap.5, p. 123-140.

FEITOSA, T.; BORGES, M. F.; NASSU, R.T. Pesquisa de *Salmonella* sp., *Listeria* sp. e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijos produzidos no Estado do Rio Grande do Norte. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, vol. 23 (Supl), p.162-165, 2003.

FERREIRA, H.F.; PIRES, A.J.V.; MOTA, J.A. Produção Leiteira na Microrregião de Itapetinga, Bahia: Aspectos Sócio-Econômicos. **Revista Electrónica de Veterinaria - REDVET**, vol. 7, n. 7, 2005. Disponível em: < <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n070705.html> > Acesso em: maio 2011.

FERREIRA, M.A.; SILVA, F.M.; BISPO, S.V.; AZEVEDO, M. Estratégias na suplementação de vacas leiteiras no semi-árido do Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, vol.38, p.322-329, 2009 (supl. especial).

FONSECA, L. F. L., SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo, SP: Lemos Editorial, 2000.

FOX, P. F.; GUINEE, T. P.; COGAN, T. M.; McSWEENEY, P. L. H. Overview of Cheese Manufacture. In: _____ **Fundamentals of Cheese Science**, vol.1. Gaithersburg: Aspen Publishers, USA, 2000. Cap.2, p. 10-18.

FOX, P. F. Milk: an overview. THOMPSON, A.; BOLAND, M.; SINGH, H. **Milk Proteins: from Expression to Food**. Academic Press is an imprint of Elsevier, USA. 2009. Cap.1, p. 1-54.

FURTADO, M.M. Fatores que afetam as características finais do queijo. _____. **A arte e a ciência do queijo**, São Paulo: Globo, 1990. Cap. 5, p. 115-147.

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). **Braslian Journal of Food Tecnology**, vol. 6, p. 259-265, 2003.

HUIS J.H.J. Microbial and biochemical spoilage of foods: an overview. **International Journal of Food Microbiology**, vol. 33, n.1, 1998.

HUPPERTZ, T.; KELLY, A.L. Properties and Constituents of Cow's Milk. In: TAMIME, A.Y. **Milk Processing and Quality Management**. Wiley-Blackwell, USA. 2009. Cap. 2, p. 23-47.

IDE, L.P.A.; BENEDET, H.D. Contribuição ao conhecimento do queijo colonial produzido na região serrana do Estado de Santa Catarina, Brasil. **Ciência Agrotécnica**, vol. 25, n. 6, p. 1351-1358, 2001.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da Pecuária Municipal**. Rio de Janeiro, vol. 37, p.1-55, 2009. Disponível em: < <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2009/ppm2009.pdf> > Acesso em: maio 2011.

KOCHANSKI, S.; PIEROZAN, M. K.; MOSSI, A. J.; TREICHEL, H.; CANSIAN, R. L.; GHISLENI, C. P.; TONIAZZO, G. Avaliação das condições microbiológicas de uma unidade de alimentação e nutrição. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, vol. 20, n. 4, p. 663-668, out./dez. 2009.

KOMATSU, R. S.; RODRIGUES, M. A. M.; LORENO, W. B. N.; SANTOS, K. A. Queijo artesanal comercializado em Uberlândia-MG. **Bioscience Journal**, Uberlândia, vol. 26, n. 2, p. 311-315, Mar./Apr. 2010.

KUMAR, C. G.; ANAND, S.K. Significance of microbial biofilms in food industry: a review. **International Journal of Food Microbiology**, vol. 42, n.1-2, p. 9-27, 1998.

LAWRENCE, R.C.; GILLES, J.; CREAMER, L.K.; CROW, V.L.; HEAP, H.A.; HONORÉ, C.G.; JOHNSTON, K.A.; SAMAL, P.K. Cheddar Cheese and Related

Dry-salted Cheese Varieties. In: FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H.; COGAN, T. M.; GUEENE, T. P. (Eds.). **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology**, vol. 2, 3rd ed., Amsterdam: Elsevier, 2004. p. 71-102.

LIMA C.D.L.C.; LIMA L.A.; CERQUEIRA M.M.O.P.; FERREIRA E.G.; ROSA C.A. Bactérias do ácido láctico e leveduras associadas com o queijo-de-minas artesanal produzido na região da Serra do Salitre, Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, vol.61, n.1, p.266-272, 2009.

MACHADO E.C., FERREIRA C.L. L. F., FONSECA L.M., SOARES F.M., PEREIRA JÚNIOR F.N. Características físico-químicas e sensoriais do queijo minas artesanal produzido na região do Serro, Minas Gerais, **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, vol. 24, p. 516-521, 2004.

MARTINS, J. M. **Características físico-químicas e microbiológicas durante a maturação do queijo Minas artesanal da Região do Serro**. 2006. 158 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

MILLEZI, A.F.; TONIAL, T.M.; ZANELLA, J.P.; MOSCHEN, E.E.S.; ÁVILA, C.A.C.; KAISER, V.L.; HOFFMEISTER, S. Avaliação e qualidade microbiológica Das mãos de manipuladores e do agente sanitizante na indústria de alimentos. **Revista Analytica**, n.28, p. 74-79, abril/maio 2007.

MINISTÉRIO DA INTEGRAÇÃO NACIONAL - MI. Relatório final, grupo de trabalho interministerial para redelimitação do Semi-Árido nordestino e do polígono das secas. Brasília, DF. 118p. 2005.

MONTEIRO, A.A.; TAMANINI, R.; SILVA, L.C.C.; MATTOS, M.R.; MAGNANI, D.F.; D'OVIDIO, L.; NERO, L.A.; BARROS, M.A.F.; PIRES, E.M.F.; PAQUEREAU, B.P.D.; BELOTI, V. Características da produção leiteira da região do agreste do estado de Pernambuco, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, vol. 28, n. 4, p. 665-674, out./dez. 2007.

MOREIRA, J.N.; LIRA, M.A.; SANTOS, M.V.F.; FERREIRA, M.A.; SANTOS, G.F.A. Consumo e Desempenho de Vacas Guzerá e Girolando na Caatinga do Sertão Pernambucano. **Revista Caatinga** (Mossoró,Brasil), vol.20, n.3, p.13-21, julho/setembro 2007.

MURPHY, S.C.; BOOR, K.J. Troubleshooting sources and causes of high bacteria counts in raw milk. **Dairy Food Environmental Sanitation**, vol. 20, p. 606-611. 2000.

NASSU, R.T.; ARAÚJO, R. S.; BORGES, M. F.; LIMA, J.R.; MACÊDO, B.A.; LIMA, M.H.P.; BASTOS, M.S.R. Diagnóstico das condições de processamento de produtos regionais derivados do leite no Estado do Ceará, **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, n.1, dezembro 2001.

NASSU, R. T.; ARAÚJO, R. S.; GUEDES, C. G. M.; ROCHA, R. G. A. Diagnóstico das Condições de Processamento e Caracterização Físico-

Química de Queijos Regionais e Manteiga no Rio Grande do Norte. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, n.11, dezembro 2003.

NERO, L.A.; VIÇOSA, G. N.; PEREIRA, F. E. V. Qualidade microbiológica do leite determinada por características de produção. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, vol.29, n.(2), p. 386-390, 2009.

PAS Indústria. **Elementos de Apoio para o Sistema APPCC**. 2. ed. Brasília, SENAI/DN, 2000. 361 p. (Série Qualidade e Segurança Alimentar). Projeto APPCC Indústria. Convênio CNI/SENAI/SEBRAE.

PAS Mesa. **Elementos de Apoio, Boas Práticas e Sistema APPCC**. Rio de Janeiro: SENAC/DN, 2001. 282 p. (Qualidade e Segurança Alimentar). Projeto APPCC Mesa. Convênio CNC/CNI/SEBRAE/ANVISA.

PEREIRA, K. C.; SÁ, O. R.; PEREIRA, K. C. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária do queijo canastra e de sua matéria-prima produzidos na região de São Roque de Minas (MG). **Ciência et Práxis**, vol. 1, n. 2, 2008.

PERRONE, I.T. Tecnologia para a fabricação de doce de leite. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, vol.28, n.238, p. 67-74, mai/jun.2007.

PINTO, M. S.; FERREIRA, C. L. L. F.; MARTINS, J. M.; TEODORO, V. A. M.; PIRES, A. C. S.; FONTES, L. B. A.; VARGA, P. I. R. Segurança alimentar do queijo Minas artesanal do Serro, Minas Gerais, em função da adoção de boas práticas de fabricação. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, vol. 39, n. 4, p. 342-347, out./dez. 2009.

RAJAGOPAL, M.; WERNER, B.G.; HOTCHKISS, J.H. **Journal of Dairy Science**, vol. 88, n. 9, p. 3130-3138, September 2005.

REIS, G.L.; RIBEIRO, C.G.S.; SANTOS, A.K.R.; VALENTE, B.D.; PAIVA, R.M.B.; CERQUEIRA, M.M.O.P.; SANTOS, E.M.P.; SOUZA, M.R. Efeito do tipo de ordenha sobre a qualidade do leite. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 21, 2004, Juiz de Fora, MG. **Anais...**Juiz de Fora: Instituto de Laticínios Cândido Tostes, 2004. Vol.59, 488p. p.243-246.

ROSSI, E. M.; SANTOS, L. R.; RODRIGUES, L. B. SHULTZ, J.; SARDIGLIA, C. U.; CUNHA, F. B. Contagem de coliformes fecais e *Staphylococcus aureus* e pesquisa de *Salmonella* sp. e *Listeria monocytogenes* em queijos coloniais comercializados em feiras livres de São Miguel do Oeste – SC. **Higiene Alimentar**, vol. 21, n. 150, p. 126-127, 2007.

RUEGG, P. L. Practical Food Safety Interventions for Dairy Production. **Journal of Dairy Science**, vol. 86, E. Suppl.:E1–E9. 2003.

SÁ, C.O.; SÁ, J.L. ABC da Agricultura Familiar. Criação de bovinos de leite no Semi-Árido. Embrapa Semi-Árido, Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2007. **Boletim n. 17**, 60 p.

SANTANA, R. F.; SANTOS, D. M.; MARTINEZ A. C. C.; LIMA, A. S. Qualidade microbiológica de queijo-coalho comercializado em Aracaju, SE. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, vol. 60, n. 6, p.1517-1522, 2008.

SANTOS, R.D.; PEREIRA, L.G.R.; PEREIRA, F.J.C.; NEVES, A.L.A.; BRANDÃO, L.G.N.; ARAGÃO, A.S.L.; ARAÚJO, G.G.L. Indicadores zootécnicos de unidades de produção de leite no sul da Bahia. 46ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Maringá, PR, 2009.

SANTOS, M. V. Boas praticas de produção associadas a higiene de ordenha e qualidade do leite In: **O Brasil e a nova era do mercado do leite - Compreender para competir**. 1.ed. Piracicaba-SP : Agripoint Ltda, 2007, vol.1, p. 135-154.

SANTOS, J.A. (Ed.). Guia Prático da Produção | Manejo do Rebanho. SEBRAE-RJ / SENAR-RIO / FAERJ. 28 p. 2007a.

SEBRAE - SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS. Série Mercado - **Queijos Nacionais. Estudos de Mercado**. SEBRAE/ESPM, 150 p. Setembro 2008.

SEBRAE - SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS. **Diagnostico da cadeia produtiva do leite e derivados - Desenvolvimento da Bacia Leiteira da Região Tocantina e Médio Mearim**. São Luis, Maranhão, 128 p. Dezembro 2003.

SILVA, J.G. **Características físicas, físico-químicas e sensoriais do queijo Minas artesanal da Canastra**. 2007. 198 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Departamento de Ciência de Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais.

SILVA NETTO, F.G.; BRITO, L.G.; FIGUEIRO, M.R. A ordenha da vaca leiteira. **Comunicado Técnico**, n. 310. Embrapa Rondônia, Porto Velho, RO. 2006.

TOUCH, V.; DEETH, H.C. Microbiology of Raw and Market Milks. In: TAMIME, A.Y. **Milk Processing and Quality Management**. Wiley-Blackwell, USA. 2009. Cap. 3, p. 48-71.

VISSERS, M.M.M.; DRIEHUIS, F. On-Farm Hygienic Milk Production. In: TAMIME, A.Y. **Milk Processing and Quality Management**. Wiley-Blackwell, USA. 2009. Cap. 1, p. 1-22.

ZAFFARI, C. B.; MELLO, J. F.; COSTA, M. Qualidade bacteriológica de queijos artesanais comercializados em estradas do litoral norte do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, vol. 37, n. 3, p. 862-867, 2007.

ZAFALON, L.F.; POZZI, C.R.; CAMPOS, F.P.; ARCARO, J.R.P.; SARMENTO, P.; MATARAZZO, S.V. Boas práticas de ordenha. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, SP, Março, 2008. **Documento 78**, 50p.

ZEGARRA, J. J. Q.; BOTTEON, R. C. C. M.; OLIVEIRA, B. C. R. S.; BOTTEON, P. T. L.; SOUZA, M. M. Pesquisa de Microrganismos em Utensílios, Leite e Queijos de Produção Artesanal em Unidades de Produção Familiar no Município de Seropédica, Rio de Janeiro. **Ciência Animal Brasileira**, vol. 10, n. 1, p. 312-321, jan./mar. 2009.

Capítulo III - CONTAGEM E ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS PROVENIENTES DO LEITE CRU, SUPERFÍCIES DOS UTENSÍLIOS E DO REQUEIJÃO DO SERTÃO PRODUZIDO NA MICRORREGIÃO DE GUANAMBI, SUDOESTE BAIANO, BRASIL

RESUMO

Foi realizada a avaliação da microbiota láctea autóctone na cadeia produtiva do Requeijão do Sertão a partir de 30 amostras provenientes de leite cru, de superfícies de utensílios e de requeijão. Os isolados foram enumerados e obtidos dos meios de cultura M17 e MRS incubados a 30 °C e 37 °C por 48 e 72 horas. Um total de 935 isolados foi obtido, dos quais 782 apresentaram características fenotípicas de bactérias ácido lácticas. A característica tecnológica para fermentação do leite pelos isolados foi testado pelo teste da lactofermentação. Potencialmente, estes isolados podem ser utilizados para o desenvolvimento de novos fermentos lácticos e produtos alimentares seguros e inovadores quanto às características organolépticas.

Palavras-chave: Leite cru, biofilme, requeijão, bactérias ácido lácticas, fermento láctico.

1. INTRODUÇÃO

Existem vários tipos de produtos lácteos fermentados em todo o mundo. A natureza microbiológica destes produtos depende do leite, do ambiente, do pré-tratamento, e das condições de fermentação e processamentos subsequentes (Nip, 2004; Robinson & Tamime, 2006). Pesquisas têm buscado selecionar microrganismos autóctones da microbiota do leite cru e de queijos artesanais, objetivando a obtenção de culturas iniciadoras e secundárias para

serem adicionadas ao leite tratado termicamente e destinado à produção de queijos e outros derivados lácteos (Marino et al., 2003; Macedo et al., 2004; Menéndez et al., 2004; Carvalho, 2007).

As bactérias ácido lácticas (BAL) são os principais constituintes da microbiota de leite e derivados. O grupo das BAL é caracterizado por ser heterogêneo e composto principalmente por bactérias dos gêneros *Aerococcus*, *Atopobium*, *Bifidobacterium*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weissella* (Fox et al., 2000; Jay et al., 2005).

Para serem utilizadas como culturas iniciadoras as cepas isoladas devem possuir algumas características como a produção de ácido láctico, compostos orgânicos, enzimas como proteases e lipases, bacteriocinas e serem insensíveis ao ataque de fagos (Allison & Klaenhammer, 1998; Mcgrath et al., 2002; Quiberoni et al., 2003; Perry, 2004; Herreros et al., 2005; Ammor et al., 2006; González et al., 2007; Bruno & Gasparin, 2009), o que justifica diversos estudos com esse grupo de microrganismos (Mannu et al., 2002; Caridi et al., 2003; Marino et al., 2003; Souza et al., 2003; Ghrairi et al., 2004; Guedes Neto et al., 2005; Ayad et al., 2006; Madrau et al., 2006; Zamfir et al., 2006; Carvalho, 2007; Vernile et al. 2008; Lima et al., 2009).

Os estudos da microbiota láctica de queijos artesanais preservam a biodiversidade desses produtos cujas características típicas estão vinculadas às tradições locais e regionais. Estes estudos são a base para a seleção de novas cepas a serem usadas como culturas específicas para produção em escala industrial e controlada de queijos tradicionais. O isolamento e utilização dessas cepas em conjunto com fermentos comerciais visam à melhora da qualidade sensorial desses produtos nos laticínios, sem comprometer as características originais do produto tradicional, elaborado com leite cru (Caridi et al., 2003; Durlu-Ozkaya et al., 2001). Entretanto, o uso generalizado de fermento láctico comercial em queijos fabricados em grande escala a partir do leite pasteurizado tem como consequência uma baixa variabilidade de microbiota e perda de algumas características peculiares de vários tipos de queijos (Marino et al., 2003; Macedo et al., 2004). A substituição integral da complexa microbiota autóctone presente no leite cru, por fermentos lácticos

comerciais uniformes, conduzem a uma padronização do produto sem características sensoriais e reológicas diferenciais (Macedo et al., 2004).

No Brasil a produção artesanal de queijos ocorre desde o século XVIII, e atualmente existe a preocupação em preservar algumas técnicas de fabricação que desempenham um importante papel social, econômico e cultural. BAL têm sido isoladas de leite e queijos artesanais em diferentes regiões brasileiras, selecionando microrganismos de interesse na fabricação de produtos lácteos de qualidade (Souza et al., 2003; Carvalho, 2007; Lima et al., 2009). O requeijão do Sertão é um tipo de queijo tradicional muito comum na Microrregião de Guanambi, Bahia. Por ser produzido a partir de leite cru, o processo fermentativo é natural, sem a adição de fermento láctico.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Bactérias Ácido Lácticas

Os produtos lácteos carregam uma microbiota autóctone que desempenha importantes funções no desenvolvimento de suas características sensoriais e na promoção da saúde humana. Esta microbiota, representada principalmente pelo grupo das BAL, tem sido pesquisada objetivando a descoberta de culturas lácticas adequadas para a fabricação de determinados produtos (Bruno & Gasparin, 2009). Essas culturas, devido à capacidade de produzir ácidos, enzimas e outras substâncias, interferem diretamente nas características sensoriais, reológicas, qualidade e segurança dos alimentos (Wouters et al., 2002; König & Frohlich, 2009). Preferencialmente, as culturas selecionadas devem apresentar características como a produção de bacteriocinas (Herreros et al., 2005; Ammor et al., 2006; González et al., 2007; Bruno & Gasparin, 2009) e atividades prebióticas e probióticas (Vinderola et al., 2002; Tamime et al., 2005; Bruno & Gasparin, 2009).

As BAL estão amplamente distribuídas na natureza e predominam na microbiota de alimentos ricos em carboidratos, proteínas e vitaminas, como leite, queijo, carne, frutas e vegetais (López-Díaz et al., 2000; Hassan & Frank, 2001; Requena & Peláez, 2009). Estas culturas são chamadas de iniciadoras, pois iniciam o processo de fermentação dos produtos lácteos pela produção

rápida de ácido láctico a partir da lactose. Pela produção desse metabólito elas também são chamadas de culturas lácticas (Fox et al., 2000; Parente et al., 2004). Em geral, BAL possuem as seguintes características fenotípicas: são Gram positivas, têm morfologia de cocos ou bacilos, não formam esporos, não produzem catalase, oxidase ou gelatinase, não reduzem nitrato a nitrito, se desenvolvem em condições anaeróbias, mas são tolerantes ao O₂, sendo chamadas de microaerófilas (Klein et al., 1998; Fox et al., 2000; Hassan & Frank, 2001; Adams & Moss, 2005; Bamforth, 2005; Hutkins, 2006; Patil et al., 2010). BAL apresentam-se geralmente em colônias pequenas, com rara produção de pigmentos (Karna et al., 2007; Aziz et al., 2009) que quando presente, podem ser de cores como bege e amarela (Zamfir et al., 2006; Karna et al., 2007).

BAL são constituídas por muitos gêneros, que são agrupados em homofermentativas ou heterofermentativas, dependendo do produto ou produtos finais da fermentação formados a partir de glicose. As homofermentativas produzem ácido láctico como o principal produto da fermentação da glicose, enquanto que as heterofermentativas produzem, além de ácido láctico, substâncias como dióxido de carbono, ácido acético, etanol, aldeído e diacetil (Fox et al., 2000; Beresford & Williams, 2004; Parente et al., 2004; Adams & Moss, 2005; Bamforth, 2005; Jay et al., 2005; Hutkins, 2006; König & Frohlich, 2009).

BAL são classificadas também de acordo com a temperatura de crescimento em mesofílicas ou termofílicas. As mesofílicas multiplicam a uma temperatura ótima por volta de 30 °C e as termofílicas multiplicam a uma temperatura ótima de 37 °C (Wehr & Frank, 2004; Tamime et al., 2006; Hoier et al., 2010), 43 °C (Fox et al., 2000; Lortal, et al., 2009) ou 45 °C (Mannu et al., 2002; Caridi, 2003).

O grupo das BAL tem sido desmembrado para constituir novos gêneros, reagrupados e renomeados. Os mais importantes gêneros são *Aerococcus*, *Atopobium*, *Bifidobacterium*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weissella* (Fox et al., 2000; Jay et al., 2005). Destes gêneros, cinco são comumente encontrados em queijos: *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* e *Streptococcus* (Fox et al., 2000; Beresford et al.,

2001; Hassan & Frank, 2001; Perry, 2004; Hoier et al., 2010). A Tabela 1 mostra gêneros de BAL de acordo com sua morfologia, temperatura de multiplicação, produto formado e tipo de fermentação.

Tabela 1. Diferenciação quanto à morfologia, temperatura de multiplicação e produtos formados pelos gêneros de BAL presentes em queijos.

Gêneros	Morfologia	Temp. ótima crescimento	Tipo de ác. lático formado	Fermentação de açúcar
<i>Lactococcus</i>	Cocos/ cadeias	30°C	L(+)	Homo
<i>Streptococcus</i>	Cocos/ cadeias	42°C	L(+)	Homo
<i>Enterococcus</i>	Cocos/ cadeias	42°C	L(+)	Homo
<i>Leuconostoc</i>	Cocos/ pares	30°C	D(-)	Hetero
<i>Lactobacillus</i>	Bastões/ pares	30 e 42°C	D(-), L(+) e DL	Homo/ hetero

Fonte: Adaptado de Fox et al. (2000); Axelsson (2004) e Hutkins (2006).

A microbiota do queijo é dividida em dois grupos. Grupo primário que inclui as BAL e grupo secundário que inclui as non-starter lactic acid bactéria (NSLAB), bactérias do ácido propiônico (PAB), fungos filamentosos e leveduras (Beresford et al., 2001; Beresford & Williams, 2004; Parente et al., 2004; Adams & Moss, 2005).

As BAL acidificantes em termos industriais podem ser definidas como isolados, que produzem ácido suficiente para reduzir o pH do leite abaixo de 5,3 em 6 horas entre 30 e 37°C (Beresford et al., 2001).

O papel das BAL na fermentação de alimentos é duplo. Por um lado elas contribuem para a extensão da vida útil do alimento, geralmente por causa da degradação dos carboidratos presentes na matéria-prima, causando uma diminuição do pH e tornando o meio inadequado para a multiplicação da maioria dos microrganismos deterioradores e patogênicos. Além disso, algumas BAL produzem bacteriocinas, que possuem atividade antimicrobiana contra outras bactérias Gram-positivas. (Madera et al., 2003; Adams & Moss, 2005). Por outro lado, as BAL modificam as propriedades reológicas e organolépticas do produto pelo acúmulo de ácido produzido, em um processo que é complementado pela produção de enzimas hidrolíticas, principalmente

proteínases e peptidases e, em menor quantidade, de lipases e esterases (Madera et al., 2003).

No caso específico das BAL heterofermentativas, sua utilização em alimentos é justificada pela capacidade em produzir compostos flavorizantes como diacetil e 2-3 butilenoglicol (Adams & Moss, 2005; Hutkins, 2006).

2.2. Fermento láctico

Vários tipos de produtos lácteos fermentados existem em todo o mundo. A natureza microbiológica destes produtos depende do tipo de leite usado, do ambiente, do pré-tratamento, e das condições de fermentação e processamento subsequentes (Nip, 2004; Robinson & Tamime, 2006). A fermentação espontânea devido à presença de microbiota autóctone no leite, principalmente BAL, é responsável pela origem da maioria desses produtos (Robinson & Tamime, 2006).

Historicamente os produtos lácteos fermentados foram produzidos para prolongar a vida de prateleira do leite (Adams & Moss, 2005; Robinson & Tamime, 2006). Estes alimentos tradicionais têm persistido ao longo dos séculos e evoluíram da fabricação caseira, de maneira tradicional e artesanal para a produção em grande escala, industrial, utilizando fermentos específicos e modernos equipamentos (Oberman & Libudzisz, 1998).

O uso de fermentos industriais melhorou a qualidade tecnológica e inocuidade dos produtos lácteos. Porém, limitou a biodiversidade e a variação organoléptica dos produtos finais (Leroy & De Vuyst, 2004). Neste sentido, existe uma demanda crescente por novas cepas bacterianas que determinem alterações desejáveis no leite resultando em características sensoriais específicas dos produtos finais (Fortina et al., 2003). Produtos lácteos fabricados de maneira artesanal são as principais fontes destas estirpes de microrganismos (Leroy & De Vuyst, 2004). A fermentação do leite por bactérias específicas induz alterações no sabor, textura, cor e propriedades nutricionais, fornecendo uma ampla variedade de produtos finais (Oberman & Libudzisz, 1998; Duboc & Mollet, 2001; Zamfir et al., 2006)

O fermento láctico pode ser definido como uma preparação microbiana contendo um ou vários gêneros e espécies de BAL em alta concentração. Sua principal função é promover uma acidificação rápida durante o processo

fermentativo e assim garantir a segurança do alimento (Beresford & Williams, 2004; Leroy & De Vuyst, 2004). O fermento láctico também tem a finalidade de contribuir para o desenvolvimento das características sensoriais desejadas no produto e oferecer benefícios à saúde do consumidor, como os proporcionados pelos prebióticos e/ou probióticos (Hassan & Frank, 2001; Beresford & Williams, 2004; Adams & Moss, 2005; Hutkins, 2006; Requena & Peláez, 2009).

O emprego de BAL, na forma de fermento láctico, para elaboração de produtos lácteos fermentados é muito conhecido, principalmente na fabricação de leites fermentados (Furet et al., 2004; Savadogo et al., 2004), iogurte (Park & Oh, 2007; Mazahreh & Ershidat, 2009) e queijos (Cogan et al., 1997; Parente et al., 1997; Estepar et al., 1999; Giraffa et al. 1999; Coppola et al., 2000; Lopez-Díaz et al., 2000; Pérez et al., 2000; Tserovska et al., 2000-2002; Menéndez et al. 2001; Alonso-Calleja et al., 2002; Bouton et al., 2002 ; Fortina et al., 2003; Manolopoulou et al., 2003; Mannu et al., 2002; Caridi et al., 2003; Marino et al., 2003 ; Souza et al., 2003; Ghrairi et al., 2004; Guedes Neto et al., 2005 ; Ayad et al., 2006; Madrau et al., 2006 ; Zamfir et al., 2006; Carvalho, 2007 ; Vernile et al. 2008; Lima et al., 2009). No entanto, BAL também são usadas no processamento de carnes (Hutkins, 2006; Lengkey et al., 2009; Vignolo et al., 2010), bebidas alcoólicas (Inês et al., 2008; Inês et al., 2009), cereais (Tieking et al., 2003; Valdez et al., 2010) e frutas e vegetais (Allende et al., 2007; Trias et al., 2008).

Os fermentos lácticos procuram reproduzir a microbiota láctica de queijos e, portanto, são compostos de BAL iniciadoras e microrganismos secundários. BAL iniciadoras são responsáveis pela produção de ácido durante a elaboração do queijo e contribuem para o processo de maturação. Os microrganismos secundários, que não fazem parte do fermento como as NSLAB, estão geralmente, envolvidos na definição das características sensoriais do queijo (Beresford et al., 2001; Beresford & Williams, 2004).

Várias pesquisas têm caracterizado a microbiota de diversos queijos artesanais, visando à identificação, quantificação e diversidade dos principais grupos microbianos, estabelecendo o papel destes microrganismos no desenvolvimento das características sensoriais destes queijos que são produzidos a partir de leite cru de vaca, cabra e/ou ovelha, nos quais se

observa uma grande variedade de microrganismos (Cogan et al., 1997; Parente et al., 1997; Estepar et al., 1999; Giraffa et al. 1999; Coppola et al., 2000; Lopez-Díaz et al., 2000; Pérez et al., 2000; Tserovska et al., 2000-2002; Menéndez et al. 2001; Alonso-Calleja et al., 2002; Bouton et al., 2002 ; Fortina et al., 2003; Manolopoulou et al., 2003; Mannu et al., 2002; Caridi et al., 2003; Marino et al., 2003 ; Souza et al., 2003; Ghrairi et al., 2004; Guedes Neto et al., 2005 ; Ayad et al., 2006; Madrau et al., 2006 ; Zamfir et al., 2006; Carvalho, 2007 ; Vernile et al. 2008; Lima et al., 2009).

Alguns tipos específicos de queijos são produzidos a partir do processo de fermentação pela microbiota autóctone do leite cru, sem adições, como o Pecorino Sardo (Itália) e o Majorero (Espanha). Por esta razão várias pesquisas com esses produtos são realizadas, visando à identificação das principais culturas de BAL responsáveis pela produção e desenvolvimento de suas características sensoriais típicas (Beresford et al., 2001; Perry, 2004).

Além do leite cru, a microbiota presente nos biofilmes de equipamentos e utensílios também exerce papel importante nas características sensoriais de queijos artesanais (Mariani et al., 2007, Licitra et al., 2007 e Lortal et al., 2009). Na Itália, Lortal et al. (2009) trabalhando com queijo Ragusano, fabricado a partir de leite cru e sem adição de fermento comercial, mostraram que a origem do ácido láctico produzido advém da microbiota do leite e da microbiota liberada do biofilme das tinas de madeira utilizadas na fabricação.

O objetivo do trabalho foi isolar bactérias do ácido láctico provenientes do leite cru, superfícies dos utensílios e do requeijão oriundos da cadeia produtiva do Requeijão do Sertão produzido na Microrregião de Guanambi localizada no Sudoeste do Estado da Bahia, Brasil.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Avaliação da Microbiota Láctica

3.1.1. Coleta e preparo das amostras

As amostras foram coletadas de 10 produtores de requeijão da Microrregião de Guanambi, estado da Bahia. De cada produtor foram coletadas

amostras de leite cru, superfícies de utensílios e de requeijão. A Tabela 2 mostra os equipamentos/utensílios amostrados.

Tabela 2. Utensílios usados na fabricação de Requeijão do Sertão amostrados para contagem e isolamento de bactérias do ácido láctico e especificações de coleta.

Equipamento	Área	Ponto da coleta	n
Tonel de plástico	100 cm ²	Fundo e paredes internas	2
Bacia plástica	100 cm ²	Fundo e paredes internas	2
Colher de madeira	25 cm ²	Superfície interna e externa	2
Formas polipropileno	25 cm ²	Superfície interna	2
Formas de plástico	25 cm ²	Superfície interna	2

n = número de amostras

As amostras de leite cru foram coletadas em frascos de diluição. Cada amostra de leite cru era representativa do leite como um todo usado na produção do requeijão (do próprio produtor e/ou de terceiros). As coletas aconteceram imediatamente antes da fabricação, sendo acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo, e transportadas para o Laboratório do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano (IF Baiano), Campus Guanambi, para análise.

Dez mililitros (mL) de leite foram homogeneizados com 90 mL de água peptonada (Merk) estéril a 0,1% para obter uma diluição de 1:10. E, a partir desta, foram preparadas diluições decimais seriadas, empregando-se o mesmo diluente (Hall et al., 2001; Frank & Yousef, 2004) e posteriormente foram realizadas análises microbiológicas.

Amostras superficiais de equipamentos e utensílios de produção do requeijão foram coletadas dos 10 produtores selecionados, conforme Tabela 2. As amostras das diferentes propriedades foram retiradas seguindo a mesma técnica.

Moldes plásticos estéreis foram utilizados para delimitar a área de 100 ou 25 cm² (Silva et al., 2007). Amostras superficiais dos tonéis e bacias plásticas, formas (polipropileno e plásticas) e colheres de madeira foram obtidas com a utilização de *swabs* individuais estéreis através de esfregaço,

que foram acondicionados em frascos contendo 10 mL de água peptonada (Merk) estéreis a 0,1 % (m/v). Os mesmos foram transportados em caixas isotérmicas contendo gelo para o Laboratório do IF Baiano, Campus Guanambi, para análise.

E, a partir destes, foram preparadas diluições decimais seriadas, empregando-se o mesmo diluente (Hall et al., 2001; Frank & Yousef, 2004) e posteriormente foram realizadas análises microbiológicas.

As amostras de requeijão foram obtidas no local de produção, logo após a fabricação, etiquetadas, acondicionadas em bandejas e mantidas em temperatura ambiente, simulando as condições de comercialização do produto. Foram analisadas em até 48 horas após a fabricação. Para a realização das análises microbiológicas do requeijão, porções das amostras foram retiradas em forma de cunha delgada com remoção da casca seguindo determinações da *Association of Analytical Communities* (AOAC) (AOAC, 1998) no seu método de referência número 920.122. Após a retirada das porções das amostras de requeijão, pesou-se assepticamente 25g de cada amostra em um saco plástico esterilizado. Foi realizada uma primeira diluição das amostras homogeneizando-as por 30 segundos em 225 mL de água peptonada (Merk) estéril a 0,1% em *Stomacher*. E, a partir desta, foram preparadas diluições decimais seriadas, empregando-se o mesmo diluente (Hall et al., 2001; Frank & Yousef, 2004).

3.1.2. Identificação das amostras

Cada amostra de leite, superfícies de utensílios e de requeijão foi identificada com uma letra do alfabeto indicando o produtor como mostra a Tabela 3.

3.1.3. Contagem e isolamento de bactérias ácido lácticas

A contagem e o isolamento das BAL foram efetuados após a inoculação de 0,1 mL das diluições das amostras, em duplicata, pelo método *spread-plate* (Adams & Moss, 2005a; Lee, 2009) nos meios de cultura M17 (Oxoid) e Man, Rogosa e Sharpe (MRS) (Difco) com 1,5 % de Ágar-ágar (Merk), em placa de Petri descartável (90-15 mm).

O meio M17 contendo 5 % de lactose foi utilizado para o isolamento de microrganismos na forma de cocos (Caridi et al., 2003; Marino et al., 2003), sendo as placas incubadas em aerobiose a 30 e 37 °C durante 48 horas com a finalidade de selecionar bactérias mesofílicas (Frank & Yousef, 2004; IDF, 1997; Llenez et al., 2005; Requena & Peláez, 2009).

Tabela 3. Identificação das amostras de leite, superfície de utensílios e Requeijão do Sertão da Microrregião de Guanambi, Bahia.

Produtor	L ¹	E ²	R ³
A	LA	EA	RA
B	LB	EB	RB
C	LC	EC	RC
D	LD	ED	RD
E	LE	EE	RE
F	LF	EF	RF
G	LG	EG	RG
H	LH	EH	RH
I	LI	EI	RI
J	LJ	EJ	RJ

¹L = leite

²E = equipamentos

³R = requeijão

O meio MRS foi acidificado com ácido acético glacial para atingir o pH de 5,4 com a finalidade de isolar lactobacilos (Caridi et al., 2003; Marino et al., 2003; Requena & Peláez, 2009). Foi ainda acrescentado 0,1 % de Tween 80 como emulsificante, o qual interfere na permeabilidade da membrana celular proporcionando uma melhora na captação de nutrientes pelo corpo celular (Nikkilä et al., 1995; Adhikari et al., 2003; Taoka et al., 2008). As placas com o meio foram incubadas nas temperaturas de 30 e 37 °C durante 72 horas com a finalidade de selecionar bactérias mesofílicas (Frank & Yousef, 2004; Llenez et al., 2005; Requena & Peláez, 2009; Ali et al., 2010). Na temperatura de 30°C as placas foram incubadas em anaerobiose (IDF, 1997; Requena & Peláez, 2009) com o uso de jarra de anaerobiose (Probac). Na temperatura de 37 °C as

placas foram incubadas em aerobiose (Frank & Yousef, 2004; IDF, 1997; Llanez et al., 2005; Requena & Peláez, 2009).

Uma contagem presuntiva das Unidades Formadoras de Colônias (UFC) foi realizada nas placas com os dois meios de cultura que apresentaram entre 25 e 250 colônias e os números expressos em UFC g⁻¹ ou UFC mL⁻¹ (Adams & Moss, 2005a; McCartney, 2006; Lee, 2009). Desvios padrão e valores médios foram calculados com base no programa de computador Statistical Analysis System (SAS) (SAS, 2001).

3.1.4. Purificação das bactérias ácido lácticas

A partir das placas utilizadas para a contagem de BAL, colônias com diferentes morfotipos, cores e tamanhos em número correspondente à raiz quadrada da contagem obtida foram selecionadas (Sánchez et al., 2000; Karna et al., 2007). Foram isoladas 935 colônias provenientes das 30 amostras que foram originadas de acordo com o organograma da Figura 1.

As 935 colônias foram inoculadas nos mesmos caldos e condições de incubação a que foram submetidas anteriormente durante 48 horas, até atingirem turbidez que é indicativo de multiplicação para a obtenção de culturas puras. Então, 10 µL de cada cultura foram estriados em placas contendo agar M17 (Oxoid) ou MRS (Difco) e incubados nas mesmas condições descritas anteriormente. Após incubação, uma colônia isolada de cada cultura foi transferida para tubos contendo os caldos M17 (Oxoid) ou MRS (Difco) e incubadas a 30 e 37 °C até atingirem turbidez e então submetidas aos testes de confirmação: coloração de Gram, morfologia das células, reação de atividade da catalase e lactofermentação. Os microrganismos Gram positivos, catalase negativa, na forma de cocos ou bacilos foram considerados BAL (Hall et al., 2001; Ashmaig et al., 2009; Bruno & Gasparin, 2009).

As culturas puras dos isolados foram mantidas congeladas à temperatura de -20°C no meio de crescimento adicionadas de glicerol a 30 % estéril. A mistura foi feita na proporção de 1:1 com glicerol-caldo MRS ou glicerol-caldo M17, para posterior caracterização (Bouton et al., 2002; Vernile et al., 2008).

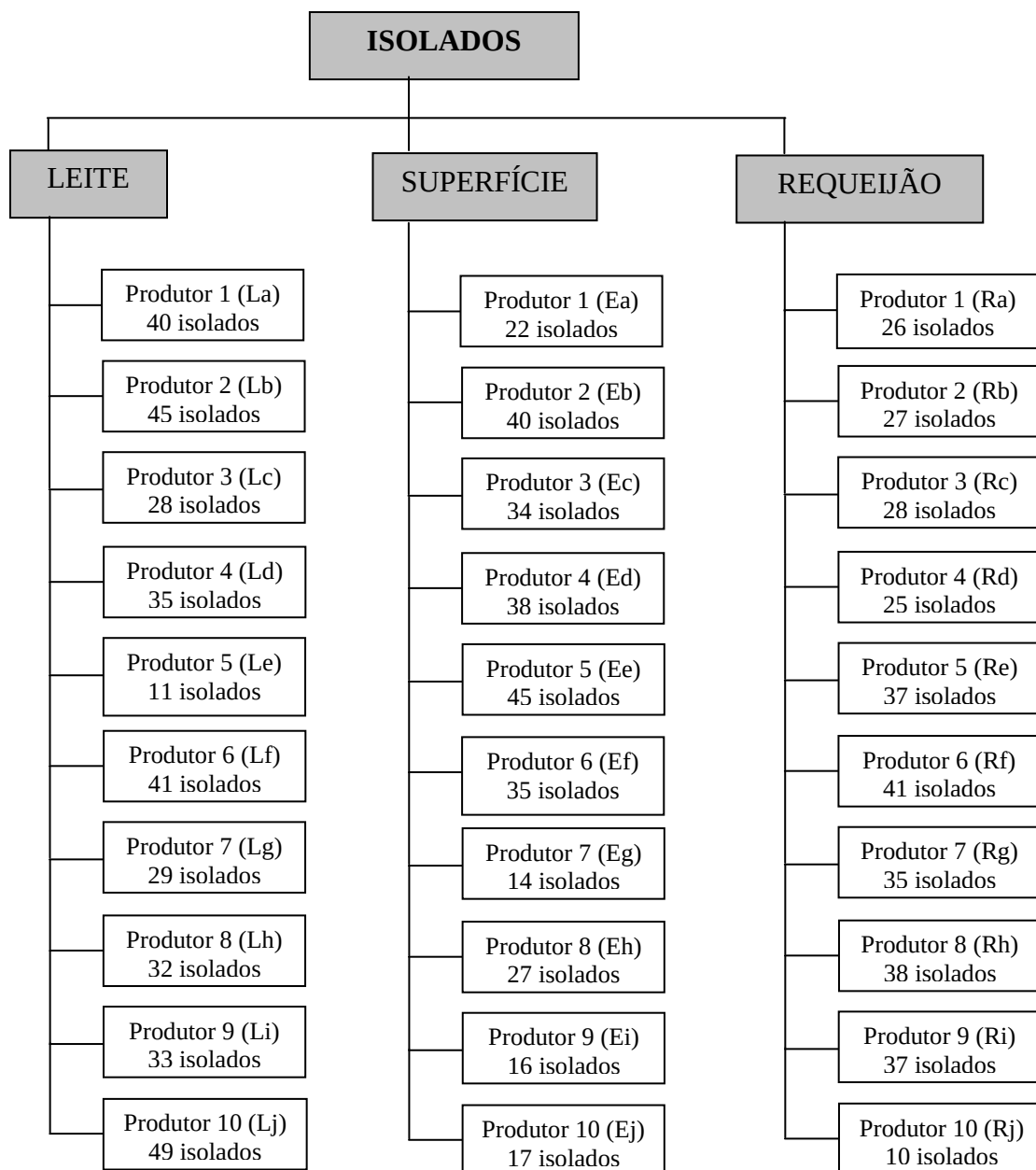


Figura 1. Organograma para obtenção dos isolados de bactérias do ácido lático avaliados a partir do leite cru, superfícies de utensílios e Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia.

3.1.5. Confirmação das bactérias ácido lácticas

Os 935 isolados foram caracterizados morfológicamente pela coloração de Gram e testados quanto à presença da catalase segundo Tortora et al. (2005).

Todos os isolados foram caracterizados quanto ao perfil de lactofermentação, de acordo metodologia adaptada de Behmer (1984) e Bramley e McKinnon (1990). Tubos rosqueados com um volume de 10 mL de leite em pó desnatado reconstituído a 10 % (m/v), esterilizados em autoclave a 121 °C por 15 minutos foram inoculados com 20 µL das culturas de BAL, com cada um dos dois meios de cultura, e então incubadas a 37 °C por até 48 horas. Os resultados foram interpretados observando-se o tipo de coágulo formado:

- **Coágulo Gelatinoso** (uniforme e gelatinoso): proveniente da fermentação láctica;
- **Coágulo Esfacelado** (esfacelado ou esponjoso): com produção de ácido e gás, com soro claro e abundante proveniente de fermentação pseudoláctica;
- **Coágulo Caseoso** (que se contrai de um lado ou em todo contorno, com soro claro ou leitoso): proveniente de fermentação proteolítica;
- **Coágulo Mole** (de consistência amolecida, mas não líquida): proveniente de fermentação de origem inespecífica;
- **Sem Coágulo** (ausência de coagulação): indica impossibilidade de multiplicação de microrganismos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. População de bactérias ácido lácticas

A população de BAL isolada nos meios de cultura M17 e MRS e nas temperaturas de incubação de 30 °C e de 37 °C para o leite, superfícies de utensílios e requeijão pode ser observada nas Figuras 2, 3 e 4, respectivamente.

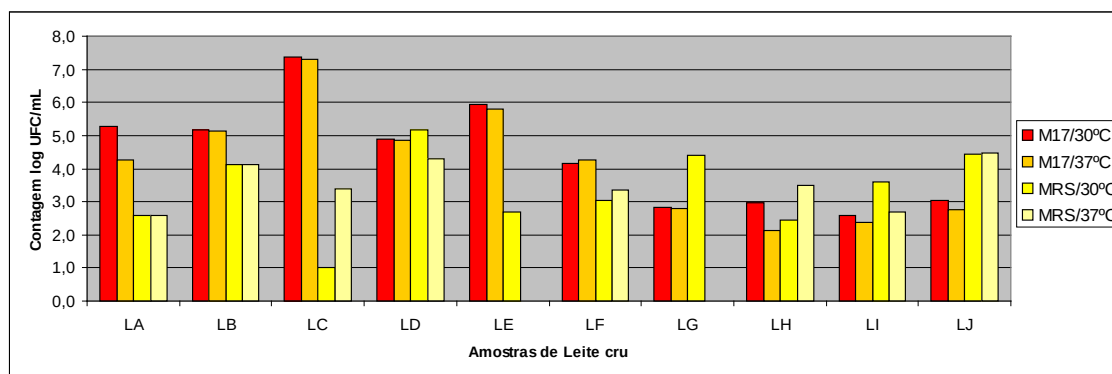


Figura 2. Contagem de bactérias ácido lácticas em log UFC mL⁻¹ isoladas de amostras de leite cru da Microrregião de Guanambi, Bahia, em meios M17 e MRS às temperaturas de 30 °C e 37 °C.

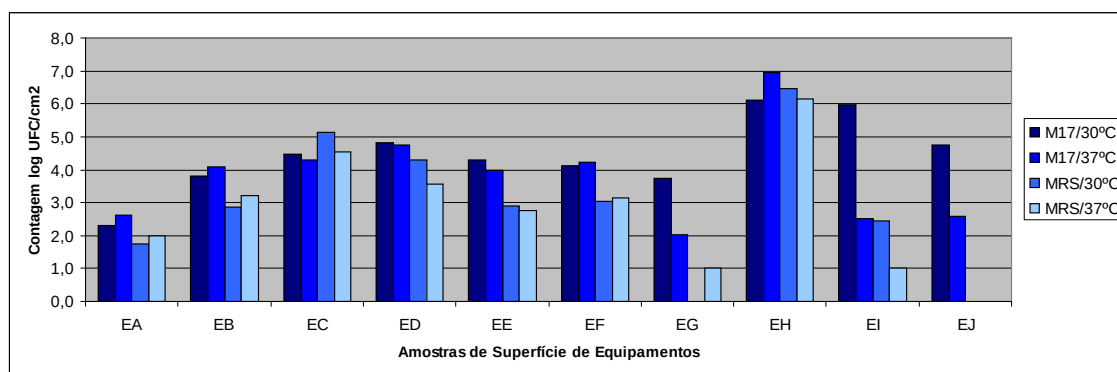


Figura 3. Contagem de bactérias ácido lácticas em log UFC cm⁻² isoladas de amostras de superfícies de utensílios da Microrregião de Guanambi, Bahia, em meios M17 e MRS às temperaturas de 30 °C e 37 °C.

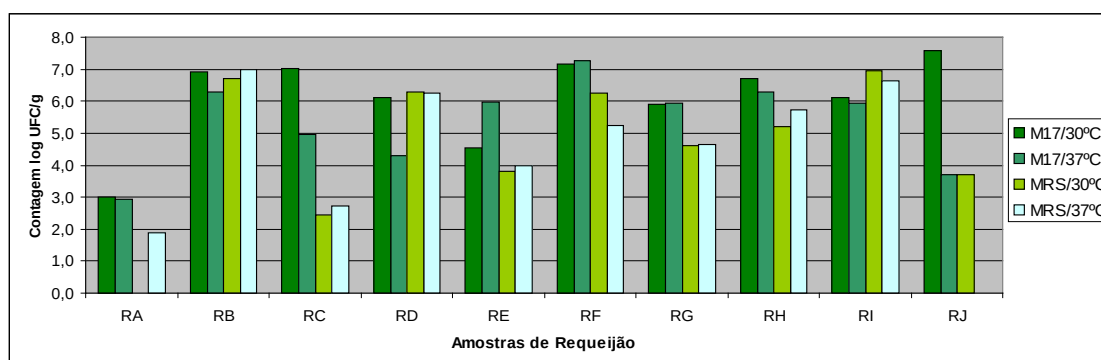


Figura 4. Contagem de bactérias ácido lácticas em log UFC g⁻¹ isoladas de amostras de Requeijão do Sertão da Microrregião de Guanambi, Bahia, em meios M17 e MRS às temperaturas de 30 °C e 37 °C.

Para os três tipos de amostras (leite cru, superfícies de utensílios e requeijão) ambos os meios permitiram um bom desenvolvimento microbiano nas temperaturas empregadas. Porém, o meio M17 apresentou contagens médias superiores de UFC (10^5 a 10^7 UFC g⁻¹ ou cm⁻² ou mL⁻¹) em comparação ao meio MRS (10^3 a 10^6 UFC g⁻¹ ou cm⁻² ou mL⁻¹), indicando predominância de cocos. Fortina et al. (2003) e Psoni et al. (2003) também detectaram maiores contagens com o meio M17 (10^5 a 10^6 e 10^7 UFC g⁻¹ respectivamente) durante a avaliação microbiológica dos queijos artesanais italiano Toma piemontese e do grego Batzos. Lortal et al. (2009) encontraram resultados semelhantes com contagem total variando de 10^3 a 10^6 UFC cm⁻² em amostras de biofilme de tina de madeira utilizada na fabricação do queijo siliciano Ragusano.

A Tabela 4 mostra o Log da contagem das BAL em amostras de leite, superfícies de utensílios e requeijão nos meios M17 e MRS nas temperaturas de 30°C e 37°C.

Ocorreu variação na média da contagem de BAL nas amostras de leite, superfícies de utensílios e de requeijão nos meios e temperaturas estudados. Nas amostras de requeijão a contagem foi superior às das amostras de leite e superfícies de utensílios para os dois meios e temperaturas utilizados (Tabela 4).

Tabela 4. Contagem média e desvio padrão ($\bar{X} \pm \delta$) de bactérias ácido lácticas em log UFC g⁻¹ ou cm⁻² ou mL⁻¹ isoladas de amostras de leite, superfícies de utensílios e Requeijão do Sertão em meios M17 e MRS às temperaturas de 30°C e 37°C, da Microrregião de Guanambi, Bahia.

Amostras	M17 (30°C)	M17 (37°C)	MRS (30°C)	MRS (37°C)
Leite*	4,4 ± 1,6	4,2 ± 1,7	3,4 ± 1,2	2,8 ± 1,6
Superfície **	4,4 ± 1,1	3,8 ± 1,4	2,9 ± 2,0	2,7 ± 1,8
Requeijão***	6,1 ± 1,4	5,4 ± 1,3	4,6 ± 2,2	4,4 ± 2,3

* UFC mL⁻¹

** UFC cm⁻²

*** UFC g⁻¹

Em nenhum dos meios de cultura as amostras apresentaram médias de contagens viáveis acima de 10^8 UFC (mL⁻¹, g⁻¹, cm⁻²), sendo que 30,83 % das amostras mostraram uma contagem entre 10^5 a 10^7 UFC (mL⁻¹, g⁻¹, cm⁻²) e em

5,0 % das amostras não foram observadas colônias visíveis. Segundo Beresford (2001) isolados de BAL produzem ácido suficiente para reduzir o pH do leite abaixo de 5,3 em 6 horas na temperatura de 30-37°C. BAL desenvolvem durante a fermentação e, normalmente, atingem concentrações de 10^8 UFC mL⁻¹ nas horas iniciais do processo de fabricação. Teuber (1995) afirma que este é o número aproximado de células viáveis necessárias para realizar a coagulação ácida do leite.

4.2. Confirmação das bactérias ácido lácticas

4.2.1. Exame morfológico e coloração de Gram

A distribuição dos microrganismos isolados na forma de coco, cocobacilo, bacilo, lâminas contaminadas e lâminas sem crescimento das amostras de leite, superfícies de utensílios e de requeijão pode ser observada na Figura 5.

Dos 935 isolados que foram submetidas à coloração de Gram, 107 isolados foram eliminados (56 lâminas que continham microrganismos Gram negativos, 32 lâminas que apresentaram células com mais de uma forma e 19 lâminas não apresentaram crescimento). Os 828 isolados puros restantes incluem 696 na forma de cocos e cocobacilos e 132 na forma de bacilos (Tabela 5).

A forma de cocos foi mais frequente dentre os microrganismos isolados para todas as amostras (72,3%), o que era esperado, pois os gêneros com a forma de coco predominam na microbiota láctica de leite e queijos (Fox et al., 2000; Hassan & Frank, 2001; Tamime, 2002; Adams & Moss, 2005; Bamforth, 2005; Hutkins, 2006).

Cogan et al. (1997); Estepar et al. (1999); López-Díaz (2000); Menéndez et al. (2001); Caridi et al. (2003); Fortina et al. (2003); Manopoulou et al. (2003); Madrau et al. (2006); Zamfir et al. (2006); e, Carvalho (2007) ao avaliarem a biodiversidade de produtos lácteos também visualizaram em sua maioria a forma de cocos com predominância de *Lactococcus* e *Enterococcus*. Segundo Jay (2005) o gênero *Lactococcus* geralmente compõe cerca de 90% da população de microrganismos de uma cultura mista encontrada em leite cru.

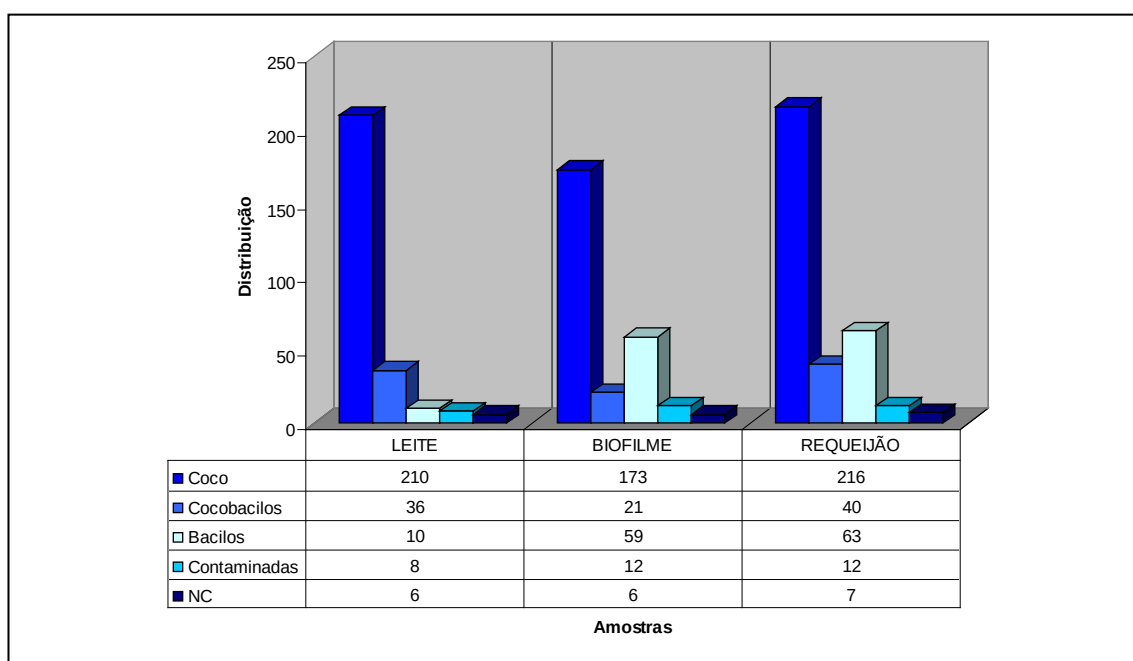


Figura 5. Distribuição dos microrganismos na forma de cocos, cocobacilos, bacilos, lâminas contaminadas (Contaminadas) e lâminas com microrganismos não cultiváveis (NC) isolados das amostras de leite, superfícies de utensílios e Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia.

Tabela 5. Morfologia dos microrganismos nos meios de cultura M17 e MRS às temperaturas de 30 °C e 37 °C, isolados das amostras de leite, superfícies de utensílios e Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia.

Morfologia	M17 (30°C)	M17 (37°C)	MRS (30°C)	MRS (37°C)
Cocos	253	259	93	91
Bacilos	0	0	43	89
Não BAL	20	23	7	6

Nas amostras coletadas das superfícies dos utensílios e do requeijão ocorreu uma maior quantidade de isolados na forma de bacilos em relação à amostra de leite (7,12%, 7,61% e 1,2%, respectivamente). Esta situação ocorreu devido à capacidade dos lactobacilos se desenvolverem em pH mais baixo. Dentre as BAL, o gênero *Lactobacillus* é o mais tolerante ao meio ácido. No leite, iniciam a multiplicação preferencialmente, em pH próximo de 5,5 a 6,2,

reduzindo-o para valores abaixo de 4,0 (Hassan & Frank, 2001; Hutkins, 2006; Requena & Peláez, 2009).

O gênero *Lactobacillus* também é tolerante a altas temperaturas (Hassan & Frank, 2001; Hutkins, 2006). Devido à sua resistência ao calor estas bactérias sobrevivem à pasteurização ou outros processos de aquecimento (Frazier et al., 1988) como acontece na fabricação do requeijão, mostrando que a etapa de cozimento da massa (fusão e cocção) realizada durante o processamento do requeijão artesanal modifica a microbiota proveniente da matéria-prima, selecionando bactérias resistentes a temperaturas elevadas.

A baixa temperatura no ambiente de fermentação nas propriedades pode explicar a predominância das BAL mesofílicas. O uso do leite cru, em vez de leite pasteurizado, a temperatura de fermentação e a ausência de fermentos lácticos foram as principais razões para que taxas de BAL semelhantes fossem encontradas no leite cru e no requeijão.

4.2.2. Teste de catalase

Os resultados pertinentes à produção de catalase pelos microrganismos isolados podem ser observados na Tabela 6. No teste de catalase a que os 935 isolados foram submetidos, 88,5% apresentaram atividade da catalase negativa.

Tabela 6. Produção de catalase pelos microrganismos isolados das amostras de leite, superfícies de utensílios e de Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia.

Produção de Catalase	Nº de Isolados	%
Negativa	828	88,6
Positiva	56	6,0
NC	19	2,0
Contaminada	32	3,4
Total	935	100,0

NC – Microrganismos Não Cultiváveis

A partir de 30 amostras constituídas de leite, superfícies de utensílios e requeijão em dois meios (MRS e M17) a duas temperaturas (30°C e 37°C), um

total de 935 isolados foram obtidos sendo 782 Gram-positivos e 828 catalase negativa. Portanto, 782 cepas de BAL foram isoladas.

4.2.3. Lactofermentação

A propriedade de produção de ácido pelas BAL é a principal característica tecnológica para a indústria de laticínios (Hiromi et al., 1997; Beresford et al., 2001). Embora o teste de lactofermentação seja usualmente empregado para caracterizar a microbiota predominante no leite, ele foi utilizado neste experimento para verificar o tipo de fermentação determinado pelo isolado de BAL. Os resultados obtidos podem ser observados na Tabela 7.

Tabela 7. Tipos de coágulos formados na prova de lactofermentação, em amostras de leite cru, superfícies de utensílios e Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia.

Tipo de coágulo	Origem da amostra			%
	Leite n	Superfícies de Utensílios n	Requeijão n	
Gelatinoso	180	170	147	53,2
Esfacelado	5	12	31	5,1
Caseoso	37	24	34	10,2
Mole	56	48	49	16,3
Líquido	42	43	57	15,2

n: número de isolados

Após o teste de lactofermentação, 497 isolados (53,2%) apresentaram melhores propriedades de coagulação com a formação de coágulo gelatinoso, proveniente de uma fermentação láctica e considerada normal, indicando uma boa qualidade bacteriológica das amostras.

A formação de coágulo caseoso, indica o potencial proteolítico dos isolados e foi característico de 95 isolados de BAL. Esta baixa porcentagem pode ter acontecido devido à ausência de refrigeração do leite e requeijão, pois temperaturas entre 4 °C e 7 °C favorecem a multiplicação de microrganismos psicrótrópicos (Fonseca & Santos, 2000; Santana et al., 2001; Santos & Fonseca, 2001; Jay, 2005a), que podem ser produtores de proteases e lipases termoresistentes (Fonseca & Santos, 2000; Santana et al., 2001; Santos &

Fonseca, 2001). Nero (2005) analisando a qualidade do leite cru produzido em quatro regiões leiteiras no Brasil observou que grande parte das amostras analisadas, independente da região, apresentou lactofermentação caseosa, típica da microbiota psicrotrófica produtora dessas enzimas.

A ausência de coágulo constatada na prova de lactofermentação em 15,2% das amostras pode estar relacionada com a presença de um baixo número de células microbianas (Bramley & Mckinnon, 1990).

5. CONCLUSÃO

Leite cru, superfícies de utensílios e Requeijão do Sertão da Microrregião de Guanambi, no Sudoeste Baiano são fontes interessantes de bactérias do ácido láctico, representando estirpes diferenciadas. Estas fontes devem ser utilizadas para o desenvolvimento de novos fermentos na fabricação de derivados lácteos seguros e inovadores quanto às características organolépticas.

A partir dos isolados congelados novos estudos sobre a biodiversidade empregando técnicas moleculares deverão ser realizados para complementar as características tecnológicas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, M. R.; MOSS, M. O. Fermented and Microbial Foods. In: _____. **Food Microbiology**. 3rd ed. Food the Royal Society of Chemistry. Cambridge. U.K. 2005. Cap. 9, p. 310-369.

ADAMS, M. R.; MOSS, M. O. Fermented and Microbial Foods. In: _____. **Food Microbiology**. 3rd ed. Food the Royal Society of Chemistry. Cambridge. U.K. 2005a. Cap. 10, p. 370-395.

ADHIKARI, K.; MUSTAPHA, A.; GRÜN, I.U. Survival and Metabolic Activity of Microencapsulated *Bifidobacterium longum* in Stirred Yogurt. **Journal of Food Science**, vol. 68, n.1, p. 275-280, 2003.

ALLENDE, A.; MARTÍNEZ, B.; SELMA, V.; GIL, M. I.; SUÁREZ, J. E.; RODRÍGUEZ, A. Growth and bacteriocin production by lactic acid bacteria in

vegetable broth and their effectiveness at reducing *Listeria monocytogenes* in vitro and in fresh-cut lettuce. **Food Microbiology**, vol. 24, n. 7-8, p. 759-766, October-December 2007.

ALI, A. A.; IRSHAD, N. B.; RAZAZ, S. A.; MANAHIL, A. A. Microbiological Safety of Raw Milk in Khartoum State, Sudan: 1-Khartoum and Omdurman Cities. **Pakistan Journal of Nutrition**, vol. 9, n. 5, p. 426-429, 2010.

ALLISON, G. E.; KLAENHAMMER, T. R. Phage resistance mechanism in lactic acid bacteria. **International Dairy Journal**, vol. 8, p. 207-226, 1998.

ALONSO-CALLEJA, C.; CARBALLO, J.; CAPITA, R.; BERNARDO, A.; GARCIA-LOPÉZ M.L. Changes in the Microflora of Valdeteja Raw Goat's Milk Cheese throughout Manufacturing and Ripening. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, vol. 35, n. 3, p. 222-232, May 2002.

AMMOR, S.; TAUVERON, G.; DUFOUR, E.; CHEVALLIER, I. Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility. Screening and characterization of the antibacterial compounds. **Food Control**, vol.17, n.6, p. 462-468, 2006.

AOAC, American Official of Analytical Chemists, Official Methods of Analysis, method 920.122, Cheese Collection of Samples Procedure, Gaithersburg, MD, 16nd ed., 1998.

ASHMAIG, A.; HASAN, A.; GAALI, E. E. Identification of lactic acid bacteria isolated from traditional Sudanese fermented camel's milk (Gariss). **African Journal of Microbiology Research**, Vol. 3, n. 8, p. 451-457, August 2009.

AXELSSON, L. Lactic acid bacteria: classification and physiology. In: SALMINEN, S.; Write, A. von; Ouwehand, A. **Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects**, 3nd ed. Marcel Dekker, Inc. New York, New York. 2004. Cap. 1, p. 1-66.

AYAD E. H. E.; OMRAN N.; EL-SODAB M. Characterisation of lactic acid bacteria isolated from artisanal Egyptian Ras cheese. **Le Lait**, vol. 86, n.4, p. 317-331, July-August 2006.

AZIZ, T.; KHAN, H.; BAKHTAIR S.M.; NAURIN M. Incidence and relative abundance of lactic acid bacteria in raw milk of buffalo, cow and sheep. **The Journal of Animal & Plant Sciences**, vol.19, n. 4, p. 168-173, 2009.

BAMFORTH, C. W. The Science Underpinning Food Fermentations. In: _____ **Food, Fermentation and Micro-organisms**. 1nd ed. Blackwell Publishing Ltda, USA, 2005. Cap. 1, p. 1-39.

BRAMLEY, A. J.; MCKINNON, C. H. The microbiology of raw milk. In: ROBINSON, R. K. (Ed.). Dairy Microbiology: **The microbiology of milk**. 2nd ed. London, UK: Elsevier Science Publishers, 1990. p. 163-208.

BEHMER, M. L. A. Prova de Lactofermentação. In: _____ **Tecnologia do leite - Produção, industrialização e análise**. 15nd ed. São Paulo: Ed. Nobel, 1985. Cap. 7, p.59-61.

BERESFORD, T. P.; FITZSIMONS, N. A.; BRENNAN, N. L.; COGAN, T. M. Recent advances in cheese microbiology. **International Dairy Journal**, vol. 11, n.4-7, p. 259-274, Jul. 2001.

BERESFORD, T.; WILLIAMS, A. The microbiology of cheese ripening. In: FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H.; COGAN, T. M.; GUEENE, T. P. (Eds.). **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology**, vol. 1, 3nd ed., Amsterdam: Elsevier, 2004. Cap. 12, p. 287-317.

BOUTON, Y.; GUYOT, P.; BEUVIER, E.; TAILLIEZ, P.; GRAPPIN, R. Use of PCR- based methods and PFGE for typing and monitoring homofermentative lactobacilli during Comté cheese Ripening . **International Journal of Food Microbiology**, vol. 76, p.27- 38, 2002.

BRUNO, L. M.; GASPARIN, J. D. Microbiota Láctica de Queijos Artesanais. Doc. 124. Embrapa Agroindústria Tropical. Fortaleza, CE, p.1-30, dezembro 2009.

CARIDI, A. Identification and first characterization of lactic acid bacteria isolated from the artisanal ovine cheese Pecorino del Poro. **International Journal of Dairy Technology**, vol. 56, n. 2, 2003.

CARIDI, A.; MICARI, P.; FOTI, F.; RAMONDINO, D.; SARULLO, V. Ripening and seasonal changes in microbiological and chemical parameters of the artisanal cheese Caprino d'Aspromonte produced from raw or thermized goat's milk. **Food Microbiology**, vol. 20, n. 2, p. 201-209, Apr., 2003.

CARVALHO, J. D. G. **Caracterização da microbiota láctica isolada de queijo de Coalho artesanal produzido no Ceará e de suas propriedades tecnológicas**. 2007. 154 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2007.

COGAN, T. M.; BARBOSA, M.; BEUVIER, E.; BRANCHI-SALVODARI, B.; COCCONCELLI, P. S.; FERNANDES, I.; GOMEZ, J.; GOMEZ, R.; KALANTZOPOULOS, G.; LEDDA, A.; MEDINA, M.; REA, M. C.; RODRIGUEZ, E. Characterization of the lactic acid bacteria in artisanal dairy products. **International of Dairy Research**, vol. 64, p. 409-421, 1997.

COPPOLA, R.; NANNI, M.; IORIZZO, M.; SORRENTINO, A.; SORRENTINO, E.; CHIAVARI, C.; GRAZIA L. Microbiological characteristics of Parmigiano Reggiano cheese during the cheesemaking and the first months of ripening, **Le Lait**, vol. 80, n.5, p. 479-490, September-October 2000.

DUBOC, P.; MOLLET, B. Applications of exopolysaccharides in the dairy industry, **International Dairy Journal**, vol. 11, n.9, p. 759-768, 2001.

DURLU-OZKAYA, F.; XANTHOPOULOS, V.; TUNAIL, N.; LITOPOULOU-TZANETAKI, E.; Technologically important properties of lactic acid bacteria isolates from Beyaz cheese made from raw ewes' milk. **Journal of Applied Microbiology**, vol. 91, n. 5, p. 861-870, Nov., 2001.

ESTEPAR, J.; SÁNCHEZ, M. M.; ALONSO, L.; MAYO, B. Biochemical and microbiological characterization of artisanal 'Peñamellera' cheese: analysis of its indigenous lactic acid bacteria. **International Dairy Journal**, vol.9, n. 10, p. 737-746, October 1999.

FONSECA, L. F. L., SANTOS, M. V. Qualidade Microbiológica do Leite. In: Qualidade do leite e controle de mastite. São Paulo, SP: Lemos Editorial, 2000. Cap.14, p.1-18.

FORTINA, M.G.; RICCI, G.; ACQUATI, A.; ZEPPA, G.; GANDINI, A.; MANACHINI, P.L. Genetic characterization of some lactic acid bacteria occurring in an artisanal protected denomination origin (PDO) Italian cheese, the Toma piemontese, **Food Microbiology**, vol. 20, p.397-404. 2003.

FOX, P. F.; GUINEE, T. P.; COGAN, T. M.; McSWEENEY, P. L. H. Starter Cultures. In: Fundamentals of Cheese Science, vol.1. Gaithersburg: Aspen Publishers, USA, 2000. Cap.5, p. 54-97.

FRANK, J. F.; YOUSEF, A. E. Test for groups of microorganisms. In: WEHR, H. M.; FRANK, J. F. (Eds.). **Standard Methods for the Examination of Dairy Products**, 17nd ed. Washington: American Public Health Association, 2004. Cap. 8, p. 227-247.

FURET, J. P.; QUÉNÉE, P.; TAILLIEZ, P. Molecular quantification of lactic acid bacteria in fermented milk products using real-time quantitative PCR. **International Journal of Food Microbiology**, vol. 97, n.2, p. 197-207, December 2004.

GHRAIRI T.; MANAI M.; BERJEAUD J.M.; FRÈRE J. Antilisterial activity of lactic acid bacteria isolated from rigouta, a traditional Tunisian cheese. **Journal of Applied Microbiology**, vol. 97, p. 621-628, 2004.

GIRAFFA, G.; NEVIANI, E. Different *Lactobacillus helveticus* strain populations dominate during Grana Padano cheese making. **Food Microbiology**, vol. 16, p. 205-210, 1999.

GONZÁLEZ, L.; SANDOVAL, H.; SACRISTÁN, N.; CASTRO, J. M.; FRESNO, J. M.; TORNADIJO, M. E. Identification of lactic acid bacteria isolated from Genestoso cheese throughout ripening and study of their antimicrobial activity. **Food Control**, vol. 18, n. 6, p. 716-722, Jun., 2007.

GUEDES NETO, L.G.; SOUZA, M.R.; NUNES, A.C.; NICOLI, J.R.; SANTOS, W.L.M. Atividade antimicrobiana de bactérias ácido-lácticas isoladas de queijos de coalho artesanal e industrial frente a microrganismos indicadores. **Arquivo**

Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, vol.57, supl. 2, p.245-250, 2005.

HALL, P. A.; LEDENBACH, L.; FLOWERS, R. S. Acid-producing Microorganisms. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4nd ed. Washington: American Public Health Association, Cap. 19, p.201-207, 2001.

HASSAN, A. N.; FRANK, J. F. Starter cultures and their use. In: MARTH, E. H.; STEELE, J. L. **Applied Dairy Microbiology**, 2nd ed. New York: Marcel Decker, 2001. Cap. 6, p.151-206.

HERREROS, M. A.; SANDOVAL, H.; GONZÁLES, L. CASTRO, J. M.; FRESNO, J. M.; TORNADIJO, M. E. Antimicrobial activity and antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from Armada cheese (a Spanish goats' milk cheese). **Food Microbiology**, vol. 22, n.5, p. 455-459, 2005.

HOIER, E.; JANZEN, T.; RATTRAY, F.; SORENSEN, K.; BORSTING, M.W.; BROCKMANN, E.; JOHANSEN, E. The Production, Application and Action of Lactic Cheese Starter Cultures. In: LAW, B.; TAMIME, A. Y. (Eds.). **Technology of Cheesemaking**, 2nd ed., Blackwell Publishing Ltd., USA, 2010. Cap. 5, p. 166-192.

HUTKINS, R. W. Microorganisms and Metabolism. In: _____ **Microbiology and technology of fermented foods**, 1nd ed., Blackwell Publishing Ltd., USA, 2006. Cap.2, p.15-66.

INÊS, A.; TENREIRO, T.; TENREIRO, R.; FAIA, A. M. Revisão: as bactérias do ácido láctico do vinho- Parte I. **Ciência e Técnica Vitivinícola**, vol. 23, n. 2, p.81-96, 2008.

INÊS, A.; TENREIRO, T.; TENREIRO, R.; FARIA, A. M. Revisão: As bactérias do ácido láctico do vinho- Parte II. **Ciência e Técnica Vitivinícola**, vol. 24, n. 1, p.1-23, 2009.

(IDF) INTERNATIONAL Dairy Federation. Yogurt: enumerations of characteristic microorganisms colony count technique at 37°C. Bull. Int. Dairy Fed., n. 117B: 1997.

JAY, J. M.; LOESSNER M. J.; GOLDEN D. A. Milk, Fermentation, and Fermented and Nonfermented Dairy Products. In: _____ **Modern Food Microbiology**, 7nd ed., Aspen: Publishers, Gaithersburg, MD, 2005. Cap. 7, p. 149-173.

JAY, J. M.; LOESSNER M. J.; GOLDEN D. A. Milk, Fermentation, and Fermented and Nonfermented Dairy Products. In: _____ **Modern Food Microbiology**, 7nd ed., Aspen: Publishers, Gaithersburg, MD, 2005a. Cap. 16, p. 347-364.

KARNA, B.K.L.; EMATA, O.C.; BARRAQUIO, V.L. Lactic Acid and Probiotic Bacteria from Fermented and Probiotic Dairy Products. **Science Diliman**, vol. 19, n.2, p. 23-34, July-December 2007.

KLEIN, G.; PACK, A.; BONAPARTE, C.; REUTER, G. Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, vol.41, n. 2, p. 103-125, 1998.

KÖNIG, H.; FRÖHLICH, J. Lactic Acid Bacteria. In: KÖNIG, H.; UNDEN, G.; FRÖHLICH, J. (Eds.). **Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine**, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2009. Cap.1, p.3-29.

LEE, P.S. Quantitation of Microorganisms. In: GOLDMAN, E.; GREEN, L. H. (Ed.). **Practical handbook of microbiology**, 2nd ed., CRC Press, Taylor & Francis Group, NW, 2009, Cap. 2, p. 11-20.

LENGKEY, H. A.W.; BALIA, R. L.; TOGOE, I.; TAŞBAC, B. A.; LUDONG, M. Isolation and identification of lactic acid bacteria from raw poultry meat. **Biotechnology in Animal Husbandry**, vol. 25, n. 5-6, p.1071-1077, 2009.

LEROY, F.; DE VUYST, L. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. **Trends in Food Science & Technology**, vol. 15, p. 67–78, 2004.

LICITRA, G.; OGIER, J.C.; PARAYRE, S.; PEDILIGGIERI, C.; CARNEMOLLA, T.M.; FALENTIN, H.; MADEC, M.N.; CARPINO, S.; LORTAL, S. Variability of the bacterial biofilms of the “Tina” wood vat used in the Ragusano cheese making process. **Applied and Environmental Microbiology**, vol. 73, n. 21, p. 6980-6987, 2007.

LIMA C.D.L.C.; LIMA L.A.; CERQUEIRA M.M.O.P.; FERREIRA E.G.; ROSA C.A. Bactérias do ácido láctico e leveduras associadas com o queijo-de-minas artesanal produzido na região da Serra do Salitre, Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, vol.61, n.1, p.266-272, 2009.

LLANEZ, M. J. T.; CORDOBA, B. V.; CINCO, M. E. D.; MANZANO, M. A. M.; CORDOVA, A. F. G. Characterization of the natural microflora of artisanal Mexican Fresco cheese. **Food Control**, vol.17. p. 683-690, 2006.

LÓPEZ-DÍAZ, T.M.; ALONSO, C.; ROMAN, C.; GARCIA-LOPEZ, M.L.; MORENO, B. Lactic acid bacteria isolated from a hand-made blue cheese. **Food Microbiology**, vol. 17, p. 23-32, 2000.

LORTAL S.; BLASI, A. D.; MADEC, M.N.; PEDILIGGIERI, C.; TUMINELLO L.; TANGUY G.; FAUQUANT J.; LECUONA Y.; CAMPO P.; CARPINO S.; LICITRA G. Tina wooden vat biofilm: A safe and highly efficient lactic acid bacteria delivering system in PDO Ragusano cheese making. **International Journal of Food Microbiology**, vol. 132, p. 1 - 8, 2009.

MACEDO, A. C.; TAVARES, T. G.; MALCATA, F. X. Influence of native lactic acid bacteria on the microbiological, biochemical and sensory profiles of Serra da Estrela cheese. **Food Microbiology**, vol. 21, n. 2, p. 233-240, 2004.

MADERA, C.; GARCÍA, P.; JANSEN, T.; RODRÍGUEZ, A.; SUÁREZ, J. E. Characterisation of technologically proficient wild *Lactococcus lactis* strains resistant to phage infection. **International Journal of Food Microbiology**, vol. 86, n. 3, p. 213-222, 2003.

MADRAU, M. A.; MANGIA, M. A.; MURGIA, N. P.; SANNA, M. A.; GARAU, M. G.; LECCIS, G.; CAREDDA, M.; DEIANA, P. Employment of autochthonous microflora in Pecorino Sardo cheese manufacturing and evolution of physicochemical parameters during ripening. **International Dairy Journal**, vol. 16, p. 876-885, 2006.

MANNU, L.; RIU, G.; COMMUNIAN, R.; FOZZI C.M.; SCINTTTU, F.M. A preliminary study of lactic acid bacteria in whey starter culture and industrial Pecorino Sardo ewes. milk cheese : PCR identification and evolution during ripening. **International Dairy Journal**, vol. 12, p.17-26, 2002.

MANOLOPOULOU, E.; SARANTINOPOULOS, P.; ZOUDOU, E.; AKTYPIS, A.; MOSCHOPOULOU, E.; KANDARAKIS, I.; ANIFANTAKIS, E. Evation of microbial populations during traditional Feta cheese manufacture and ripening. **International Journal of Food Microbiology**, vol. 82, p. 153-161, 2003.

MARIANI,C., BRIANDET,R., CHAMBA, J.F., NOTZ,E.,CARNET-PANTIEZ,A., EYOUNG, R.N.,OULAHAL,N. Biofilm ecology of wooden shelves used in ripening the French raw milk smear cheese reblochon de Savoie. **Journal of Dairy Science**, vol. 90, n. 4, p. 1653 -1661, 2007.

MARINO, M.; MAIFRENI, M.; RONDONINI; G. Microbiological characterization of artisanal Montasio cheese: analysis of its indigenous lactic acid bacteria. **FEMS Microbiology Letters**, vol. 229, n. 1, p. 133 -140, 2003.

MAZAHREH, A. S.; ERSHIDAT, O. T. M. The Benefits of Lactic Acid Bacteria in Yogurt on the Gastrointestinal Function and Health. **Pakistan Journal of Nutrition**, vol. 8, n. 9, p. 1404-1410, 2009.

MCCARTNEY, A.L. Enumeration and Identification of Mixed Probiotic and Lactic Acid Bacteria Starter Cultures. In: HUTKINS, R. W. **Microbiology and technology of fermented foods**, 1nd ed., Blackwell Publishing Ltd., USA, 2006. Cap.5, p.98-119.

McGRATH, S.; SINDEREN, D.; FITZGERALD, G. F. Bacteriophage-derived genetic tools for use in lactic acid bacteria. **International Dairy Journal**, vol.12, n. 01, p. 3-15, 2002.

MENÉNDEZ, S.; GODINEZ, R.; CENTENO, J. A; RODRIGUEZ-OTERO, J.L. Microbiological, chemical and biochemical characteristics of Tetilla raw cows-milk cheese. **Food Microbiology**, vol. 18, p. 151-158, 2001.

MENÉNDEZ, S.; GODÍNEZ, R.; HERMIDA, M.; CENTENO, J. A.; RODRÍGUEZ-OTERO, J. L. Characteristics of "Tetilla" pasteurized milk cheese manufactured with the addition of autochthonous cultures. **Food Microbiology**, vol. 21, n. 1, p. 97-104, 2004.

NERO, L.A. **Listeria monocytogenes e Salmonella spp. em leite cru produzido em quatro regiões leiteiras no Brasil: ocorrência e fatores que interferem na sua detecção**. 2005. 141f. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, SP, 2005.

NIKKILÄ, P.; JOHNSON, T.; TOIVONEN, L.; ROSENQVIST, H. The effect of Tween 80 on the fatty acid composition of lactobacillus buchneri and lactobacillus brevis. **Journal of General and Applied Microbiology**, vol. 41, p. 327-332, 1995.

NIP, W.K. Manufacture of Fermented Products. In: Y. HUI H.; GODDIK, L.M.; HANSEN, A.S.; JOSEPHSEN, J.; NIP, W.K.; STANFIELD, P.S.; TOLDRA, F. **Handbook of Food and Beverage Fermentation Technology**. Marcel Dekker, Inc. New York, USA. 2004. Cap.4, p. 68-105.

OBBERMAN, H.; LIBUDZISZ, Z. Fermented milks, In: WOOD, B.J.B. (Ed.), **Microbiology of Fermented Foods**, vol. 1, 2nd ed., Blackie Academic & Professional, 1998. Cap.11, p. 308-350.

PARENTE, E.; ROTA, M. A.; RICCCIARDI, A.; CLEMENTI, F. Characterisation of Natural Starter Cultures Used in the Manufacture of Pasta Filata Cheese in Basilicata (Southern Italy). **International Dairy Journal**, vol. 7, p. 775-783, 1997.

PARENTE, E.; COGAN, T.M. Starter Cultures: General Aspects, In: FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H.; COGAN, T. M.; GUEENE, T. P. (Eds.). **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology**, vol. 1, 3rd ed., Amsterdam: Elsevier, 2004. Cap. 6, p. 123-147.

PARK, K.B.; OH, S.H. Production of yogurt with enhanced levels of gamma-aminobutyric acid and valuable nutrients using lactic acid bacteria and germinated soybean extract. **Bioresource Technology**, vol. 98, n.8, p. 1675-1679, maio 2007.

PATIL, M. M.; PAL, A.; ANAND, T.; K. V. RAMANA. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from curd and cucumber. **Indian Journal of Biotechnology**, Vol. 9, p. 166-172, April 2010.

PÉREZ, G.; CARDELL, E.; ZÁRATE, V. Protein fingerprinting as a complementary analysis to classical phenotyping for the identification of lactic acid bacteria from Tenefire cheese. **Le Lait**, vol. 80, p. 589-600, 2000.

PERRY, K.S.P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, vol. 27, n. 2, p. 293-300, 2004.

PSONI, L.; TZANETAKIS, N.; LITOPOULOU-TZANETAKI, E. Microbiological characteristics of Batzos, a traditional Greekcheese from raw goat's Milk. **Food Microbiology**, vol. 20, n.5, p. 575-582, out 2003.

QUIBERONI, A.; AUAD, L.; BINETT, A. G.; SUÁREZ, V.B.; REINHEIMER, J.A.; RAYA, R. R. Comparative analysis of *Streptococcus thermophilus* bacteriophages isolated from a yogurt industrial plant. **Food Microbiology**, vol. 20, n. 4, p.461-469, ago 2003.

REQUENA T.; PELÁEZ C. Characterization of Lactic Acid Bacteria Used as Starter Cultures. In: NOLLET, L.M.L.; TOLDRÁ, F. **Handbook of Dairy Foods Analysis**. Taylor and Francis Group, NW, 2009. Cap. 21, p.449-467.

ROBINSON, R.K.; TAMIME, A.Y. Types of Fermented Milks. In: TAMIME, A. (Ed.) **Fermented Milks**. Blackwell Science Ltd, USA, 2006. Cap.1, p. 1-10.

SÁNCHEZ, I.; PALOP, L.; BALLESTEROS, C. Biochemical characterization of lactic acid bacteria isolated from spontaneous fermentation of 'Almagro' eggplants. **International Journal of Food Microbiology**, vol. 59, p. 9-17, 2000.

SANTANA, E.H.W.; BELOTI, V.; BARROS, M.A.F.; MORAES, L.B.; GUSMÃO, V.V.; PEREIRA, M.S. Contaminação do leite em diferentes pontos do processo de produção: I.Microrganismos aeróbios mesófilos e psicrótrófos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, vol. 22, n.2, p. 145-154, jul./dez. 2001.

SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. Importância e efeito de bactérias psicrótróficas sobre a qualidade do leite. **Higiene Alimentar**, São Paulo, vol.15, n.82, p.13-19, 2001.

SAS - Statistical Analysis System, SAS User's guide statistics, 5nd edn., NC: SAS Institute Inc., 2001.

SAVADOGO, A.; OUATTARA, C. A. T.; SAVADOGO, P. W.; BARRO, N.; OUATTARA, A. S.; TRAORÉ, A. S. Identification of exopolysaccharides-producing lactic acid bacteria from Burkina Faso fermented milk samples. **African Journal of Biotechnology**, Vol. 3, n. 3, p. 189 -194, 2004.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S. Técnicas Básicas de Contagem de Microrganismos em Placas. In: _____ **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. 3. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007. Cap. 3, p.45-60.

SOUZA C.F.V.; ROSA T.D.; AYUB M.A.Z. Change in the microbiological and physicochemical characteristics of *Serrano* cheese during manufacture and ripening, **Brazilian Journal of Microbiology**, vol. 34, p. 260-266, 2003.

TAOKA, Y.; NAGANO, N.; OKITA, Y.; IZUMIDA, H.; SUGIMOTO, S.; HAYASHI, M. Effect of Addition of Tween 80 and Potassium Dihydrogenphosphate to Basal Medium on the Isolation of Marine Eukaryotes, Thraustochytrids. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Vol. 105, n. 5, p. 562-565, 2008.

TAMIME, A.Y. Microbiology of Starter Cultures. In: ROBINSON, R.K. **Dairy Microbiology Handbook**, 3rd ed. New York: Wiley Interscience, 2002. Cap.7, p.261-366.

TAMIME, A.Y.; SAARELA, M.; KORSLUND SONDERGAARD, A.; MISTRY, V.V.; SHAH, N.P. Production and Maintenance of Viability of Probiotic Microorganisms in Dairy Products. In: TAMIME, A.Y. **Probiotic Dairy Products**. Blackwell Publishing Ltd, USA, 2005. Cap. 3, p. 39-72.

TAMIME, A.Y.; SKRIVER, A.; NILSSON, L.-E. Starter Cultures. In: TAMIME, A. (Ed.) **Fermented Milks**. Blackwell Science Ltd, USA, 2006. Cap.2, p. 11-52.

TEUBER, M. The genus *Lactococcus*. In: WOOD, B. J. B.; HOLZAPFEL, W. H. (Ed.). **The genera of lactic acid bacteria**. London: Chapman & Hall, 1995. vol. 2. Cap.6, p. 173-234.

TIEKING, M.; KORAKLI, M.; EHRMANN, M.A.; GANZLE, M.G.; VOGEL, R. F. In Situ Production of Exopolysaccharides during Sourdough Fermentation by Cereal and Intestinal Isolates of Lactic Acid Bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, vol. 69, n. 2, p. 945-952, feb. 2003.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. Microbiologia. 8^a. ed. Porto Alegre, Brasil: ARTMED, 2005. 920p.

TRIAS, R.; BAÑERAS, L.; MONTESINOS, E.; BADOSA, E. Lactic acid bacteria from fresh fruit and vegetables as biocontrol agents of phytopathogenic bacteria and fungi. **International Microbiology**, vol. 11, p. 231-236, 2008.

TSEROVSKA L.; STEFANOVA S.; YORDANOVA T. Identification of lactic acid bacteria isolated from kатыk, goat's milk and cheese. **Journal of Culture Collections**, vol. 3, p. 48-52, 2000-2002.

WEHR, H. M., FRANK J. F. **Standard Methods for the Examination of Dairy Products**. In: American Public Health Association. 17nd edn., Washington, 2004.

WOUTERS, J.T.M.; AYAD, E.H.E.; HUGENHOLTZ, J.; SMIT, G. Microbes from raw milk for fermented dairy products. **International Dairy Journal**, vol. 12, n.2-3, p. 91-109. 2002.

VALDEZ, G. F.; GEREZ, C. L.; TORINO, M. I.; ROLLÁN, G. New Trends in Cereal - based Products Using Lactic Acid Bacteria. In: MOZZI, F.; RAYA, R. R.; VIGNOLO, G. M., **Biotechnology of Lactic Acid Bacteria - Novel Applications**, Wiley-Blackwell, USA, 2010. Cap. 15, p. 273-287.

VERNILE A., GIAMMANCO G., SPANO G., BERESFORD T. P., FOX P.F., Massa S., Genotypic characterization of lactic acid bacteria isolated from traditional Pecorino Siciliano cheese. **Dairy Science and Technology**, vol. 88, p.619-629, 2008.

VIGNOLO , G. M.; FONTANA , C.; COCCONCELLI, P.S. New Approaches for the Study of Lactic Acid Bacteria Biodiversity: A Focus on Meat Ecosystems. In: MOZZI, F.; RAYA, R. R.; VIGNOLO, G. M. **Biotechnology of Lactic Acid Bacteria - Novel Applications**, Wiley-Blackwell, USA, 2010. Cap. 14, p. 251-273.

VINDEROLAUM , C.G.; MOCCHIUTTIUM, P.E; REINHEIMER, J.A. Interactions Among Lactic Acid Starter and Probiotic Bacteria Used for Fermented Dairy Products. **Journal of Dairy Science**, vol.85, n.4, p. 721-729, 2002.

ZAMFIR, M.; VANCANNEYT, M.; MAKRAS, L.; VANINGELGEM, F.; LEFEBVRE, K.; POT, B.; SWINGS, J.; DE VUYST, L. Biodiversity of lactic acid bacteria in Romanian dairy products. **Systematic and Applied Microbiology**, vol. 29, p. 487-495, 2006.

Capítulo IV – BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO E PERFIL SENSORIAL DO REQUEIJÃO DO SERTÃO

RESUMO

Foram avaliadas cinco agroindústrias familiares produtoras de Requeijão do Sertão, na Microrregião de Guanambi, Bahia, por meio de *checklist* elaborado de acordo com a legislação brasileira vigente, quanto à adoção de conceitos de Boas Práticas de Fabricação (BPF). De uma maneira geral, as unidades produtoras avaliadas quanto às BPF foram classificadas como “regular”, com porcentagem média de 63,7%. Estes dados evidenciam que as BPF e condições tecnológicas de processamento adequadas ainda são pouco aplicadas à produção de requeijão. Foi realizada também análise sensorial do Requeijão do Sertão, elaborado a partir de leite cru (RLC) e leite pasteurizado/inoculado com bactérias ácido lácticas (RLP), por meio de testes de aceitação e intenção de compra. O delineamento utilizado foi o de blocos completos balanceados. O teste de aceitabilidade utilizou a escala hedônica de 9 pontos e o de intenção de compra, a escala de 5 pontos. Cada teste foi realizado por 233 provadores. Os resultados foram analisados por meio de histogramas e da ANOVA. Na avaliação geral das amostras, em que os provadores têm a impressão geral dos atributos sensoriais, houve uma boa aceitação dos requeijões. Quanto ao índice de aceitabilidade, os mesmos foram aceitos, alcançando valores acima de 70%. No teste de ordenação de preferência, as amostras apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$), onde o RLC foi mais bem aceito pelos provadores. O processamento industrial deve ser estudado de forma a reduzir estas diferenças, visando à preservação das características tradicionais do requeijão.

Palavras-chave: *Checklist*, Boas Práticas de Fabricação, análise sensorial, segurança alimentar.

1. INTRODUÇÃO

Existe uma tendência mundial crescente pela busca de alimentos mais saudáveis, que conduz o consumidor a mudanças nos hábitos alimentares (Espindola et al., 2006).

Os alimentos estão sendo elaborados de forma a satisfazer, cada vez mais, as exigências dos consumidores, que buscam produtos padronizados, nutricionalmente ricos e seguros (UFV, CNPq, FAPEMIG, 2009). Atualmente, o conceito de alimento seguro não se limita apenas ao produto final, inspecionado somente após a sua elaboração, engloba todos os elos da cadeia produtiva (Blackburn & McClure, 2002; Valeeva et al., 2004; Santos, 2007).

A contaminação microbiana dos alimentos pode ocorrer em qualquer ponto da produção, do campo à mesa (Alves et al., 2007; Andrade et al., 2008). Para minimizar ou reduzir a possibilidade de contaminação, que coloca em risco a inocuidade dos produtos e a sua condição para consumo, faz-se necessária a adoção de medidas de controle. Estas medidas estão ligadas a aspectos como sanidade do rebanho, local e higiene da ordenha, qualidade da água, higiene e saúde pessoal, instalações, equipamentos e utensílios, embalagens, local de comercialização e outros (Brito et al., 2006; Netto et al., 2006; Zafalon et al., 2008; Gracindo & Pereira, 2009; Vissers & Driehuis, 2009).

O leite é um fluido biológico produzido por glândulas mamárias de mamíferos fêmeas com a finalidade de nutrir a prole. Normalmente é a única fonte de alimentação do jovem mamífero. É um alimento completo que contém lipídeos, proteínas, carboidratos, minerais, vitaminas, enzimas e, aproximadamente, 100.000 diferentes espécies moleculares em vários estados de dispersão. Também contém todos os fatores intrínsecos necessários à multiplicação de vários gêneros microbianos, inclusive patógenos fastidiosos que podem ocasionar surtos de intoxicações e/ou infecções alimentares (Walstra et al., 2006; Bhunia, 2008; Zafalon et al., 2008; O'Mahony et al., 2009).

A pasteurização do leite elimina os microrganismos patógenos e a maioria dos deterioradores, porém, ao mesmo tempo, reduz grande parte da microbiota láctica desejável na produção de derivados, responsáveis pelas características sensoriais dos produtos lácteos (Grappin & Beuvier, 1997). A

fabricação de queijos com leite pasteurizado, adicionado de fermento láctico, melhora a padronização do produto final e a qualidade do ponto de vista tecnológico e de saúde pública (Fox et al., 2000a; Johnson & Law, 2010).

Conhecimentos de “como” e “porque” produzir com qualidade e segurança, são quase sempre um mito entre os agricultores e produtores de queijos artesanais. As Boas Práticas Agropecuárias (BPA), as Boas Práticas de Fabricação (BPF) e as Boas Práticas de Comercialização (BPC) são ferramentas de qualidade básicas, que desempenham um papel fundamental na produção, mas desconhecidas de muitos agricultores (Alvarenga et al., 2006).

2. REVISÃO DE LITERATURA

O Requeijão do Sertão, elaborado a partir de leite que não atende aos requisitos mínimos de higiene de processamento, representa risco à saúde dos consumidores. As boas práticas, BPA, BPF e BPC, são ferramentas de qualidade básicas que devem ser adotadas para a obtenção de um produto padronizado e inócuo.

2.1. Boas Práticas

2.1.1. Boas Práticas Agropecuárias na produção de leite

As BPA compreendem um conjunto de atividades desenvolvidas, dentro da fazenda leiteira, com objetivo de garantir a saúde, o bem estar e a segurança dos animais, do homem e do ambiente. Elas contribuem para o processamento de leite e derivados com segurança e de qualidade, para a sustentabilidade ambiental e para a possibilidade de agregação de valor, além de ser uma exigência da legislação e dos consumidores (Santos, 2007).

Os alimentos de origem animal ou vegetal, frescos ou processados, incluindo a água, podem veicular diversos patógenos (Todd, 2001; Blackburn & McClure, 2002; Notermans et al., 2002; Johnson, 2003; Franco & Landgraft, 2004; Andrade et al., 2008; Bhunia, 2008).

O leite, ao ser biossintetizado e secretado pela glândula mamária para nutrir a prole, é um alimento estéril. Porém, devido à sua composição centesimal, deve ser ordenhado, processado e manipulado como uma matriz orgânica, com alta capacidade de transferir perigos microbiológicos, significativos para a saúde pública (Brito et al., 2006; O'Mahony et al., 2009), podendo ocasionar surtos de intoxicações e/ou infecções alimentares (Chambers, 2002; Bhunia, 2008; Zafalon et al., 2008; O'Mahony et al., 2009).

O surgimento de medidas para melhorar a qualidade do leite no Brasil se deu em 2002, com a publicação da Instrução Normativa 51, que estabeleceu, para julho de 2011, padrões internacionais para o controle microbiológico e de contagem de células somáticas (Brasil 2002). A melhoria da qualidade tem sido impulsionada também pela crescente demanda dos estabelecimentos de laticínios e dos consumidores por produtos melhores. Isto resulta na necessidade de implantação de medidas que visem ao aumento da qualidade da matéria-prima e, conseqüentemente, do produto final (Magalhães et al., 2008).

As principais causas da baixa qualidade microbiológica do leite, ainda na fazenda, são: limpeza e/ou sanitização inadequadas de instalações e equipamentos, falta de higiene na ordenha, má qualidade da água utilizada e uso comunitário de tanques de expansão. Também influencia na qualidade do leite a falta de resfriamento ou resfriamento insatisfatório logo após a ordenha (Brito & Brito, 2001; Chambers, 2002; Brito et al., 2006; Zweifel et al., 2005; Netto et al., 2006; Martins et al., 2008; Zafalon et al., 2008; Gracindo & Pereira, 2009; Vissers & Driehuis, 2009).

A formação continuada dos ordenhadores em Boas Práticas Agropecuárias e sua conscientização em relação aos aspectos microbiológicos é fundamental para a produção de leite de qualidade. Na rotina, são estes profissionais que estão diretamente ligados às tarefas de ordenha dos animais, limpeza e sanitização dos equipamentos, para controle microbiológico desta matéria-prima (Brito & Brito, 2001; Chambers, 2002; Chyeet al., 2004; Brito et al., 2006; Netto et al., 2006; Martins et al., 2008; Zafalon et al., 2008; Brito et al., 2009; Gracindo & Pereira, 2009; Vissers & Driehuis, 2009).

As instalações, além de propiciarem o bem-estar animal (Chapaval & Alves, 2006), devem ser funcionais e de fácil higienização. Devem permitir

procedimentos que mantenham o meio ambiente externo livre de animais e insetos e os resíduos isolados e removidos do local (Vialta et al., 2002; Brito et al., 2006; Zafalon et al., 2008).

Ventilação, baixa temperatura, controle da umidade do ambiente e capacidade de lotação, são características físicas importantes que devem ser observadas nas instalações. Elas podem significar o diferencial entre animais saudáveis ou predispostos a doenças. O local de ordenha deve ser situado distante do curral dos animais, evitando a contaminação cruzada e a absorção de odores desagradáveis pelo leite. A sala de ordenha deve conter lavatórios para que o ordenhador possa fazer a adequada higienização das mãos (Chapaval & Alves, 2006).

No momento da ordenha, os ordenhadores devem ter fácil acesso ao úbere dos animais, de modo a facilitar as operações de limpeza e higienização das tetas, aumentando, assim, à eficiência na ordenha e propiciando maior conforto aos animais (Brito et al., 2006). A limpeza das salas de ordenha e de retenção dos animais deve ser realizada ao final de cada processo. Os utensílios e equipamentos usados na ordenha e no armazenamento do leite devem ser mantidos limpos e secos (Brito et al., 2006; Netto et al., 2006).

A presença de altos níveis de contaminação microbiana no leite como matéria-prima e de seus derivados compromete a durabilidade desses produtos, já que promovem a deterioração de seus componentes, como caseína, gordura e lactose. Os principais prejuízos industriais ocasionados pela contaminação microbiana são: acidificação e coagulação, produção de gás, geleificação, sabor amargo, coagulação sem acidificação, aumento da viscosidade, alteração de cor, produção de sabores e odores atípicos, dentre outros (Muir & Banks, 2000; Lange & Brito, 2005). Estes diminuem o rendimento industrial e a vida de prateleira (Chambers, 2002; Martins et al., 2008).

A produção e o processamento de leite de alta qualidade é uma situação que beneficia os produtores, a indústria e também os consumidores e é importante para garantir a confiança do consumidor e a competitividade da cadeia produtiva do leite no Brasil, a médio e longo prazo (Brito & Brito, 2001).

2.1.2. Boas Práticas de Fabricação

No Brasil as BPF são legalmente regidas por portarias do Ministério da Saúde (MS) e do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) como: 1428/93-MS (Brasil, 1993), 326/97-MS (Brasil, 1997a), 368/97-MAPA (Brasil, 1997c) e Resolução RDC nº 275/02-MS (Brasil, 2002), que determinam a utilização de normas nos estabelecimentos produtores / industrializadores de alimentos, com a intenção de promover a qualidade, a segurança e a competitividade dos produtos. O conhecimento dos patógenos que podem ser veiculados por alimentos e o estabelecimento de fatores de risco, a partir de análises de surtos epidemiológicos, permitiram o desenvolvimento de medidas de controle na produção de alimentos seguros (Notermans et al., 2002).

O termo BPF se aplica a todas as atividades associadas com a fabricação, gestão e operação de fabricação de alimentos (Jarvis, 2000), e são requisitos básicos para obtenção de produtos que não tragam riscos à saúde do consumidor. Além da redução de riscos, as BPF possibilitam um ambiente de trabalho mais eficiente, otimizando todo o processo de produção (Nassu et al., 2006).

É a ferramenta básica na aplicação de programas de qualidade direcionados à produção de alimentos, sendo que seus princípios podem ser aplicados em todas as fases, desde a produção de matérias-primas até o produto final. Um programa de BPF contempla os mais diversos aspectos da indústria, que vão desde a qualidade da matéria-prima e dos ingredientes, incluindo a especificação de produtos e a seleção de fornecedores, sanitização (das instalações, equipamentos e utensílios), controle de pragas, higiene pessoal, qualidade da água, tratamento de efluentes, eliminação de resíduos, até o registro em formulários adequados de todos os procedimentos da empresa (Jarvis, 2000; Robinson & Tamime, 2002; PAS, 2004; Nassu et al., 2006; Magalhães et al., 2008).

Os consumidores têm o direito a alimentos padronizados e seguros e que satisfaçam suas expectativas nas qualidades sensoriais. O objetivo das BPF é garantir a produção de alimentos com estas características (Jarvis, 2000).

2.1.3. Boas Práticas de Comercialização

Da mesma maneira que as BPF, no Brasil as BPC também são legalmente regidas pelas portarias 1428/93-MS (Brasil, 1993), 326/97-MS (Brasil, 1997a) e 368/97-MAPA (Brasil, 1997c) e Resolução RDC nº 275/02-MS (Brasil, 2002).

As BPC aumentam a garantia de segurança e da manutenção da qualidade dos alimentos no segmento distribuição. O controle higiênico-sanitário deve acontecer em toda a cadeia desde a produção até a comercialização. Mesmo que o produto chegue ao comércio em boas condições, se não houver cuidados com o armazenamento, exposição e manipulação no ponto de venda, podem ocorrer contaminações físicas, químicas ou biológicas, podendo se tornar um problema de saúde pública (PAS Indústria, 2000; PAS Mesa, 2002; Mallon & Bortozolo, 2004; Beiro & Silva, 2009).

Várias feiras livres no Brasil, principalmente nas regiões Norte e Nordeste, são consideradas pontos turísticos e uma opção de alimentação. Entretanto, a segurança destes alimentos vendidos é questionável, pois estes produtos podem oferecer risco à saúde da população, devido às condições higiênico-sanitárias inadequadas em que são conservados e comercializados (Beiro & Silva, 2009). Esses alimentos ficam expostos em barracas sem refrigeração, sem embalagem, sujeitos a ações diretas dos microrganismos, patogênicos ou não, provenientes do ambiente, que podem alterar sua qualidade (Correia & Roncada, 1997; Lundgren et al., 2009). No caso dos queijos, especificamente, são vendidos em feiras livres em pedaços e sem embalagem.

Na ausência da embalagem, a alteração da qualidade, é devido à contaminação externa com material de origem biológica (como insetos, ácaros e microrganismos) ou não (como terra). A ausência de embalagem, também dificulta a identificação e procedência dos queijos, contribuindo para que o consumidor adquira produtos de qualidade duvidosa (Correia & Roncada, 1997).

Como o queijo também é comercializado em pedaços, a alteração da qualidade pode ocorrer durante a manipulação, como a utilização de uma mesma faca para cortes de produtos diferentes, pela higienização precária das

bancadas das barracas onde os queijos ficam expostos e pela contaminação cruzada entre os diferentes produtos expostos na barraca (Correia & Roncada, 1997).

Além disso, o transporte e o comércio do Requeijão do Sertão contrariam o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Requeijão, que regulamenta as condições de conservação e comercialização. Segundo este documento, o requeijão deverá ser mantido em uma temperatura inferior a 10 °C (Brasil, 1997b).

2.2. Nova tecnologia aplicada à fabricação do Requeijão do Sertão

Os queijos são produtos muito manipulados e, por este motivo, passíveis de contaminação, especialmente de origem microbiológica. Existem ainda agravantes como condições higiênico-sanitárias impróprias na fabricação de queijos artesanais processados com leite cru, sem o emprego das boas práticas e tecnologias adequadas (Veras et al., 2003).

Os fatores que contribuem para a segurança alimentar dos queijos em relação a bactérias patogênicas incluem: a qualidade do leite, a quantidade de ácido láctico produzido pela multiplicação de BAL no processo de fabricação, quantidade de sal, pH e controle das condições e alterações químicas que ocorrem durante a maturação. Também contribuem para a segurança o uso de culturas iniciadoras que produzem substâncias inibidoras de patógenos e também fornecem barreiras adicionais ao crescimento das bactérias (Donnelly, 2004).

O uso de leite pasteurizado, com emprego de fermento láctico, tem contribuído de forma significativa para a melhoria da qualidade dos queijos, tanto do ponto de vista tecnológico como de saúde pública (Johnson & Law, 2010). A tecnologia atua com fermentação mais controlada, maior rendimento, textura e sabor padronizados (Vieira, 1981). A pasteurização do leite, além de eliminar a maioria dos microrganismos indesejáveis, reduz grande parte da microbiota láctica do leite e influencia negativamente no desenvolvimento das características sensoriais próprias do produto (Grappin & Beuvier, 1997). Isto pode ser amenizado pela adição de fermento láctico, logo após a etapa de pasteurização.

A seleção de um fermento láctico é realizada por meio da avaliação de propriedades tecnológicas de BAL como, produção de ácido láctico, produção de sabor e aroma, tolerância ao sal, produção de bacteriocinas, sensibilidade ao aquecimento, resistência a bacteriófagos e outras (Fox et al., 2000; Hassan & Frank, 2001; Ayad et al., 2004). É comum o emprego de BAL, na forma de fermento láctico, para elaboração de produtos lácteos fermentados, como leite acidificado (Furet et al., 2004; Savadogo et al., 2004), iogurte (Park & Oh, 2007; Mazahreh & Ershidat, 2009) e queijos (Guedes Neto et al., 2005 ; Ayad et al., 2006; Madrau et al., 2006 ; Zamfir et al., 2006; Carvalho, 2007 ; Vernile et al. 2008; Bruno & Gasparin, 2009; Lima et al., 2009).

Um bom fermento láctico deve promover a acidificação rápida do leite, durante o processo fermentativo e, assim, garantir a segurança do produto (Beresford & Williams, 2004). As BAL isoladas e selecionadas consistem em uma preparação microbiana ativa, adicionadas intencionalmente durante a fabricação do produto, para iniciar mudanças desejáveis (Hassan & Frank, 2001).

O Requeijão do Sertão, objeto desta pesquisa, é produzido artesanalmente na Microrregião de Guanambi, Bahia, por produtores rurais em pequenas agroindústrias familiares, com a utilização de leite cru obtido de ordenha manual.

A proposta deste trabalho é de fabricar o requeijão com leite pasteurizado, buscando minimizar possíveis riscos à saúde do consumidor e aumentar a vida de prateleira do produto, com a eliminação das bactérias patogênicas.

A pasteurização do leite também elimina as BAL desejáveis no processo. A manutenção das características organolépticas típicas do requeijão poderia ser favorecida pela adição de BAL ao leite pasteurizado, visando aproximá-lo do que é conseguido artesanalmente.

2.3. Análise sensorial

A análise sensorial é uma ciência que objetiva, principalmente, estudar as percepções, sensações e reações do consumidor sobre as características dos produtos, incluindo sua aceitação ou rejeição (Lucia et al., 2010).

Os métodos sensoriais podem ser divididos em: a) discriminativos, que avaliam diferenças entre duas ou mais amostras, b) descritivos, que descrevem e quantificam diferenças sensoriais entre amostras, c) afetivos, que avaliam a aceitação e preferência dos consumidores com relação às amostras (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

No teste afetivo, o julgador expressa seu estado emocional ou reação afetiva ao escolher um produto pelo outro. É a forma usual de se medir a opinião de um grande número de consumidores com respeito às suas preferências, gostos e opiniões. Os julgadores não precisam ser treinados bastando ser consumidores frequentes do produto em avaliação. Os testes afetivos podem ser qualitativos ou quantitativos (Instituto Adolfo Lutz, 2008; Lucia et al., 2010).

Os testes afetivos quantitativos são utilizados para avaliar as respostas dos consumidores em relação às suas preferências, gostos e opiniões e aos atributos sensoriais dos produtos. São classificados em duas categorias: teste de preferência (escolha) e teste de aceitação (categoria) (Instituto Adolfo Lutz, 2008; Lucia et al., 2010).

O teste de aceitabilidade é utilizado principalmente para testar novos produtos, avaliando o grau em que os consumidores gostam ou desgostam do mesmo buscando uma medida da disposição do consumidor de comprar (Chaves & Sproesser, 1993). Existem várias escalas para medir a aceitação, e as mais empregadas são a hedônica, do ideal e de atitude (Reis & Minim, 2010).

A escala hedônica é facilmente compreendida pelos consumidores e consiste em apresentar as amostras de um determinado produto, de maneira inteiramente ao acaso, aos provadores. Pergunta-se sobre a preferência do produto, seguindo uma escala previamente estabelecida, baseada nos atributos de “gosta” e “desgosta”. Os pontos da escala são definidos por palavras, que são transformadas em valores numéricos, possibilitando desta forma a análise estatística dos resultados (Reis & Minim, 2010).

Assim, o objetivo deste trabalho foi propor uma tecnologia de fabricação do Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi (Bahia), com segurança alimentar, a partir de leite pasteurizado com adição de bactérias ácido lácticas (BAL), buscando minimizar possíveis riscos à saúde do consumidor e também

aumentar a vida de prateleira do produto sem alterar totalmente suas características sensoriais. Também avaliar a aceitabilidade e a intenção de compra do requeijão elaborado a partir de leite pasteurizado, inoculado e fermentado a partir das BAL, isoladas nas propriedades produtoras de Requeijão do Sertão. Além disso, objetivou-se avaliar a utilização de boas práticas na cadeia produtiva, após treinamento dos produtores.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Treinamento de produtores e/ou comerciantes

Com o intuito de divulgar a tecnologia aos produtores de leite e/ou requeijão e/ou comerciantes da Microrregião de Guanambi, Bahia, foram realizadas as palestras: “Boas Práticas Agropecuárias”, “Boas Práticas de Fabricação” e “Boas Práticas de Comercialização” em um Dia de Campo, realizado no dia 28 de janeiro de 2011, no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano (IF Baiano), *Campus* Guanambi, com carga horária de 8 horas. O evento contou com a participação de 25 produtores e objetivou a conscientização dos participantes sobre a importância da utilização das boas práticas para a obtenção de um produto de alta qualidade e aceitabilidade. Dois meses após o treinamento, procurou-se verificar melhorias na cadeia produtiva por meio da realização de um *checklist* entre cinco agroindústrias escolhidas aleatoriamente dos produtores participantes.

3.2. Checklist

Dentre as técnicas utilizadas para a avaliação das BPF existe a análise observacional por meio da aplicação de *checklist* (Almeida et al., 1995; Genta et al., 2005; Tomich et al., 2005; Millezi et al., 2007; Oliveira et al., 2007; Seixas et al., 2008; Santos & Hoffmann, 2010), que foi utilizada para avaliar cinco agroindústrias familiares (A1, A2, A3, A4 e A5) na Microrregião de Guanambi.

O *checklist* foi elaborado com o objetivo de identificar melhorias após a capacitação no dia de campo, das condições locais, que poderiam contribuir na determinação da qualidade microbiológica do requeijão. Foi utilizado um formulário próprio composto por questões objetivas, de acordo com as normas

estabelecidas pelas portarias 326/97 (Brasil, 1997a), 368/97 (Brasil, 1997c) e Resolução RDC nº 275 (Brasil, 2002).

O questionário contou com 164 itens de verificação das BPF, sob o ponto de vista higiênico-sanitário agrupados por assunto, em cinco blocos. Bloco 1: edificações/instalações; bloco 2: equipamentos/utensílios; bloco 3: manipuladores; bloco 4: manufatura do alimento e bloco 5: documentação (Anexo A) (Brasil, 2002).

O preenchimento foi feito por meio de observações no próprio local. As opções de respostas foram: “sim” (S), quando o estabelecimento atendeu ao item observado; “não” (N), quando o mesmo não atendeu e, “não se aplica” (NA), quando o item não foi pertinente à avaliação do estabelecimento checado.

3.2.1. Metodologia de análise

Visando caracterizar a situação das agroindústrias familiares da Microrregião de Guanambi, procurou-se analisar as adequações quanto às BPF e às condições operacionais, utilizando o *checklist* (Brasil, 2002).

Cada item avaliado foi classificado em: conformidade (valor=1) ou não conformidade (valor=0). Os itens, cuja resposta foi “não se aplica”, não foram computados na soma final e, portanto, não foram analisados.

O número total de conformidades para cada bloco está demonstrado na Tabela 1.

Ao final da inspeção, as agroindústrias analisadas foram classificadas em “boa, regular ou deficiente”, conforme demonstrado pela Tabela 2. A pontuação final foi obtida pelo somatório das conformidades de todos os blocos que totalizam, no máximo, 164 pontos. A soma dos pontos dos cinco blocos deveria atingir pontuação mínima de 84 pontos de conformidades para ser considerada “regular” e dentro dos padrões estabelecidos (Tabela 2). Abaixo desta pontuação, deveria haver melhorias, adotando-se as boas práticas higiênico-sanitárias exigidas (Brasil, 2002).

Tabela 1. Divisão dos blocos e número de itens avaliados.

Blocos	Número de itens avaliados
1 - Edificações e instalações	79
2 - Equipamentos, móveis e utensílios	21
3 - Manipuladores	14
4 - Produção e transporte dos alimentos	33
5 - Documentação	17
Total	164

Fonte: Brasil, 2002.

Tabela 2. Classificação higiênico-sanitária para a agroindústria familiar.

Classificação	Faixa de Pontuação	Faixa de Porcentagem
Boa	124-164	76-100%
Regular	84-123	51-75%
Deficiente	0-83	0-50%

Fonte: Adaptada de Brasil, 2002; Santos, 2009.

3.3. Nova tecnologia aplicada ao processo de fabricação

Com o intuito de minimizar os riscos de contaminação que o leite cru pode causar ao requeijão e à segurança do consumidor, foi proposta uma tecnologia de produção para o Requeijão do Sertão. Foi utilizada a técnica de produção mais comum na Microrregião de Guanambi, com os diferenciais do tratamento inicial dado ao leite (de leite cru para leite pasteurizado) e das condições de fermentação (de microbiota autóctone do leite cru para adição de bactérias do ácido láctico).

50 cepas de BAL oriundas do isolamento de leite cru, superfícies de utensílios e requeijão da Microrregião de Guanambi foram reativadas em leite em pó desnatado reconstituído a 12% (m/v) esterilizado. 20 µL de todas as culturas reativadas foram inoculados em tubos rosqueados com um volume de 10 mL de leite em pó desnatado reconstituído a 10% (m/v) estéril. Posteriormente foram incubadas a 37°C para o teste de lactofermentação. Após crescimento foram então selecionados aleatoriamente 15 coágulos do tipo gelatinoso.

As culturas que deram origem aos coágulos selecionados foram então inoculadas (1%) em leite pasteurizado e aquecido à temperatura de 36°C (temperatura de inoculação das bactérias láticas mesofílicas).

Após a fabricação do requeijão, utilizando a tecnologia sugerida, foi realizada a análise sensorial para comparação com o requeijão fabricado tradicionalmente com leite cru (RLC). A análise sensorial foi realizada pelos testes de aceitação e de intenção de compra, após um a três dias de fabricação, período este considerado em virtude de ser o período médio de consumo do produto na microrregião.

As etapas básicas utilizadas na fabricação dos requeijões, juntamente com as variações que originaram os dois tratamentos, estão representadas no fluxograma da Figura 1.

3.4. Análise sensorial

3.4.1. Teste de aceitação

A análise sensorial foi realizada no IF Baiano, *Campus* Guanambi, nos dias 16 e 17 de março de 2011, para medir a aceitabilidade dos provadores com relação às amostras de requeijão fabricadas com leite cru, na presença da microbiota autóctone e leite pasteurizado, com adição de gêneros de bactérias ácido láticas isoladas de leite cru, superfícies de utensílios e requeijão da Microrregião de Guanambi. Foi empregado o teste de aceitação, utilizando-se escala hedônica estruturada de nove pontos para avaliação global, onde 9 representava a nota máxima (gostei muitíssimo) e 1 representava a nota mínima (desgostei muitíssimo) (Lawless & Heymann, 1999; Stone & Sidel, 2004; Chambers IV & Wolf, 2005; Zenebon & Pascuet, 2008; Lim & Fujimarua, 2010; Nicolas et al., 2010; Reis & Minim, 2010).

O teste foi realizado com 233 provadores não treinados (considerados consumidores). A degustação e o preenchimento da ficha (Anexo B) foram realizados por professores, alunos e funcionários do IF Baiano, *Campus* Guanambi. Destes, 138 eram homens e 95 eram mulheres, sendo a faixa etária de 14 a 56 anos.

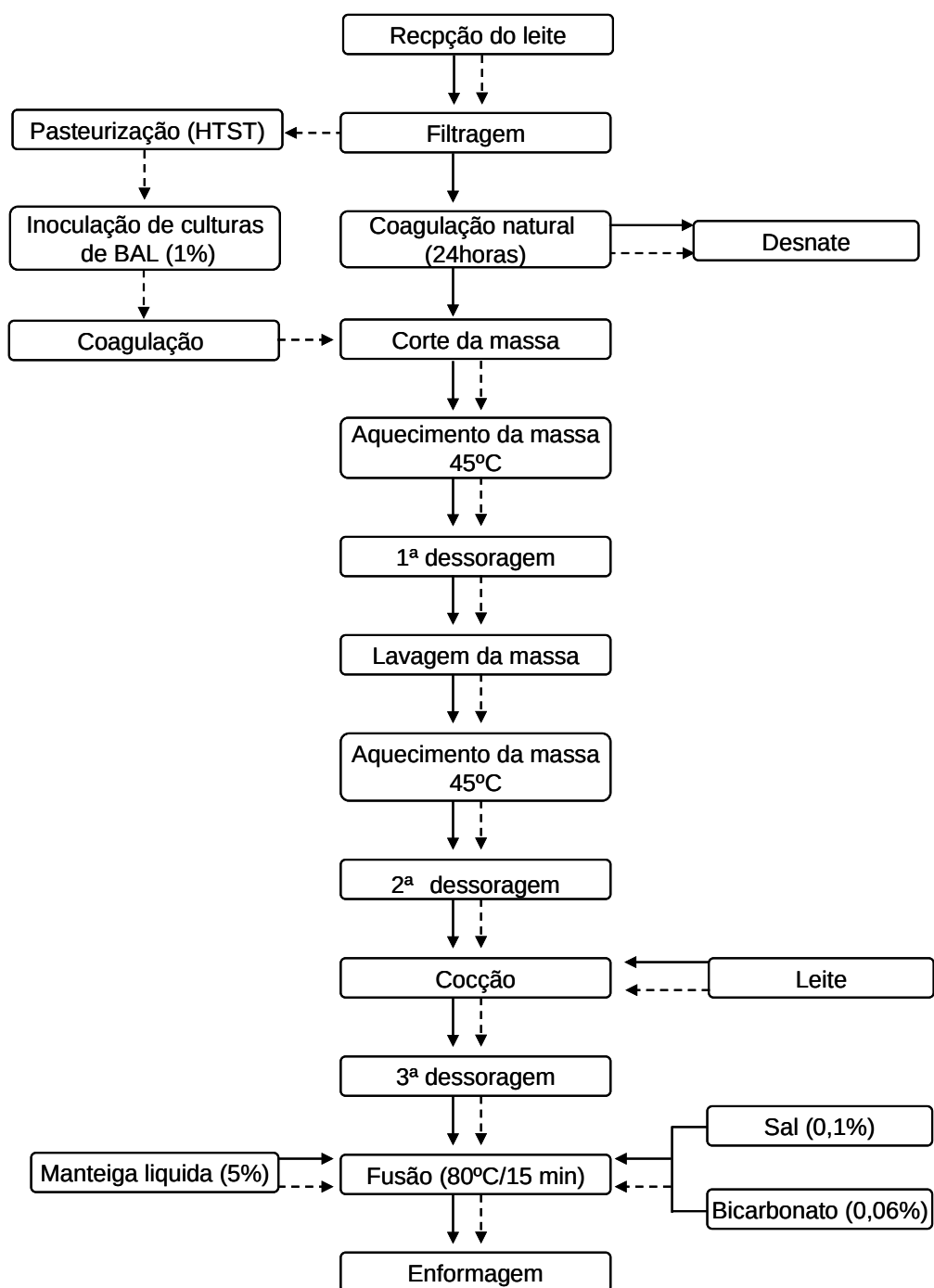


Figura 1. Fluxograma de processamento do Requeijão do Sertão fabricado na Microrregião de Guanambi, Bahia (linha contínua, processamento artesanal com leite cru; linha tracejada, processamento com leite pasteurizado/inoculado com BAL).

As amostras codificadas com números aleatórios de três dígitos foram apresentadas de forma monádica (uma de cada vez) e sequencial (uma após a outra) (Stone & Sidel, 2004; Chambers IV & Wolf, 2005; Ishii et al., 2007;

Colyar et al., 2009; Villanueva & Silva, 2009; Reis & Minim, 2010) em copos plásticos descartáveis de 50 mL, à temperatura ambiente, cortadas em forma de cubos de 2,0 cm³. Água mineral e biscoito água e sal foram servidos, entre a avaliação de uma amostra e outra, para remoção do sabor residual (Instituto Adolfo Lutz, 2008). A ordem de apresentação das amostras aos participantes da análise sensorial foi aleatória.

3.4.2. Teste de intenção de compra

Concomitantemente ao teste de aceitação, foi avaliada a intenção de compra das amostras, utilizando-se uma escala hedônica estruturada de cinco pontos, onde 5 representava a nota máxima (certamente compraria) e 1 representava a nota mínima (certamente não compraria) (Reis & Minim, 2010) (Anexo C).

3.4.3. Análises estatísticas

Os resultados dos testes de aceitação e de intenção de compra foram avaliados pela análise da distribuição de frequências dos valores hedônicos obtidos em cada amostra, por meio do histograma. Os histogramas tornam possível a visualização da segmentação dos valores hedônicos de cada amostra, revelando níveis de aceitação e rejeição (Instituto Adolfo Lutz, 2008; Zenebon & Pascuet, 2008; Reis & Minim, 2010).

Para o teste de aceitação, as notas dadas pelos provadores foram somadas e transformadas em percentuais. A amostra de requeijão, considerada aceita, foi aquela com maior percentual de valor de notas acima de 5. O valor 5 foi considerado como indiferença (Ficha do anexo B). O mesmo foi realizado para o teste de intenção de compra, sendo o valor de indiferença igual a 3 (Ficha do anexo C).

Para o teste da preferência, os dados foram submetidos ao procedimento ANOVA (Instituto Adolfo Lutz, 2008; Zenebon & Pascuet, 2008; Reis & Minim, 2010), usando o programa de computador Statistical Analysis System (SAS) (SAS, 2001). O delineamento usado foi o de blocos completos balanceados, onde cada provador foi considerado um bloco, e duas amostras (RLP e RLC) (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Checklist

A aplicação do *checklist* é uma técnica utilizada para a avaliação das BPF por meio de análise observacional. Esta técnica mostrou-se apropriada para a avaliação das BPF nas cinco agroindústrias estudadas, permitindo uma avaliação rápida, e de baixo custo. Outra vantagem da avaliação, é que por ser através de observação, elimina a desconfiança do produtor.

Na tabela 3 estão apresentados os resultados do *checklist* para as cinco agroindústrias pesquisadas com total de conformidades, não conformidades e itens “não aplicáveis” para cada bloco avaliado.

Tabela 3. Número total de conformidades, não conformidades e “não aplicável” (NA), do *checklist* aplicado em cinco agroindústrias familiares (A1, A2, A3, A4 e A5) produtoras de Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia.

Blocos	V	NA	TV	A1	A2	A3	A4	A5
1. Edificação e Instalações	79	33	46	35	32	37	26	17
2. Equipamentos, móveis e utensílios	21	6	15	10	10	12	9	3
3. Manipuladores	14	7	7	4	4	5	5	2
4. Produção e transporte do alimento	33	18	15	7	6	7	7	5
5. Documentação	17	17	0	0	0	0	0	0
Nº. total de requisitos	164	81	83	—	—	—	—	—
Nº. total de conformidades	—	—	—	56	52	61	47	27
Nº. total de não conformidades	—	—	—	27	31	22	36	56
Nº. total de não aplicáveis	—	—	—	81	81	81	81	81

V= verificações; NA= não aplicáveis; TV= total de verificações; A= agroindústrias familiares.

A porcentagem total de itens considerados não aplicáveis foi de 49% (81 itens) e de conformidades 51% (83 itens). Então no total inicial de 164 itens de verificação, restaram apenas 83 itens.

A alta porcentagem de itens não aplicáveis mostra a necessidade das agroindústrias pesquisadas de se adequarem imediatamente à RDC nº 275 que estabelece procedimentos de Boas Práticas e dispõe sobre os Procedimentos Operacionais Padronizados (Brasil, 2004).

Tabela de classificação das agroindústrias

Ao final da inspeção, do total inicial de 164 itens de verificação, 81 itens foram de não conformidades, o que gerou uma nova tabela de classificação (Tabela 4) com 83 itens de verificação, na qual as agroindústrias analisadas foram classificadas em “boa, regular ou deficiente”. A pontuação final foi obtida pelo somatório das conformidades e não conformidades.

A agroindústria para ser considerada “regular” deveria atingir pontuação mínima de 42 pontos de conformidades e ficar dentro dos padrões estabelecidos.

Tabela 4. Classificação higiênico-sanitária para a agroindústria familiar.

Classificação	Faixa de Pontuação	Faixa de Porcentagem
Boa	63-83	76-100%
Regular	42-62	51-75%
Deficiente	0-41	0-50%

Fonte: Adaptada de Brasil, 2002.

De acordo com a Figura 2, as agroindústrias A1 e A3 foram classificadas como boas, as A2 e A4 foram classificadas como regulares e a A5 classificada como deficiente.

As inadequações identificadas decorrem de um ambiente improvisado de trabalho, associado a uma percepção de “prolongamento domiciliar”, ou seja, não se utilizam edificações próprias para esse fim. Portanto, torna-se visível a importância de adotar ações corretivas para aperfeiçoar as condições das edificações e instalações. Também é importante melhorias, principalmente nos critérios que estejam diretamente envolvidos na elaboração do alimento, como, por exemplo, higiene, controle de pragas, abastecimento de água e manejo de resíduos.

Muitas vezes, a presença de pragas está relacionada ao desconhecimento das medidas preventivas e corretivas do ambiente (Cramer, 2006), como remoção de lixo do ambiente interno e externo, eliminação de frestas e fendas, fixação de telas em janelas e fixação de molas e soleiras em portas. Estas são ações importantes no controle de pássaros, insetos e roedores (PAS Mesa, 2001).

Bloco1. Edificações e instalações

As conformidades das condições higiênico-sanitárias, obtidas por meio do *checklist* para o bloco 1, encontram-se ilustradas na Figura 2.

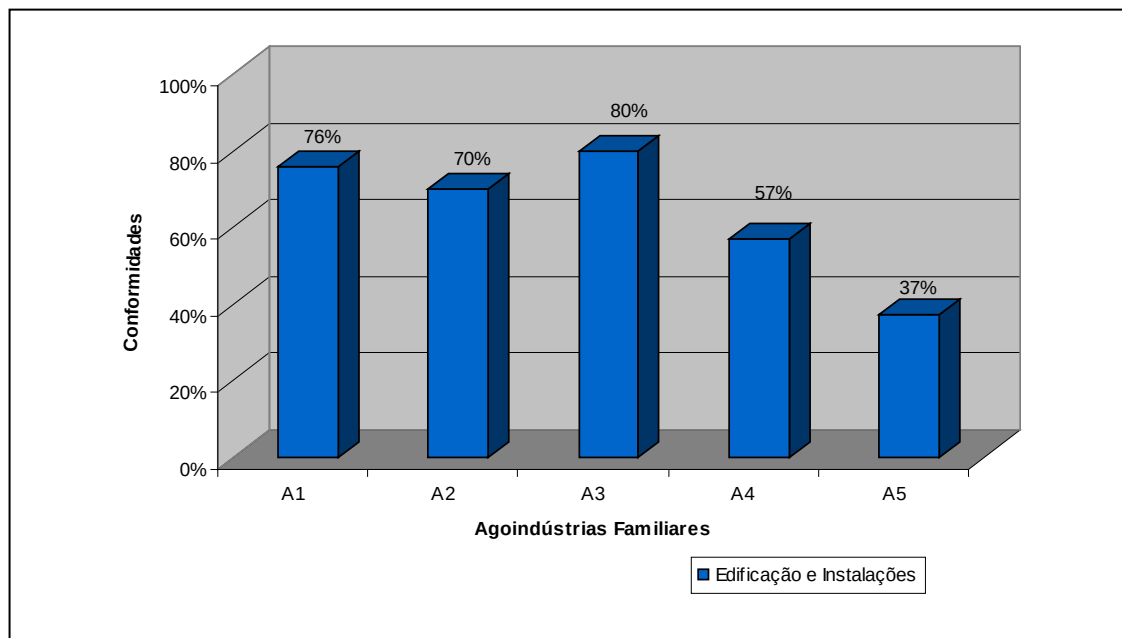


Figura 2. Conformidades para o bloco 1 referente à edificação e instalações das agroindústrias familiares na Microrregião de Guanambi, Bahia. Classificação das agroindústrias: Boa (76-100%), Regular (51-75%) e Deficiente (0-50%).

Com relação ao abastecimento de água, o controle da qualidade da água para qualquer uso na indústria de alimentos é necessário para evitar possíveis riscos à saúde dos consumidores e dos produtos comercializados (PAS Mesa, 2001; Andrade, 2008).

A água constitui um importante veículo de contaminação, por estar envolvida nas diversas atividades realizadas na manipulação de alimentos (Brasil, 2004; Cramer, 2006). A água faz parte da formulação de produtos, participa de várias etapas do processamento e entra em contato com alimentos, equipamentos e utensílios. Também é utilizada para a lavagem de mãos e asseio pessoal (Andrade, 2008).

Portanto, é importante o estabelecimento de rotinas de análises e controle de higienização do reservatório, de modo a evitar o uso da água como veículo de contaminação (PAS Mesa, 2001; Brasil, 2004).

Bloco2. Equipamentos, móveis e utensílios

A Figura 3 ilustra as conformidades das condições higiênico-sanitárias para equipamentos, móveis e utensílios (bloco 2).

A agroindústria de número 3, com 80% de critérios em conformidade foi classificada como boa. As A1, A2 e A4 foram classificadas como regulares dentro deste quesito e mantiveram um padrão relativamente constante entre 60 e 67%. A A5 foi classificada como deficiente.

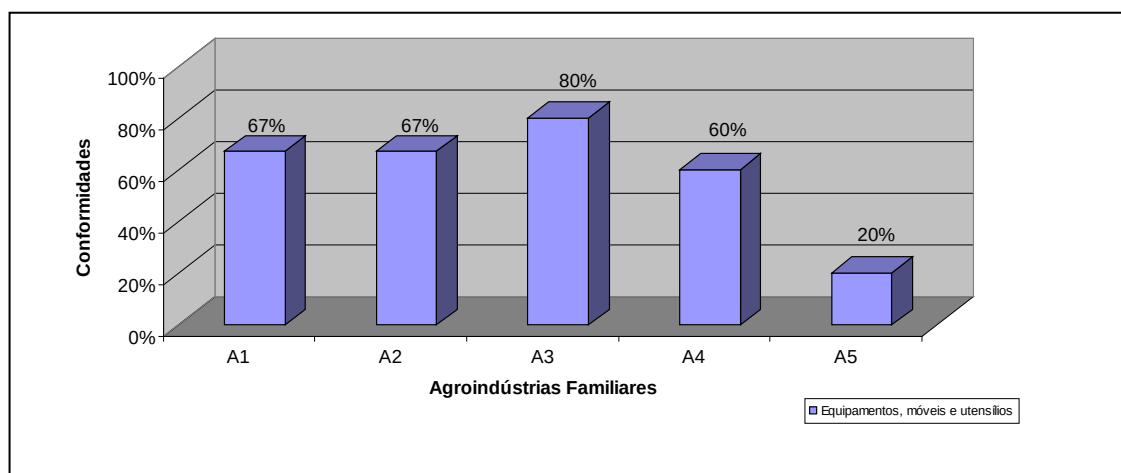


Figura 3. Conformidades para o bloco 2 referente a equipamentos, móveis e utensílios das agroindústrias familiares na Microrregião de Guanambi, Bahia. Classificação das agroindústrias: Boa (76-100%), Regular (51-75%), Deficiente (0-50%).

A importância destes resultados pode ser compreendida quando se observa que superfícies de equipamentos e utensílios que entram em contato com o alimento durante a sua preparação podem se tornar focos de contaminação, principalmente quando não forem submetidos a processos de higienização adequados e eficientes (Jay, 2005; Cramer, 2006; Bastos, 2008).

As bactérias patogênicas são frequentemente encontradas em alimentos contaminados (Andrade et al., 2008) e podem estar presentes em partículas de alimentos ou em água depositadas sobre os utensílios lavados inadequadamente.

A utilização de equipamentos e utensílios em condições precárias, com superfícies danificadas, de material poroso e com incrustações, pode agregar

microrganismos de origens diversas (Cramer, 2006; Andrade, 2008), como os presentes no ar, na água, nos manipuladores e no próprio alimento.

Ao encontrarem condições favoráveis ao seu desenvolvimento, estes microrganismos atingem números elevados, podendo contaminar os alimentos que entram em contato com estas superfícies incrustadas e contaminadas (Andrade, 2008).

Bloco3. Manipuladores

A Figura 4 ilustra o total de conformidades higiênico-sanitárias referentes aos manipuladores (bloco 3) das agroindústrias familiares produtoras de Requeijão do Sertão.

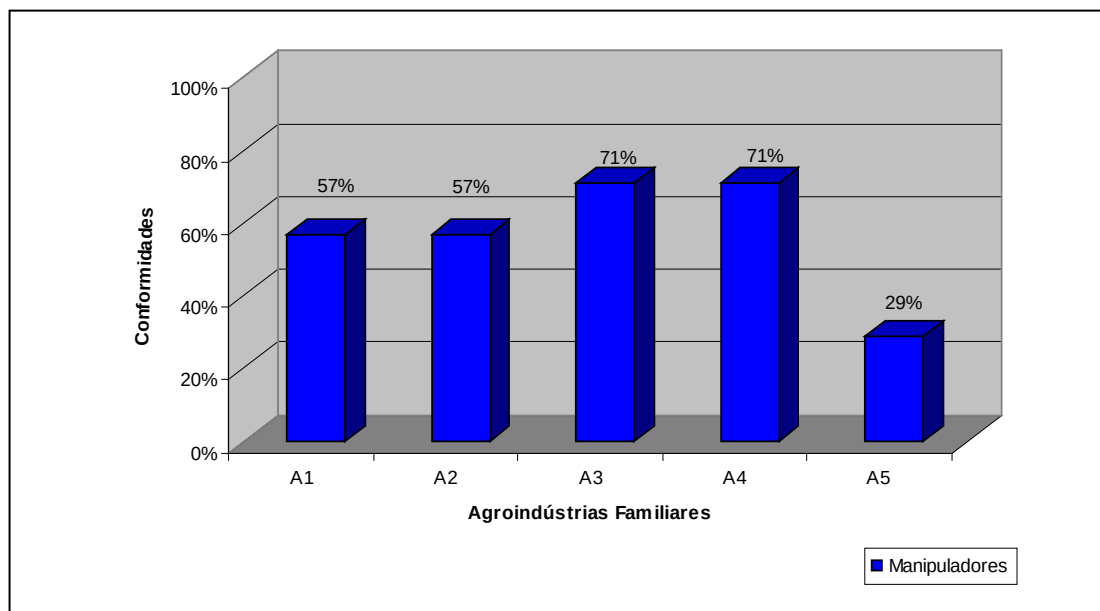


Figura 4. Conformidades para o bloco 3 referente aos manipuladores das agroindústrias familiares na Microrregião de Guanambi, Bahia. Classificação das agroindústrias: Boa (76-100%), Regular (51-75%) e Deficiente (0-50%).

Os dados do *checklist* para o bloco manipuladores mostram que as agroindústrias A1, A2, A3 e A4 são classificadas como regulares e a A5 como deficiente.

A importância destes dados é constatada quando se observa que as ações dos manipuladores (agentes disseminadores de microrganismos aos equipamentos, utensílios e aos alimentos) estão entre os maiores fatores de

risco de contaminação dos alimentos (Oliveira et al., 2007). Portanto, existe a necessidade de uma atenção especial com esses profissionais. Mesmo sem grandes investimentos, esta situação pode ser revertida, como, por exemplo, com a orientação adequada aos mesmos.

A lavagem e desinfecção correta das mãos, embora não garanta que as mesmas fiquem livres de microrganismos, é o primeiro requisito da higiene pessoal para reduzir a população bacteriana (Almeida et al., 1995; Cramer, 2006; Millezi, et al., 2007; Bastos, 2008; Kochanski et al., 2009). No entanto, essa prática, simples e eficaz, é uma das mais difíceis de serem realizadas por parte dos manipuladores de alimentos (Almeida et al., 1995).

Sendo assim é fundamental que os manipuladores se conscientizem da sua importância na produção de alimentos de boa qualidade e seguros para o consumo (PAS Mesa, 2001; Oliveira et al., 2007; Mudey et al., 2010). Destaca-se, portanto, o papel da informação/ formação dos manipuladores.

Bloco4. Produção e transporte dos alimentos

O bloco direcionado à manufatura dos produtos (bloco 4), apresentou um resultado próximos de conformidades para todas as agroindústrias (Figura 5). E, todas elas foram classificadas como deficientes.

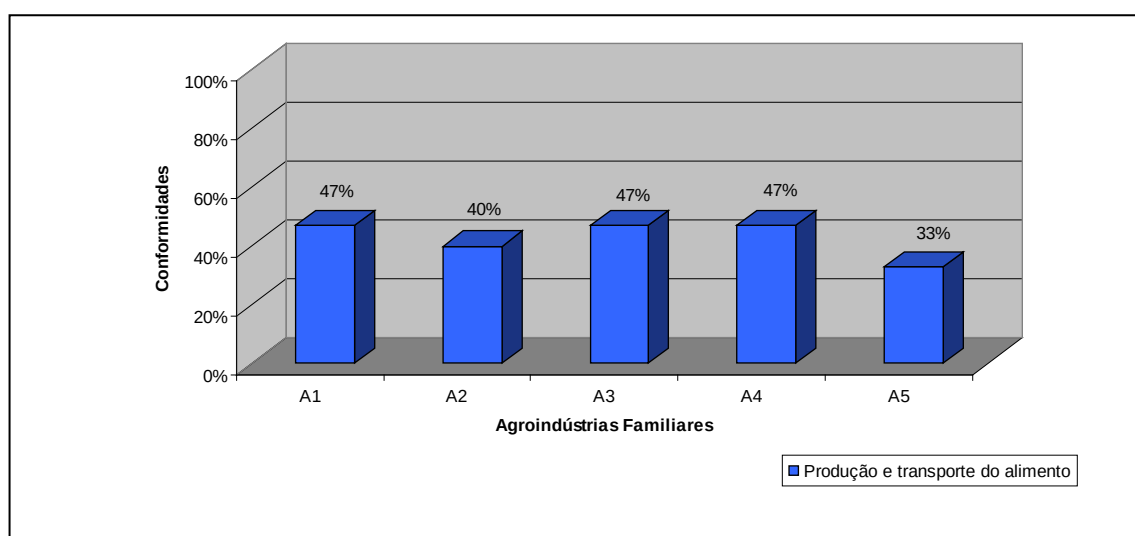


Figura 5. Conformidades para o bloco 4 referente à produção e transporte de alimentos das agroindústrias familiares na Microrregião de Guanambi, Bahia. Classificação das agroindústrias: Boa (76-100%), Regular (51-75%) e Deficiente (0-50%).

Este bloco basicamente resume a cadeia produtiva do Requeijão do Sertão.

A situação encontrada reflete na qualidade higiênico-sanitária final do produto, já que todas as agroindústrias ficaram classificadas como deficientes nesse quesito. Portanto, faz-se necessário difundir e implantar as Boas Práticas, que constituem ferramenta capaz de promover a inocuidade alimentar, em toda a cadeia produtiva do requeijão.

Os procedimentos de controle devem ser simples, e ter por objetivo a segurança do produto final. A aplicação de Boas Práticas é uma alternativa adequada, quando as atividades de controle do processo (das operações) não garantem esta segurança (PAS Mesa, 2001).

O *Codex Alimentarius* estabelece o controle higiênico-sanitário da matéria-prima como uma das prioridades para a segurança dos alimentos em fases posteriores da cadeia alimentar (Codex Alimentarius, 2003).

Tanto o armazenamento quanto o transporte do alimento preparado, da distribuição até a entrega para consumo, devem ocorrer em condições de tempo e temperatura que não comprometam sua qualidade higiênico-sanitária. Os veículos que fazem o transporte destes alimentos devem ser dotados de cobertura para proteção da carga, não devendo transportar outros materiais que comprometam a qualidade higiênico-sanitária do alimento preparado (Brasil, 2004).

Bloco5. Documentação

A Figura 6 ilustra o total de conformidades higiênico-sanitárias quanto à documentação das agroindústrias pesquisadas (bloco 5).

As questões relacionadas com a documentação não fazem parte da realidade, no ambiente produtivo das agroindústrias pesquisadas. Nenhuma de suas atividades possui qualquer tipo de anotação ou registro: de aquisição de matéria prima ou insumos, de controle no processamento, de custos de produção, de controle de estoque e relativo à comercialização.

Neste bloco foi obtido o pior desempenho de toda a pesquisa com 0% de atendimento aos itens e, portanto, as agroindústrias de números 1, 2, 3, 4, e 5 foram classificadas em deficientes.

Classificação higiênico-sanitária das agroindústrias pesquisadas

A classificação das agroindústrias familiares quanto à adequação às BPF, após a aplicação do *checklist*, está ilustrada na Figura 6.

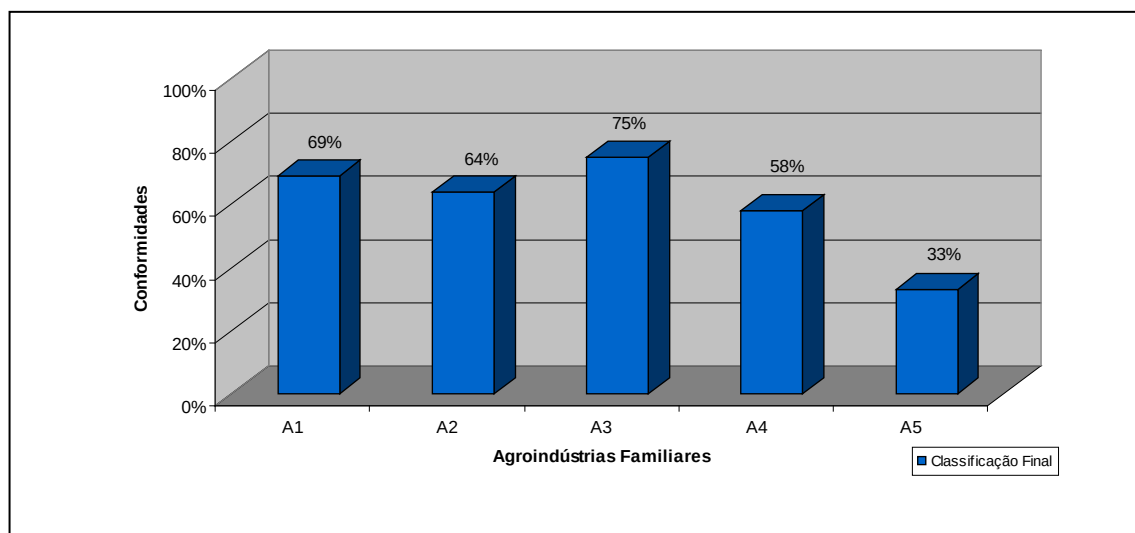


Figura 6. Classificação higiênico-sanitária de acordo com o total de conformidades das agroindústrias familiares na Microrregião de Guanambi, Bahia. Classificação das agroindústrias: Boa (76-100%), Regular (51-75%) e Deficiente (0-50%).

De acordo com a Figura 6, apenas a Agroindústria de número 3 ficou dentro dos padrões estabelecidos pela legislação para as condições higiênico-sanitárias avaliadas (75% de conformidades). As agroindústrias de números 1, 2 e 4 apresentaram 69%, 64% e 58% de conformidades, respectivamente; portanto, em condições regulares para a maioria dos critérios avaliados. A agroindústria de número 5, com 33% de conformidades, ficou classificada como deficiente e, portanto, em condições insatisfatórias para a maioria dos critérios avaliados.

De uma maneira geral, as unidades produtoras avaliadas, quanto às Boas Práticas de Fabricação, foram classificadas como “regular”, com porcentagem média de 63,7%. Os dados evidenciam que as condições tecnológicas de processamento e as BPF apresentam deficiências importantes e ainda são pouco aplicadas à produção de requeijão.

Este panorama está associado a recursos financeiros, recursos materiais e humanos disponíveis, a uma carência de investimentos em

infraestrutura básica, em capacitação e adaptação a melhores tecnologias, além dos hábitos e cultura de produção.

O questionário *check-list* permitiu levantar itens não conformes nas agroindústrias pesquisadas. A partir dos dados coletados, pode-se traçar ações corretivas para adequação dos requisitos buscando eliminar ou reduzir riscos físicos, químicos e biológicos, que possam comprometer o produto e a saúde do consumidor.

4.2. Análise sensorial

Para o teste da análise sensorial do Requeijão do Sertão foram coletadas 932 observações (233 julgadores, 2 testes e 2 amostras).

Aceitação global

A avaliação geral das amostras é uma característica importante por envolver uma impressão de todos os atributos sensoriais. A Figura 7 ilustra os resultados da análise sensorial quanto à aceitação global dos Requeijões do Sertão, produzidos com leite pasteurizado (RLP) e leite cru (RLC).

Dentro da região de aceitação da escala hedônica de “gostei ligeiramente” a “gostei extremamente”, o requeijão fabricado com leite pasteurizado obteve 80,3% das respostas e o fabricado com leite cru 95,2%.

Os maiores percentuais de aceitação concentram-se na nota 7 e 8 da escala hedônica. No ponto 7 da escala (gostei moderadamente), 32,6% dos provadores escolheram o RLP e 28,3% optaram pelo RLC. No ponto 8 da escala (gostei muito), 24,5 % optaram pelo RLP e 38,6% pelo RLC.

Os resultados mostram que houve boa aceitação dos requeijões pelos provadores independente das técnicas de produção, o que indica que o processo de pasteurização do leite e posterior inoculação com bactérias ácido lácticas interferiram pouco nas características sensoriais do requeijão

Atualmente, percebe-se um maior interesse dos consumidores por alimentos com qualidade e seguros, em razão da divulgação que vem sendo realizada, sobre os malefícios que podem promover no organismo alimentos contaminados. E isto é, portanto, um indicativo de que produtos artesanais desenvolvidos com tecnologias, visando qualidade e segurança, com o processo de fabricação que atenda à legislação, tenderão a ser mais aceitos.

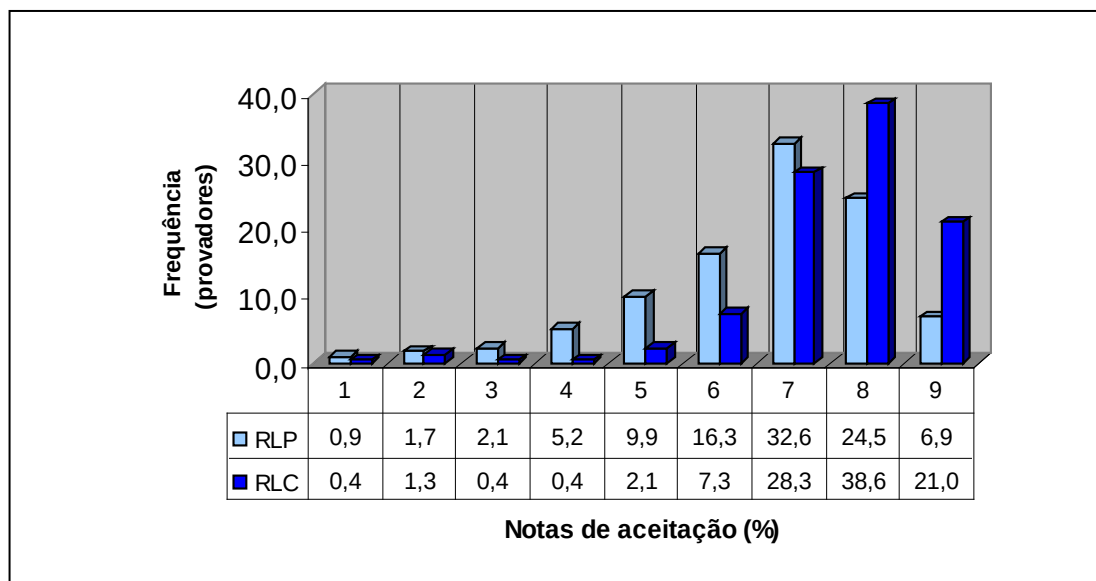


Figura 7. Histograma de frequências de notas para a aceitação global dos Requeijões do Sertão produzidos com leite pasteurizado (RLP) e leite cru (RLC) na Microrregião de Guanambi, Bahia: 1=desgostei extremamente, 2=desgostei muito, 3=desgostei moderadamente, 4=desgostei ligeiramente, 5=indiferente, 6=gostei ligeiramente, 7=gostei moderadamente, 8=gostei muito, 9=gostei extremamente.

Índice de aceitabilidade

O índice de aceitabilidade (Figura 8) foi calculado pela relação entre a nota média obtida e a nota máxima dada ao produto. Considera-se aceito o produto que for igual ou superior a 70% (Chaves e Sproesser, 2005).

Os requeijões RLP e RLC obtiveram 73,8% e 84,1% respectivamente, portanto, obtiveram uma boa aceitação dos provadores.

O hábito de consumo do requeijão fabricado com leite cru pode ter levado os provadores a uma melhor aceitação sensorial do que o fabricado com leite pasteurizado, apesar de ambos terem obtido aceitação satisfatória.

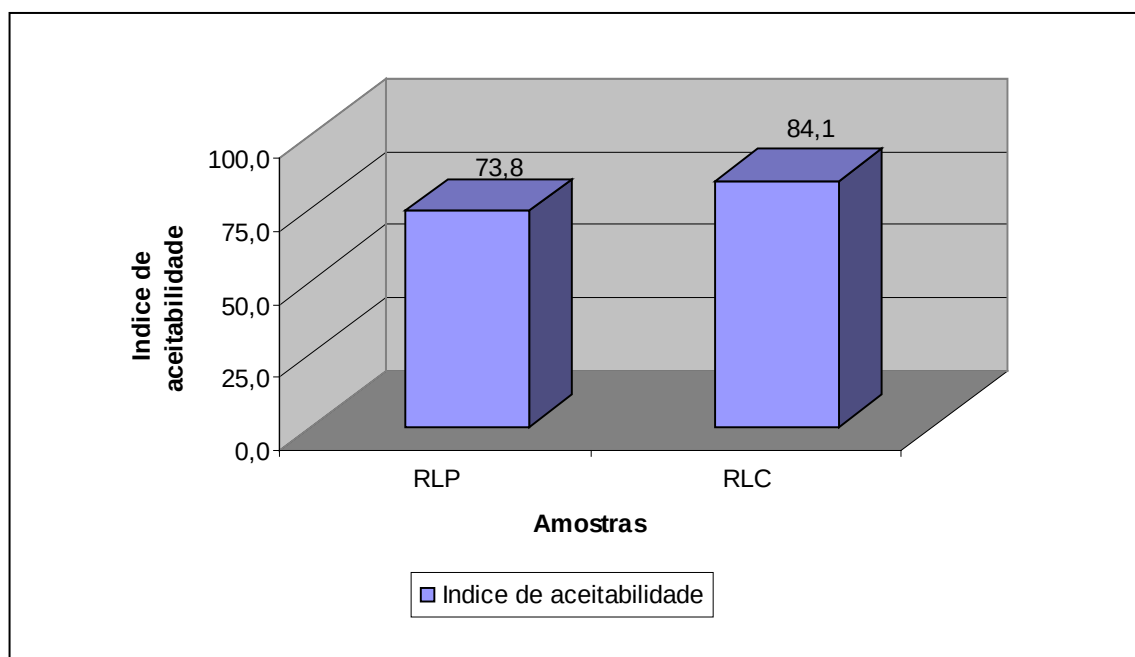


Figura 8. Índice de aceitabilidade da avaliação geral dos requeijões do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia.

Preferência

Na Tabela 5, encontra-se o resultado da ANOVA para o teste de ordenação-preferência das amostras de requeijão.

Tabela 5. Notas médias atribuídas no teste de ordenação-preferência do Requeijão do Sertão elaborado com leite pasteurizado e leite cru na Microrregião de Guanambi, Bahia.

Requeijão do Sertão	Média	Desvio
Leite pasteurizado	6,65b	1,58
Leite cru	7,57a	1,28

Nota: Valores seguidos de letras distintas, nas colunas, diferem estatisticamente pelo teste F(0,05) (com $p < 0,0001$).

A média geral de aceitação para o requeijão fabricado com leite pasteurizado (6,65) situou-se, na escala hedônica, entre “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”. O requeijão fabricado com leite cru (7,57) situou-se, na escala hedônica, entre “gostei moderadamente” e “gostei muito”.

A maior média representa o produto mais preferido, sendo este o RLC.

A pasteurização do leite reduz grande parte da microbiota láctica responsável pelas características sensoriais dos produtos lácteos. E, mesmo

com a adição de gêneros de bactérias ácido lácticas, o leite ficou com a biodiversidade limitada, e consequentemente, com as características organolépticas comprometidas.

Intenção de compra

Na Figura 9 está demonstrado o histograma de frequência da intenção de compra dos requeijões fabricados com leite pasteurizado e com leite cru.

Os resultados da intenção de compra reforçam, de certa forma, a aceitabilidade e preferência das amostras. Dentro da região 4 (possivelmente compraria) e 5 (compraria) da escala hedônica, o requeijão fabricado com leite pasteurizado obteve 73,4% das respostas e o fabricado com leite cru 90,6%.

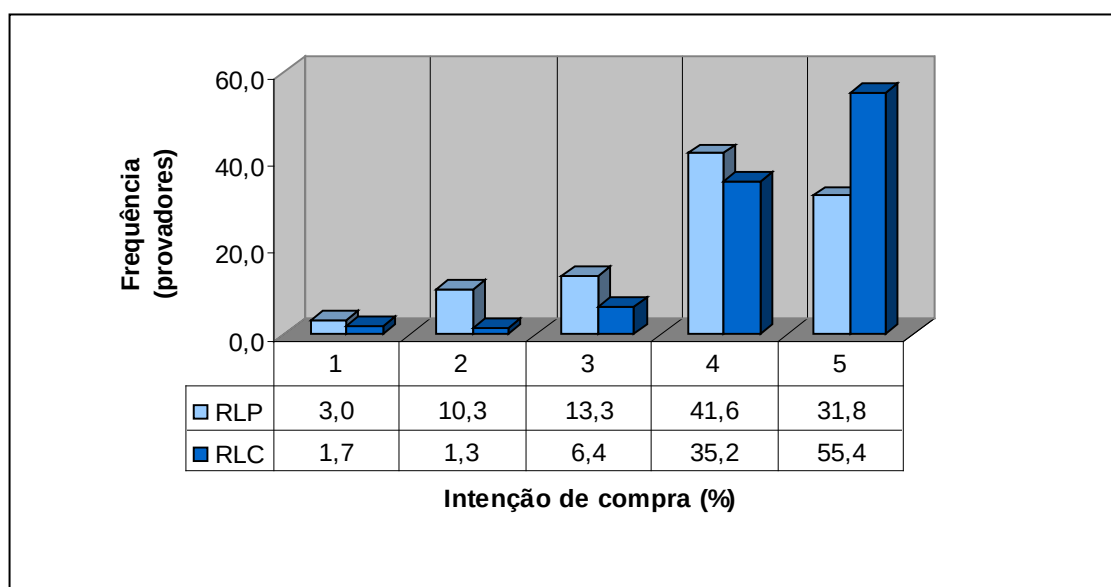


Figura 9. Histograma de frequência da intenção de compra do Requeijão do Sertão fabricado com leite pasteurizado (RLP) e leite cru (RLC) na Microrregião de Guanambi, Bahia: 1=certamente não compraria, 2=possivelmente não compraria, 3=indiferente, 4=possivelmente compraria, 5=certamente compraria.

Na avaliação geral, após a análise dos dados oriundos dos testes de aceitação e de intenção de compra, os consumidores perceberam diferença entre os requeijões fabricados com leite pasteurizado e com leite cru em relação às características sensoriais. Os resultados mostram a importância da microbiota do leite cru para as características sensoriais do produto.

5. CONCLUSÃO

As agroindústrias familiares, produtoras de Requeijão do Sertão na Microrregião de Guanambi, Bahia, foram classificadas como regulares com 63,7% de conformidades após aplicação do *checklist*.

O Requeijão do Sertão, fabricado com leite pasteurizado e leite cru, teve uma boa aceitação pelos provadores, na análise sensorial, com um índice superior a 70%, sendo que o requeijão fabricado com leite cru obteve maior aceitação sensorial que o fabricado com leite pasteurizado.

A preferência pelo RLC pode ser decorrente da familiarização do mesmo. Todavia, o RLP pode, paulatinamente, ser introduzido nos hábitos alimentares da microrregião, com campanhas explicativas da importância da pasteurização para a saúde pública, para uma fermentação mais controlada, para um maior rendimento, para a textura e o sabor padronizados e que ainda pode gerar maiores lucros, pois, o requeijão terá a vida de prateleira estendida. Por outro lado, o processamento industrial do requeijão deve ser estudado de forma a reduzir as diferenças sentidas pelos provadores, mas visando à preservação das características tradicionais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVARENGA, A.L.B.; ALVARENGA, M.B.; GOMES, C.A.O.; NASCIMENTO NETO, F. Princípios das Boas Práticas de Fabricação - Requisitos para a Implementação de Agroindústria de Agricultores Familiares. In: NASCIMENTO NETO, F. **Recomendações Básicas para Aplicação das Boas Práticas Agropecuárias e Fabricação na Agricultura Familiar**, Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. Cap. 1, p. 15-55.

ALMEIDA, R.C.C.; KUAYE, A.Y.; SERRANO, A.M.; ALMEIDA, P.F. Avaliação e controle da qualidade microbiológica de mãos de manipuladores de alimentos. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, vol. 29, n. 4, p. 290-294, 1995.

ALVES, S.L.C.; NEVES, M.C.P.; COSTA, J.R. Avaliação da Contaminação Microbiológica de Alface Orgânica e Convencional em Diferentes Pontos de Comercialização. **Comunicado Técnico**, n.105, Embrapa Agrobiologia, Seropédica, Rio de Janeiro, 2007.

ANDRADE, N.J. Qualidade e Tratamento da Água no Controle de Adesão Microbiana na Indústria de alimentos. In: _____ **Higiene na indústria de alimentos: avaliação e controle da adesão e da formação de biofilmes bacterianos**. São Paulo: Varela, 2008. Cap. 6, p. 305-331.

ANDRADE, N.J.; BASTOS, M.S.R.; FREITAS, L.H.; BERNARDES, P.C. Controle de Doenças de Origem Alimentar no Processamento de Alimentos. In: ANDRADE, N.J. **Higiene na indústria de alimentos: avaliação e controle da adesão e da formação de biofilmes bacterianos**. São Paulo: Varela, 2008. Cap. 5, p. 227-266.

AYAD, E.H.E.; NASHAT, S.; EL-SADEK, N.; METWALY, H.; EL-SODA, M. Selection of wild lactic acid bacteria isolated from traditional Egyptian dairy products according to production and technological criteria. **Food Microbiology**, vol.21, n. 6, p. 715-725, 2004.

AYAD E. H. E.; OMRAN N.; EL-SODAB M. Characterisation of lactic acid bacteria isolated from artisanal Egyptian Ras cheese. **Le Lait**, vol. 86, n.4, p. 317-331, July-August 2006.

BASTOS, C.C.B. **Condições higiênico-sanitárias no preparo de refeições em creches comunitárias de Belo Horizonte, Minas Gerais**. 2008. 112f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

BEIRÓ, C.F.F.; SILVA, M.C. Análise das condições de higiene na comercialização de alimentos em uma feira livre do Distrito Federal. **Universitas: Ciências da Saúde**, Brasília, vol. 7, n. 1, p. 13-28, 2009.

BERESFORD, T.; WILLIAMS, A. The microbiology of cheese ripening. In: FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H.; COGAN, T. M.; GUEENE, T. P. **Cheese chemistry, physics and microbiology**, 3rd ed., Amsterdam: Elsevier Academic Press, 2004. Vol.1, General Aspects. Cap.12, p. 287-317.

BHUNIA, A.K. Introduction to Foodborne Pathogens. In: _____ **Foodborne Microbial Pathogens - Mechanisms and Pathogenesis**. Springer, USA. 2008. Cap. 1, p. 1-16.

BLACKBURN, C.W.; MCCLURE, P.J. Introduction. In: _____ **Foodborne pathogens Hazards, risk analysis and control**. CRC Press, USA. 2002. Cap. 1, p. 3-12.

BRASIL. Portaria nº 1428/MS de 26 de novembro de 1993. Aprova o regulamento técnico para inspeção sanitária de alimentos, as diretrizes para o estabelecimento de boas práticas de produção e de prestação de serviços na área de alimentos e o regulamento técnico para o estabelecimento de padrões de identidade e qualidade (PIQ's) para serviços e produtos na área de alimentos. Ministério da Saúde. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 02 de dez. de 1993.

BRASIL. Portaria nº 326, 1997. Condições Higiênicas Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/ Industrializadores de Alimentos. Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. 1997a.

BRASIL. Portaria nº 359, 8 de setembro de 1997. Aprovar o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade do Requeijão ou Requesôn. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, Seção 1, p. 19690-19691. 1997b.

BRASIL. Portaria nº 368, 1997. Regulamento Técnico sobre as condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos elaboradores/ Industrializadores de Alimentos. Ministério da Agricultura e Abastecimento. 1997c.

BRASIL. Resolução RDC n. 275, (Ministério da Saúde / Anvisa) de 21 de outubro de 2002. Dispõe sobre o regulamento técnico de procedimentos operacionais padronizados aplicados aos estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos e a lista de verificação das boas práticas de fabricação em estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 06 de nov. de 2002, Seção 1, p. 4-21.

BRASIL. Resolução RDC n. 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre regulamento técnico de boas práticas para serviços de alimentação. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 16 de set. de 2004, Seção 1, p. 25.

BRITO, J. R. F.; PINTO, S. M., BRITO, M. A. V. P. Boas Práticas de Produção de Leite Bovino na Agricultura Familiar. In: NASCIMENTO NETO, F., **Recomendações Básicas para Aplicação das Boas Práticas Agropecuárias e Fabricação na Agricultura Familiar**, Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. Cap. 11, p. 195-205.

BRITO, M.A.V.P.; BRITO, J.R.F. Qualidade do Leite. In: Madalena, Matos, F.E.; L.L.; Holanda Júnior, E.V. **Produção de Leite e Sociedade: uma análise crítica da cadeia do leite no Brasil**. FEPMVZ- Editora Belo Horizonte, MG. 2001. Cap.3, p. 61-74.

BRITO, M.A.V.P.; SOUZA, G.N.; LANGE, C.C.; BRITO, J.R.F. Qualidade do leite armazenado em tanques coletivos. **Circular Técnica**, n. 99. Embrapa, Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, Novembro, 2009.

BRUNO, L. M.; GASPARIN, J. D. Microbiota Láctica de Queijos Artesanais. **Documento 124**. Embrapa AgroindústriaTropical. Fortaleza, CE, p.1-30, dezembro 2009.

CARVALHO, J. D. G. **Caracterização da microbiota láctica isolada de queijo de Coalho artesanal produzido no Ceará e de suas propriedades tecnológicas**. 2007. 154 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos)

Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2007.

CHAMBERS J. V., The microbiology of raw milk. In: ROBINSON R.K. (Ed.), **Dairy Microbiology Handbook: The microbiology of milk and milk products**, 3rd ed., John Wiley and Sons, New York, 2002. Cap.2, p.39-90.

CHAMBERS IV, E.; WOLF, M.B. Affective Testing. In: _____ **Sensory Testing Methods**. 2nd ed. ASTM International, USA. 2005. Cap. 6, p. 73-78.

CHAPAVAL, L.; ALVES, F.S.F. Boas Práticas de Produção de Leite de Cabra na Agricultura Familiar. In: NASCIMENTO NETO, F., **Recomendações Básicas para Aplicação das Boas Práticas Agropecuárias e Fabricação na Agricultura Familiar**, Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. Cap. 10, p. 183-193.

CHAVES, J.B.P; SPROESSER, R.L. **Práticas de Laboratório de Análise Sensorial de Alimentos e Bebidas**. Viçosa: Imprensa Universitária - UFV, 1999.

CHYE, F.; ABDULLAH, A.; AYOB, M.K. Bacteriological quality and safety of raw milkin Malaysia. **Food Microbiology**, vol. 21, n.5, p. 535–541, 2004.

CODEX ALIMENTARIUS. Recommended International Code of Practice General Principles of Food Hygiene. CAC/RCP 1-1996, Rev.4, 2003. p.7.

COLYAR, J.M.; EGGETT, D.L.; STEELE, F.M.; DUNN, M.L.; OGDEN, L.V. Sensitivity Comparison of Sequential Monadic and Side-by-Side Presentation Protocols in Affective Consumer Testing. **Journal of Food Science**, vol. 74, n. 7, p. 322-327, 2009.

CORREIA, M.; RONCADA, M. J. Características microscópicas de queijos prato e mussarela e mineiro comercializados em feiras livres da cidade de São Paulo. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, vol. 31, n. 3, p. 296-301, jun. 1997.

CRAMER, M.M. Employee Good Manufacturing Practices. In: _____ **Food plant sanitation: design, maintenance, and good manufacturing practices**. CRC Press Taylor & Francis Group. NW. 2006.

DONNELLY, C.W. Growth and Survival of Microbial Pathogens in Cheese. In: FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H.; COGAN, T. M.; GUEENE, T. P. **Cheese chemistry, physics and microbiology**, 3rd ed., Amsterdam: Elsevier Academic Press, 2004. Vol.1, General Aspects. Cap. 22, p. 541-559.

ESPINDOLA, J.A.A.; ALMEIDA, D.L.; MENEZES, E.L.A.; GUERRA, J.G.M.; NEVES, M.C.P.; FERNANDES, M.C.A.; RIBEIRO, R.L.D.; ASSIS, R.L.; PEIXOTO, R.T.G. Boas Práticas de Produção Orgânica Vegetal na Agricultura Familiar. In: NASCIMENTO NETO, F., **Recomendações Básicas para Aplicação das Boas Práticas Agropecuárias e Fabricação na Agricultura**

Familiar, Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. Cap. 6, p. 117-127.

FOX, P. F.; GUINEE, T. P.; COGAN, T. M.; McSWEENEY, P. L. H. Starter Cultures. In: _____ **Fundamentals of cheese science**. Gaithersburg: Aspen Publishers, Inc., 2000. Cap. 5, p. 54-97.

FOX, P. F.; GUINEE, T. P.; COGAN, T. M.; McSWEENEY, P. L. H. Bacteriology of Cheese Milk. In: _____ **Fundamentals of cheese science**. Gaithersburg: Aspen Publishers, Inc., 2000a. Cap. 4, p. 45-53.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Microrganismos Patogênicos de Importância em Alimentos. In: _____ **Microbiologia dos Alimentos**, Editora Atheneu, 2004. Cap. 4, p.33-81.

FURET, J. P.; QUÉNÉE, P.; TAILLIEZ, P. Molecular quantification of lactic acid bacteria in fermented milk products using real-time quantitative PCR. **International Journal of Food Microbiology**, vol. 97, n.2, p. 197-207, December 2004.

GENTA, T. M. S.; MAURICIO, A. A.; MATIOLI, G.; Avaliação das Boas Práticas através de check-list aplicado em restaurantes self-service da região central da Maringá, Estado do Paraná. **Acta Scientiarum**, vol.27, n.2 p.151-157, 2005.

GRACINDO, A.P.A.C.; PEREIRA, G.F. Produzindo Leite de Alta Qualidade. Natal, RN: EMPARN, 2009. 41 p.

GRAPPIN, R.; BEUVIER, E. Possible Implications of Milk Pasteurization on the Manufacture and Sensory Quality of Ripened Cheese. **International Dairy Journal**, vol. 7, n. 12, p. 751-761, 1997.

GUEDES NETO, L.G.; SOUZA, M.R.; NUNES, A.C.; NICOLI, J.R.; SANTOS, W.L.M. Atividade antimicrobiana de bactérias ácido-láticas isoladas de queijos de coalho artesanal e industrial frente a microrganismos indicadores. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, vol.57, supl. 2, p.245-250, 2005.

HASSAN, A. N.; FRANK, J. F. Starter cultures and their use. In: MARTH, E. H.; STEELE, J. L. **Applied Dairy Microbiology**, 2nd ed. New York: Marcel Decker, 2001. Cap. 6, p. 151-206.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Análise Sensorial Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz, **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**, 4. ed., vol. 1. São Paulo: IMESP, 2005. Versão eletrônica.

ISHII, R.; CHANG, H.K.; O'MAHONY, M. A comparison of serial monadic and attribute-by-attribute protocols for simple descriptive analysis with untrained judges. **Food Quality and Preference**, vol. 18, n. 2, p. 440-449, 2007.

JAENISCH, F.R.F.; ÁVILA, V.S.; SCHEUERMANN, G.N. Boas Práticas de Produção de Frangos de Corte na Agricultura Familiar. In: NASCIMENTO NETO, F. **Recomendações Básicas para Aplicação das Boas Práticas Agropecuárias e Fabricação na Agricultura Familiar**, Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. Cap. 13, p. 223-243.

JAY, J.M. O sistema APPCC e a segurança dos alimentos. In: _____ **Microbiologia de Alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. Cap. 21, p. 435-451.

JARVIS, B. Good manufacturing practice. In: ROBINSON, R. K.; BATT, C.A.; PATEL, P.D. (Eds.), **Encyclopedia of Food Microbiology**, vol. 2, Academic Press, London, 2000, p. 961-972.

JOHNSON, E.A. Bacterial Pathogens and Toxins in Foodborne Disease. In: D'Mello, J.P.F. **Food Safety: Contaminants and Toxins**. Scottish Agricultural College, Edinburgh, UK. 2003. Cap.2, p. 25-45.

JOHNSON, M.; LAW, B.A. The Origins, Development and Basic Operations of Cheesemaking Technology. In: LAW, B.A.; TAMIME, A.Y. **Technology of Cheesemaking**. Blackwell Publishing Ltd, 2010.

KOCHANSKI, S.; PIEROZAN, M. K.; MOSSI, A. J.; TREICHEL, H.; CANSIAN, R. L.; GHISLENI, C. P.; TONIAZZO, G. Avaliação das condições microbiológicas de uma unidade de alimentação e nutrição. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, vol. 20, n. 4, p. 663-668, out./dez. 2009.

LANGE, C.; BRITO, J. R. Microrganismos que deterioram a qualidade do leite. **Revista Balde Branco**, n. 489A, p. 36-38, ago. 2005. Edição Especial.

LAWLESS, H.T.; HEYMANN, H. Introduction. In: _____ **Sensory evaluation of foods: principles and practices**. Gaithersburg: Aspen, 1999. Cap. 1, p. 1-18.

LIM, J.; FUJIMARUA, T. Evaluation of the Labeled Hedonic Scale under different experimental conditions. **Food Quality and Preference**, vol. 21, n. 5, p. 521-530, 2010.

LIMA C.D.L.C.; LIMA L.A.; CERQUEIRA M.M.O.P.; FERREIRA E.G.; ROSA C.A. Bactérias do ácido láctico e leveduras associadas com o queijo-de-minas artesanal produzido na região da Serra do Salitre, Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, vol.61, n.1, p.266-272, 2009.

LUCIA, S.M.D.; MINIM, V.P.R.; CARNEIRO, J.D.S. Análise sensorial de alimentos. In: MINIM, V.P.R. **Análise Sensorial - Estudos com consumidores**. 2. ed. rev. e aum. Editora UFV. Viçosa, MG, Brasil. 2010. Cap. 1, p.13-49.

LUNDGREN, P. U.; SILVA, J. A.; MACIEL, J. F.; FERNANDES, T. M. [Online]. Perfil da qualidade higiênico-sanitária da carne bovina comercializada em feiras

livres e mercados públicos de João Pessoa/PB-Brasil. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, vol.20, n.1, p. 113-119, jan./mar. 2009.

MADRAU, M. A.; MANGIA, M. A.; MURGIA, N. P.; SANNA, M. A.; GARAU, M. G.; LECCIS, G.; CAREDDA, M., DEIANA, P. Employment of autochthonous microflora in Pecorino Sardo cheese manufacturing and evolution of physicochemical parameters during ripening. **International Dairy Journal**, vol. 16, p. 876-885, 2006.

MAGALHÃES, M.A.; DIAS, G.; MILAGRES, M.P.; OTTOMAR, M.; SOARES, C.F. Implantação das Boas Práticas de Fabricação em uma Indústria de Laticínios da Zona da Mata Mineira. Disponível em: <<http://www.terraviva.com.br/IICBQL/p005.pdf>>. Acesso em: 2 Fev. 2011.

MALLON, C.; BORTOZOLO E. A. F. Q. Alimentos comercializados por ambulantes: uma questão de segurança alimentar. **Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde**, Ponta Grossa, vol. 10 n. 3/4, p. 65-76, set./dez. 2004.

MARTINS, M.E.P.; NICOLAU, E.S.; MESQUITA, A.J.; NEVES, R.B.S.; ARRUDA, M.T. Qualidade de Leite Cru Produzido e Armazenado em Tanques de Expansão no Estado de Goiás. **Ciência Animal Brasileira**, vol. 9, n. 4, p. 1152-1158, out./dez. 2008.

MAZAHREH, A. S.; ERSHIDAT, O. T. M. The Benefits of Lactic Acid Bacteria in Yogurt on the Gastrointestinal Function and Health. **Pakistan Journal of Nutrition**, vol. 8, n. 9, p. 1404-1410, 2009.

MILLEZI, A.F.; TONIAL, T.M.; ZANELLA, J.P.; MOSCHEN, E.E.S.; ÁVILA, C.A.C.; KAISER, V.L.; HOFFMEISTER, S. Avaliação e qualidade microbiológica Das mãos de manipuladores e do agente sanificante na indústria de alimentos. **Revista Analytica**, n.28, p. 74-79, abril/maio 2007.

MUDEY, A.B.; KESHARWANI, N.; MUDEY, G.A.; GOYAL, R.C.; DAWALE, A.K.; WAGH, V.V. Health Status and Personal Hygiene among Food Handlers Working at Food Establishment around a Rural Teaching Hospital in Wardha District of Maharashtra, Índia. **Global Journal of Health Science**, Vol. 2, n. 2, p. 198-206, October 2010.

MUIR, D. D.; BANKS, J. M. Factors affecting the shelf-life of milk and milk products. In: SMIT, G. **Dairy processing, Improving quality**. Woodhead Publishing Limited, CRC Press LLC, NW. 2000. Cap.9, p. 185-207.

NASSU, R.T.; MACEDO, B.A.; LIMA, M.H.P. Queijo de Coalho. Coleção Agroindústria Familiar. Brasília, DF: **Embrapa Informação Tecnológica**, 2006. 45p.

NETTO, F.G.S.; BRITO, L.G.; FIGUEIRÓ, M.R. A ordenha da vaca leiteira. Porto Velho, Embrapa Rondônia, Novembro, 2006. 4p. (Embrapa Rondônia. **Comunicado Técnico**, 319).

NICOLAS, L.; MARQUILLY, C.; O'MAHONY, M. The 9-point hedonic scale: Are words and numbers compatible? **Food Quality and Preference**, vol. 21, n.8, p. 1008 -1015, 2010.

NOTERMANS, S.; BARENDZ, A.W.; ROMBOUTS, Z.; ROMBOUTS, F. The evolution of microbiological risk assessment. In: BROWN, M.; STRINGER, M. **Microbiological risk assessment in food processing**. Woodhead Publishing Limited, CRC Press LLC, NW. 2002. Cap.2, p. 5-43.

OLIVEIRA, M.N.; BRASIL, A.L.D.; TADDEI, J.A. Avaliação das condições higiênico-sanitárias das cozinhas de creches públicas e filantrópicas. **Revista Ciência & Saúde Coletiva**, vol. 13, n. 3, p. 1051-1060, 2007.

O'MAHONY, M.; FANNING, S.; WHYTE, P. The Safety of Raw Liquid Milk. In: Tamime, A.Y. **Milk Processing and Quality Management**. Blackwell Publishing Ltd. 2009. Cap.6, p. 139-167.

PARK, K.B.; OH, S.H. Production of yogurt with enhanced levels of gamma-aminobutyric acid and valuable nutrients using lactic acid bacteria and germinated soybean extract. **Bioresource Technology**, vol. 98, n.8, p. 1675-1679, maio 2007.

PAS (Programa de Alimentos Seguros). **Boas práticas: o que são e o que fazer para aplicá-las?** Fascículo 2, ed.1. São Paulo, novembro de 2004. 20 p. Convênio PAS/SEBRAE.

PAS Indústria. **Elementos de Apoio para o Sistema APPCC**. Rio de Janeiro: SENAC/Departamento Nacional, 2000. 380 p. (Qualidade e Segurança Alimentar). Projeto APPCC Indústria. Convênio CNC/CNI/SEBRAE/ANVISA.

PAS Mesa. **Elementos de Apoio Boas Práticas e Sistema APPCC**. Rio de Janeiro: SENAC/Departamento Nacional, 2001. 282 p. (Qualidade e Segurança Alimentar). Projeto APPCC Mesa. Convênio CNC/CNI/SEBRAE/ANVISA.

PAS Mesa. **Guia de elaboração do plano APPCC**. Rio de Janeiro: SENAC/Departamento Nacional, 2002. 305 p. (Qualidade e Segurança Alimentar). Projeto APPCC Mesa. Convênio CNC/CNI/SEBRAE/ANVISA.

REIS, R.C.; MINIM, V.P.R. Testes de aceitação. In: MINIM, V.P.R. **Análise Sensorial - Estudos com consumidores**. 2. ed. rev. e aum. Editora UFV. Viçosa, MG, Brasil. 2010. Cap. 3, p.66-82.

ROBINSON, R.K.; TAMIME, A.Y. Maintaining a Clean Working Environment. In: ROBINSON R.K. (Ed.), **Dairy Microbiology Handbook: The microbiology of milk and milk products**, 3rd ed., John Wiley and Sons, New York, 2002. Cap.12, p.561-591.

SANTOS, M. V. Boas práticas de produção associadas à higiene de ordenha e qualidade do leite. In: _____ **O Brasil e a nova era do**

mercado do leite - Compreender para competir. Piracicaba-SP: Agripoint Ltda, 2007, vol.1, p. 135-154.

SANTOS, V. A. Q. **Perfil microbiano, físico-químico e análise das Boas Práticas de Fabricação (BPF) de queijos minas frescal e ricota.** São José do Rio Preto, 2009. 87f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual Paulista - UNESP.

SANTOS, V.A.Q.; HOFFMANN, F.L. Avaliação das boas práticas de fabricação em linha de processamento de queijos Minas frescal e ricota. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, vol. 69, n. 2, p. 222-228. 2010.

SAS - Statistical Analysis System, SAS User's guide statistics, 5nd ed., NC: SAS Institute Inc., 2001.

SAVADOGO, A.; OUATTARA, C. A. T.; SAVADOGO, P. W.; BARRO, N.; OUATTARA, A. S.; TRAORÉ, A. S. Identification of exopolysaccharides-producing lactic acid bacteria from Burkina Faso fermented milk samples. **African Journal of Biotechnology**, Vol. 3, n. 3, p. 189 -194, 2004.

SEIXAS, F.R.F.; SEIXAS, J.R.F.; REIS, J.A.; HOFFMANN, F.L. *Check-list* para diagnóstico inicial das boas práticas de fabricação (BPF) em estabelecimentos produtores de alimentos da cidade de São José do Rio Preto (SP). **Revista Analytica**, n. 33, p. 36-41, fev./março 2008.

STONE, H.; SIDEL, J. L. Measurement. In: _____ **Sensory Evaluation Practices**. 3nd ed. Elsevier academic Press. USA. 2004. Cap. 3, p. 69-96.

TODD, E.C.D. Surveillance of Foodborne Disease. In: Hui, Y. H.; Pierson, M.D.; Gorham, J. R. **Foodborne Disease Handbook. Vol. 1 : Bacterial Pathogens**. 2nd ed. Marcel Dekker, Inc. New York. 2001. Cap. 20, p.515 - 585.

TOMICH, R.G.P.; TOMICH, T.R.; AMARAL, C.A.A.; JUNQUEIRA, R.G.; PEREIRA, A.J.G. Metodologia para Avaliação das Boas Práticas de Fabricação em Indústrias de Pão de Queijo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, vol. 25, n. 1, p. 115-120, 2005.

UFV (Universidade Federal de Viçosa), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais). **Queijo Minas Artesanal**. Guia Técnico para Implantação de Boas Práticas de Fabricação em Unidades de Produção do Queijo Minas Artesanal. 2009. 68 p.

VALEEVA, N.I.; MEUWISSEN, M.P.M.; HUIRNE, R.B.M. Economics of food safety in chains: a review of general principles. **NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences**, vol. 51, n. 4, p. 369-390, 2004.

VERAS, J.F.; SANTOS, D.A.; CARMO, L.S. Levantamento de surtos de toxinfecção alimentar envolvendo leite e produtos derivados no estado de Minas Gerais, Brasil. **Higiene Alimentar**, vol.17, p. 218-219, 2003.

VERNILE A., GIAMMANCO G., SPANO G., BERESFORD T. P., FOX P.F., Massa S., Genotypic characterization of lactic acid bacteria isolated from traditional Pecorino Siciliano cheese. **Dairy Science and Technology**, vol. 88, p. 619-629, 2008.

VIALTA, A.; MORENO, I.; VALLE, J.L.E. Boas Práticas de Fabricação, Higienização e Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle na Indústria de Laticínios: 1 - Requeijão. **Indústria de Laticínios**, vol. 37, p. 56-63, 2002.

VIEIRA, S.D.A. A utilização de culturas lácticas na indústria de laticínios. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora. Vol. 36, n. 215, p. 29-38, 1981.

VISSERS, M.M.M.; DRIEHUIS, F. On-Farm Hygienic Milk Production. In: Tamime, A.Y. **Milk Processing and Quality Management**. Blackwell Publishing Ltd. 2009. Cap.1, p. 1-22.

VILLANUEVA, N.D.M.; SILVA, M.A.A.P. Comparative performance of the nine-point hedonic, hybrid and self-adjusting scales in the generation of internal preference maps. **Food Quality and Preference**, vol. 20, n. 1, p.1-12, 2009.

WALSTRA, P.; WOUTERS, J. T. M; GEUTERS, T. J. Milk: Main Characteristics. In: _____ **Dairy Science and Technology**. CRC Press. Boca Raton. 2006. Cap.1, p. 3-16.

ZAFALON, L.F.; POZZI, C.R; CAMPOS, F.P.; ARCARO, J.R.P.; SARMENTO, P.; MATARAZZO, S.V. Boas práticas de ordenha. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, Março, 2008. 50 p. (Embrapa Pecuária Sudeste. Documento, 78).

ZAMFIR, M.; VANCANNEYT, M.; MAKRAS, L.; VANINGELGEM, F.; LEFEBVRE, K.; POT, B.; SWINGS, J.; DE VUYST, L. Biodiversity of lactic acid bacteria in Romanian dairy products. **Systematic and Applied Microbiology**, vol. 29, p. 487-495, 2006.

ZENEBON, O.; PASCUET, N.S. Análise Sensorial. In: _____ **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. 4. ed. - 1.ed. digital. Instituto Adolf Lutz, São Paulo. 2008. Cap.6, p. 281-320.

ZWEIFEL, C.; MUEHLHERR, J.E.; RING, M.; STEPHAN, R. Influence of different factors in milk production on standard plate count of raw small ruminant's bulk-tank milk in Switzerland. **Small Ruminant Research**, vol. 58, n.1, p. 63-70, 2005.

3. CONCLUSÃO GERAL

A acidez, teor de gordura, gordura no extrato seco, cloretos e cinzas do Requeijão do Sertão são bastante variáveis. Para o requeijão classificado de média umidade são propostos padrões de faixas de pH, gordura, GES, proteína e atividade de água respectivamente de: 5,17 a 5,93; 20,12 a 28,78 % m/m; 35,00 a 50,88 % m/m; 24,70 a 30,66 % m/m; 0,96 a 0,98. Para o requeijão classificado como semi gordo são propostos padrões de faixas de pH, umidade, extrato seco total, proteína e atividade de água respectivamente de: 5,17 a 5,93; 38,74 a 47,94 % m/m; 52,05 a 61,27 % m/m; 24,70 a 30,66 % m/m; 0,96 a 0,98.

As propriedades produtoras de requeijões estudadas podem ser caracterizadas como de baixa tecnologia.

O Requeijão do Sertão fabricado a partir de leite cru e sem a adição de fermento comercial, é uma fonte interessante de bactérias do ácido láctico, representando estirpes diferenciadas. Esta fonte de bactérias do ácido láctico deve ser utilizada para o desenvolvimento de novos fermentos na fabricação de derivados láteos seguros e inovadores quanto às características organolépticas.

As agroindústrias familiares produtoras de requeijão na Microrregião de Guanambi, Bahia, foram classificadas como regulares com 63,7% de conformidades após aplicação do questionário *check list*.

O Requeijão do Sertão fabricado com leite pasteurizado e inoculado com bactérias do ácido láctico teve uma boa aceitação pelos provadores, na análise sensorial.

ANEXOS - Capítulo II

ANEXO A – Questionário Produtor de Leite

I) Identificação da propriedade

Nome do produtor: _____

MUNICÍPIO: _____

Fazenda: _____ Área (ha): _____

Distância da sede do município (km): _____

Data coleta: _____

II) Dados da produção:

Numero de animais da propriedade: _____ Raça: _____

Numero de animais em lactação: _____ Volume diário: _____

III) Manejo

1) Tipo de ordenha:

☐ Manual	☐ Com bezerro ao pé	☐ Mecânica	☐ Circuito fechado
	☐ Sem bezerro ao pé		☐ Circuito semi-fechado

2) Práticas de higienização:

☐ lava as mãos antes de ordenhar	☐ uso de caneca de fundo preto
☐ fuma durante a ordenha	☐ Pré-dipping
☐ uso de toca ou boné durante a ordenha	☐ Pós-dipping
☐ lavas as tetas da vaca	☐ Despreza os 3 primeiros jatos
☐ seca as tetas da vaca	

Após ordenha:

- cõa o leite ☐ sim ☐ não

☐ em tecido de algodão

☐ em tecido sintético

☐ em tela plástica

☐ em tela metálica

☐ outros _____

Acondicionamento do leite:

☐ latão estanhado

☐ latão de alumínio

☐ latão de plástico

☐ direto para a fabricação

☐ outros _____

3) Número de ordenhas: ☐ 1 ☐ 2 Hora ordenha: _____

4) Vacas com úbere inflamado: _____

- () ordenha normalmente
() separa o leite
() não ordenha

5) Instalações:

- () Curral
() Sala de ordenha
()

Outros: _____

6) Edificações:

- área coberta () sim () não
- piso concretado () sim () não

7) Resfriamento do leite: () sim () não

- () Tanque de imersão
() Tanque de expansão
() Tanque de expansão comunitário
() Outros: _____

9) Utilização do leite

- () Vende na cooperativa
() Vende direto ao consumidor
() Uso próprio _____
() Outros _____

8) Alimentação após a ordenha p/ a vaca não deitar.

- () sim
() não

() Volumoso: _____

() Concentrado: _____

() Sal mineral: _____

IV) Abastecimento de água:**1) Água de consumo dos animais:**

A) Procedência: _____

B) Reservatório: _____

C) Tratamento: () Sim () Não

2) Água de uso na obtenção do leite:

A) Procedência: _____

B) Reservatório: _____

C) Tratamento: () Sim () Não

V) Sanidade animal:**1) Vacinação**

- () vacina - febre aftosa
() Vacina - brucelose
() Vacina - raiva
() Vacina - endo e exo parasitas

2) Tratamentos em vacas em lactação

com antibióticos: () sim () não

- () descarte total do leite
() descarte parcial do leite
() não descarta o leite

ANEXO B – Questionário Produtor de Requeijão

I) Identificação do produtor	Nº da amostra: _____
MUNICÍPIO: _____	
Local de produção _____	
Endereço: _____	
Distância da sede do município (km): _____	
Local de coleta: _____	
Tipo: _____ Data coleta: _____ Hora coleta: _____	
Temperatura da amostra: _____	

II) Dados gerais:
1. Litros de leite/dia: _____
Peças de requeijão/dia: _____ Peso médio dos requeijões: _____
Rendimento (l/Kg): _____

2. Procedência do leite:
() própria
() terceiros
() próprio/terceiros

3. Há quanto tempo faz requeijão:	4. Quem faz o requeijão:
() Menos de 1 ano	() produtor(a)
() de 1 ano a 5 anos	() esposa
() de 5 anos a 10 anos	() filho(a)
() mais de 10 anos	() empregado

5. Destino do requeijão para comercialização:	6. Forma de venda dos requeijões:
() no município	() por quilo
() outros municípios do estado	() por unidade
() outros estados	() direto ao consumidor
_____	() direto ao comerciante
() não sabe informar	() a intermediários
	() outros

7. A produção de requeijão é a única fonte de renda da família? () Sim () Não

8. Quantas pessoas dependem da produção?

- () o casal
() o casal e filhos
() o casal e filhos com famílias
() empregado

9. Local de comercialização:

- () local de produção
() padaria/mercearia
() feira-livre
() supermercado

10. É filiado a associação/sindicato/coop.? () Sim () Não

Qual(is): _____

11. Participou de algum curso de qualificação para produção de requeijão?

() Sim () Não

Qual: _____

Onde: _____

12. Gostaria de participar de curso de qualificação para produção de requeijão?

() Sim () Não

Qual: _____

Onde: _____

13. Produção

Produção de requeijão no período seco _____ Kg

Produção de requeijão no período chuvoso _____ Kg

14. Comquem aprendeu a fazer requeijão?

_____ -

ANEXO C – Questionário Comerciante de Requeijão

I) Identificação:

Nome do comerciante: _____

MUNICÍPIO: _____

Data : _____

I) Instalações:

1. local de comercialização:

- () feira livre
() padaria
() mercearia
() supermercado
() outro _____

2. Local da barraca:

- () mercado
() feira
() outro _____

3. Construção da barraca:

- () bloco
() madeira
() outros _____

4. Piso:

- () cimento
() cerâmica
() chão
() outro _____

5. Aspecto geral do local da barraca:

- () ótimo
() bom
() regular
() péssimo

6) Bancada manipulação

- () de madeira
() de ardósia
() de cimento
() de plástico ou fibra
() de metal ou inox
() outra

II) Produto:

1. Produtos da barraca:

- () requeijão
() produtos de leite
() verduras
() doces
() carnes
() outro _____

2. Embalagem:

- () sem embalagem
() polietileno (plástico comum)
() a vácuo
() outro _____

3) Estocagem do requeijão ☐ sim ☐ não ☐ até 24 horas - 1 dia ☐ até 48 horas - 2 dias ☐ até 72 horas - 3 dias ☐ até 96 horas - 4 dias ☐ outra _____	4) Frequência de comercialização ☐ diariamente ☐ 1 vez por semana ☐ 2 vezes por semana ☐ 3 vezes por semana ☐ semanalmente ☐ outra _____
5) Corte do requeijão: ☐ sim ☐ não ☐ faca própria ☐ faca de uso geral ☐ outra _____	6) Temperatura do produto ☐ ambiente ☐ refrigerado em isopor ☐ refrigerado em balcão frigorífico ☐ outro _____
7) Fabricação do produto ☐ 24 horas ☐ 48 horas ☐ 72 horas ☐ 1 semana ☐ 15 dias ☐ outra _____	8) Tipo de fôrma ☐ de madeira ☐ de plástico (adaptação) ☐ de plástico (própria) ☐ de PVC ☐ outra _____
9) Vende produto de quantos produtores ☐ dele mesmo ☐ um ☐ dois ☐ três ☐ outra _____	10) Procedência do requeijão _____ _____ _____ _____
11) Venda: ☐ pedaço ☐ unidade ☐ Kg ☐ outra _____	12) preço do produto _____ 13) Quantidade vendida na semana _____

ANEXOS - Capítulo IV

ANEXO A - Lista de verificação das Boas Práticas de Fabricação em Agroindústrias Familiares

Data da Visita ____/____/____

I. DADOS SOBRE A INDÚSTRIA

Razão Social _____ Nome fantasia: _____

Endereço: _____ Município: _____

Nome do responsável: _____

II. AVALIAÇÃO

BLOCO 1

1. EDIFICAÇÃO E INSTALAÇÕES			
1.1 ÁREA EXTERNA:			
1.1.1 Área externa livre de focos de insalubridade, de objetos em desuso ou estranhos ao ambiente, de vetores e outros animais no pátio e vizinhança; de focos de poeira; de acúmulo de lixo nas imediações, de água estagnada, dentre outros.			
1.1.2 Vias de acesso interno com superfície dura ou pavimentada, adequada ao trânsito sobre rodas, escoamento adequado e limpas			
1.2 ACESSO:			
1.2.1 Direto, não comum a outros usos (habitação).			
1.3 ÁREA INTERNA:			
1.3.1 Área interna livre de objetos em desuso ou estranhos ao ambiente.			
1.4 PISO:			
1.4.1 Material que permite fácil e apropriada higienização (liso, resistente, drenados com declive, impermeável e outros).			
1.4.2 Em adequado estado de conservação (livre de defeitos, rachaduras, trincas, buracos e outros).			
1.4.3 Sistema de drenagem dimensionado adequadamente, sem acúmulo de resíduos. Drenos, ralos sifonados e grelhas colocados em locais adequados de forma a facilitar o escoamento e proteger contra a entrada de baratas, roedores etc.			
1.5 TETOS:			
1.5.1 Acabamento liso, em cor clara, impermeável, de fácil limpeza e, quando for o caso, desinfecção.			
1.5.2 Em adequado estado de conservação (livre de trincas, rachaduras, umidade, bolor, descascamentos e outros).			

1.6 PAREDES E DIVISÓRIAS:	CONTINUA...		
1.6.1 Acabamento liso, impermeável e de fácil higienização até uma altura adequada para todas as operações. De cor clara.			
1.6.2 Em adequado estado de conservação (livres de falhas, rachaduras, umidade, descascamento e outros).			
1.6.3 Existência de ângulos abaulados entre as paredes e o piso e entre as paredes e o teto.			
1.7 PORTAS:			
1.7.1 Com superfície lisa, de fácil higienização, ajustadas aos batentes, sem falhas de revestimento.			
1.7.2 Portas externas com fechamento automático (mola, sistema eletrônico ou outro) e com barreiras adequadas para impedir entrada de vetores e outros animais (telas milimétricas ou outro sistema).			
1.7.3 Em adequado estado de conservação (livres de falhas, rachaduras, umidade, descascamento e outros).			
1.8 JANELAS E OUTRAS ABERTURAS:			
1.8.1 Com superfície lisa, de fácil higienização, ajustadas aos batentes, sem falhas de revestimento.			
1.8.2 Existência de proteção contra insetos e roedores (telas milimétricas ou outro sistema).			
1.8.3 Em adequado estado de conservação (livres de falhas, rachaduras, umidade, descascamento e outros).			
1.9 ESCADAS, ELEVADORES DE SERVIÇO, MONTACARGAS E ESTRUTURAS AUXILIARES			
1.9.1 Construídos, localizados e utilizados de forma a não serem fontes de contaminação.			
1.9.2 De material apropriado, resistente, liso e impermeável, em adequado estado de conservação.			
1.10 INSTALAÇÕES SANITÁRIAS E VESTIÁRIOS PARA OS MANIPULADORES:			
1.10.1 Quando localizados isolados da área de produção, acesso realizado por passagens cobertas e calçadas.			
1.10.2 Independentes para cada sexo (conforme legislação específica), identificados e de uso exclusivo para manipuladores de alimentos.			
1.10.3 Instalações sanitárias com vasos sanitários; mictórios e lavatórios íntegros e em proporção adequada ao número de empregados (conforme legislação específica).			
1.10.4 Instalações sanitárias servidas de água corrente, dotadas preferencialmente de torneira com acionamento automático e conectadas à rede de esgoto ou fossa séptica.			
1.10.5 Ausência de comunicação direta (incluindo sistema de exaustão) com a área de trabalho e de refeições.			
1.10.6 Portas com fechamento automático (mola, sistema eletrônico ou outro).			
1.10.7 Pisos e paredes adequadas e apresentando satisfatório estado de conservação.			
1.10.8 Iluminação e ventilação adequadas.			
1.10.9 Instalações sanitárias dotadas de produtos destinados à higiene pessoal: papel higiênico, sabonete líquido inodoro anti-séptico ou sabonete líquido inodoro e anti-séptico, toalhas de papel não reciclado para as mãos ou outro sistema higiênico e seguro para secagem.			
1.10.10 Presença de lixeiras com tampas e com acionamento não manual.			

1.10 INSTALAÇÕES SANITÁRIAS E VESTIÁRIOS PARA OS MANIPULADORES:	CONTINUA...		
1.10.11 Coleta freqüente do lixo.			
1.10.12 Presença de avisos com os procedimentos para lavagem das mãos.			
1.10.13 Vestiários com área compatível e armários individuais para todos os manipuladores.			
1.10.14 Duchas ou chuveiros em número suficiente (conforme legislação específica), com água fria ou com água quente e fria.			
1.10.15 Apresentam-se organizados e em adequado estado de conservação.			
1.11 INSTALAÇÕES SANITÁRIAS PARA VISITANTES E OUTROS:			
1.11.1 Instaladas totalmente independentes da área de produção e higienizados.			
1.12 LAVATÓRIOS NA ÁREA DE PRODUÇÃO:			
1.12.1 Existência de lavatórios na área de manipulação com água corrente, dotados preferencialmente de torneira com acionamento automático, em posições adequadas em relação ao fluxo de produção e serviço, e em número suficiente de modo a atender toda a área de produção			
1.12.2 Lavatórios em condições de higiene, dotados de sabonete líquido inodoro anti-séptico ou sabonete líquido inodoro e anti-séptico, toalhas de papel não reciclado ou outro sistema higiênico e seguro de secagem e coletor de papel acionados sem contato manual.			
1.13 ILUMINAÇÃO E INSTALAÇÃO ELÉTRICA:			
1.13.1 Natural ou artificial adequada à atividade desenvolvida, sem ofuscamento, reflexos fortes, sombras e contrastes excessivos.			
1.13.2 Luminárias com proteção adequada contra quebras e em adequado estado de conservação.			
1.13.3 Instalações elétricas embutidas ou quando exteriores revestidas por tubulações isolantes e presas a paredes e tetos.			
1.14 VENTILAÇÃO E CLIMATIZAÇÃO:			
1.14.1 Ventilação e circulação de ar capazes de garantir o conforto térmico e o ambiente livre de fungos, gases, fumaça, pós, partículas em suspensão e condensação de vapores sem causar danos à produção.			
1.14.2 Ventilação artificial por meio de equipamento(s) higienizado(s) e com manutenção adequada ao tipo de equipamento.			
1.14.3 Ambientes climatizados artificialmente com filtros adequados.			
1.14.4 Existência de registro periódico dos procedimentos de limpeza e manutenção dos componentes do sistema de climatização (conforme legislação específica) afixado em local visível.			
1.14.5 Sistema de exaustão e ou insuflamento com troca de ar capaz de prevenir contaminações.			
1.14.6 Sistema de exaustão e ou insuflamento dotados de filtros adequados.			
1.14.7 Captação e direção da corrente de ar não seguem a direção da área contaminada para área limpa.			

1.15 HIGIENIZAÇÃO DAS INSTALAÇÕES:	CONTINUA...		
1.15.1 Existência de um responsável pela operação de higienização comprovadamente capacitado.			
1.15.2 Frequência de higienização das instalações adequada.			
1.15.3 Existência de registro da higienização.			
1.15.4 Produtos de higienização regularizados pelo Ministério da Saúde.			
1.15.5 Disponibilidade dos produtos de higienização necessários à realização da operação.			
1.15.6 A diluição dos produtos de higienização, tempo de contato e modo de uso/aplicação obedecem às instruções recomendadas pelo fabricante.			
1.15.7 Produtos de higienização identificados e guardados em local adequado.			
1.15.8 Disponibilidade e adequação dos utensílios (escovas, esponjas etc.) necessários à realização da operação. Em bom estado de conservação.			
1.15.9 Higienização adequada.			
1.16 CONTROLE INTEGRADO DE VETORES E PRAGAS URBANAS:			
1.16.1 Ausência de vetores e pragas urbanas ou qualquer evidência de sua presença como fezes, ninhos e outros.			
1.16.2 Adoção de medidas preventivas e corretivas com o objetivo de impedir a atração, o abrigo, o acesso e ou proliferação de vetores e pragas urbanas.			
1.16.3 Em caso de adoção de controle químico, existência de comprovante de execução do serviço expedido por empresa especializada.			
1.17 ABASTECIMENTO DE ÁGUA:			
1.17.1 Sistema de abastecimento ligado à rede pública.			
1.17.2 Sistema de captação própria, protegido, revestido e distante de fonte de contaminação.			
1.17.3 Reservatório de água acessível com instalação hidráulica com volume, pressão e temperatura adequados, dotado de tampas, em satisfatória condição de uso, livre de vazamentos, infiltrações e descascamentos.			
1.17.4 Existência de responsável comprovadamente capacitado para a higienização do reservatório da água.			
1.17.5 Apropriada frequência de higienização do reservatório de água.			
1.17.6 Existência de registro da higienização do reservatório de água ou comprovante de execução de serviço em caso de terceirização.			
1.17.7 Encanamento em estado satisfatório e ausência de infiltrações e interconexões, evitando conexão cruzada entre água potável e não potável.			
1.17.8 Existência de planilha de registro da troca periódica do elemento filtrante.			
1.17.9 Potabilidade da água atestada por meio de laudos laboratoriais, com adequada periodicidade, assinados por técnico responsável pela análise ou expedidos por empresa terceirizada.			
1.17.10 Disponibilidade de reagentes e equipamentos necessários à análise da potabilidade de água realizadas no estabelecimento.			
1.17.11 Controle de potabilidade realizado por técnico comprovadamente capacitado.			

1.17 ABASTECIMENTO DE ÁGUA:	CONTINUA...		
1.17.12 Gelo produzido com água potável, fabricado, manipulado e estocado sob condições sanitárias satisfatórias, quando destinado a entrar em contato com alimento ou superfície que entre em contato com alimento.			
1.17.13 Vapor gerado a partir de água potável quando utilizado em contato com o alimento ou superfície que entre em contato com o alimento.			
1.18 MANEJO DOS RESÍDUOS:			
1.18.1 Recipientes para coleta de resíduos no interior do estabelecimento de fácil higienização e transporte, devidamente identificados e higienizados constantemente; uso de sacos de lixo apropriados. Quando necessário, recipientes tampados com acionamento não manual.			
1.18.2 Retirada freqüente dos resíduos da área de processamento, evitando focos de contaminação.			
1.18.3 Existência de área adequada para estocagem dos resíduos.			
1.19 ESGOTAMENTO SANITÁRIO:			
1.19.1 Fossas, esgoto conectado à rede pública, caixas de gordura em adequado estado de conservação e funcionamento.			
1.20 LEIAUTE:			
1.20.1 Leiaute adequado ao processo produtivo: número, capacidade e distribuição das dependências de acordo com o ramo de atividade, volume de produção e expedição.			
1.20.2 Áreas para recepção e depósito de matéria-prima, ingredientes e embalagens distintas das áreas de produção, armazenamento e expedição de produto final.			

BLOCO 2

2. EQUIPAMENTOS, MÓVEIS E UTENSÍLIOS . . .			
2.1 EQUIPAMENTOS:			
2.1.1 Equipamentos da linha de produção com desenho e número adequado ao ramo.			
2.1.2 Dispostos de forma a permitir fácil acesso e higienização adequada.			
2.1.3 Superfícies em contato com alimentos lisas, íntegras, impermeáveis, resistentes à corrosão, de fácil higienização e de material não contaminante.			
2.1.4 Em adequado estado de conservação e funcionamento.			
2.1.5 Equipamentos de conservação dos alimentos (refrigeradores, congeladores, câmaras frigoríficas e outros), bem como os destinados ao processamento térmico, com medidor de temperatura localizado em local apropriado e em adequado funcionamento.			
2.1.6 Existência de planilhas de registro da temperatura, conservadas durante período adequado.			
2.1.7 Existência de registros que comprovem que os equipamentos e maquinários passam por manutenção preventiva.			

2.1 EQUIPAMENTOS:	CONTINUA...		
2.1.8 Existência de registros que comprovem a calibração dos instrumentos e equipamentos de medição ou comprovante da execução do serviço quando a calibração for realizada por empresas terceirizadas.			
2.2 MÓVEIS: (mesas, bancadas, vitrines, estantes)			
2.2.1 Em número suficiente, de material apropriado, resistentes, impermeáveis; em adequado estado de conservação, com superfícies íntegras.			
2.2.2 Com desenho que permita uma fácil higienização (lisos, sem rugosidades e frestas).			
2.3 UTENSÍLIOS:			
2.3.1 Material não contaminante, resistentes à corrosão, de tamanho e forma que permitam fácil higienização: em adequado estado de conservação e em número suficiente e apropriado ao tipo de operação utilizada.			
2.3.2 Armazenados em local apropriado, de forma organizada e protegidos contra a contaminação.			
2.4 HIGIENIZAÇÃO DOS EQUIPAMENTOS E MAQUINÁRIOS, E DOS MÓVEIS E UTENSÍLIOS:			
2.4.1 Existência de um responsável pela operação de higienização comprovadamente capacitado.			
2.4.2 Frequência de higienização adequada.			
2.4.3 Existência de registro da higienização.			
2.4.4 Produtos de higienização regularizados pelo Ministério da Saúde.			
2.4.5 Disponibilidade dos produtos de higienização necessários à realização da operação.			
2.4.6 Diluição dos produtos de higienização, tempo de contato e modo de uso/aplicação obedecem às instruções recomendadas pelo fabricante.			
2.4.7 Produtos de higienização identificados e guardados em local adequado.			
2.4.8 Disponibilidade e adequação dos utensílios necessários à realização da operação. Em bom estado de conservação.			
2.4.9 Adequada higienização.			

BLOCO 3

3. MANIPULADORES . . .			
3.1 VESTUÁRIO: . . .			
3.1.1 Utilização de uniforme de trabalho de cor clara, adequado à atividade e exclusivo para área de produção.			
3.1.2 Limpos e em adequado estado de conservação.			
3.1.3 Asseio pessoal: boa apresentação, asseio corporal, mãos limpas, unhas curtas, sem esmalte, sem adornos (anéis, pulseiras, brincos, etc.); manipuladores barbeados, com os cabelos protegidos.			

3.2 HÁBITOS HIGIÊNICOS:	CONTINUA...		
3.2.1 Lavagem cuidadosa das mãos antes da manipulação de alimentos, principalmente após qualquer interrupção e depois do uso de sanitários.			
3.2.2 Manipuladores não espirram sobre os alimentos, não cospem, não tosse, não fumam, não manipulam dinheiro ou não praticam outros atos que possam contaminar o alimento.			
3.2.3 Cartazes de orientação aos manipuladores sobre a correta lavagem das mãos e demais hábitos de higiene, afixados em locais apropriados.			
3.3 ESTADO DE SAÚDE:			
3.3.1 Ausência de afecções cutâneas, feridas e supurações; ausência de sintomas e infecções respiratórias, gastrointestinais e oculares.			
3.4 PROGRAMA DE CONTROLE DE SAÚDE:			
3.4.1 Existência de supervisão periódica do estado de saúde dos manipuladores.			
3.4.2 Existência de registro dos exames realizados.			
3.5 EQUIPAMENTO DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL:			
3.5.1 Utilização de Equipamento de Proteção Individual.			
3.6 PROGRAMA DE CAPACITAÇÃO DOS MANIPULADORES E SUPERVISÃO:			
3.6.1 Existência de programa de capacitação adequado e contínuo relacionado à higiene pessoal e à manipulação dos alimentos.			
3.6.2 Existência de registros dessas capacitações.			
3.6.3 Existência de supervisão da higiene pessoal e manipulação dos alimentos.			
3.6.4 Existência de supervisor comprovadamente capacitado.			

BLOCO 4

4. PRODUÇÃO E TRANSPORTE DO ALIMENTO			
4.1 MATÉRIA-PRIMA, INGREDIENTES E EMBALAGENS:			
4.1.1 Operações de recepção da matéria-prima, ingredientes e embalagens são realizadas em local protegido e isolado da área de processamento.			
4.1.2 Matérias - primas, ingredientes e embalagens inspecionados na recepção.			
4.1.3 Existência de planilhas de controle na recepção (temperatura e características sensoriais, condições de transporte e outros).			
4.1.4 Matérias-primas e ingredientes aguardando liberação e aqueles aprovados estão devidamente identificados.			
4.1.5 Matérias-primas, ingredientes e embalagens reprovados no controle efetuado na recepção são devolvidos imediatamente ou identificados e armazenados em local separado.			
4.1.6 Rótulos da matéria-prima e ingredientes atendem à legislação.			
4.1.7 Critérios estabelecidos para a seleção das matérias-primas são baseados na segurança do alimento.			
4.1.8 Armazenamento em local adequado e organizado; sobre estrados distantes do piso, ou sobre paletes, bem conservados e limpos, ou sobre outro sistema aprovado, afastados das paredes e distantes do teto de forma que permita apropriada higienização, iluminação e circulação de ar.			

4.1 MATÉRIA-PRIMA, INGREDIENTES E EMBALAGENS:	CONTINUA...		
4.1.9 Uso das matérias-primas, ingredientes e embalagens respeita a ordem de entrada dos mesmos, sendo observado o prazo de validade.			
4.1.10 Acondicionamento adequado das embalagens a serem utilizadas.			
4.1.11 Rede de frio adequada ao volume e aos diferentes tipos de matérias-primas e ingredientes.			
4.2 FLUXO DE PRODUÇÃO:			
4.2.1 Locais para pré - preparo ("área suja") isolados da área de preparo por barreira física ou técnica.			
4.2.2 Controle da circulação e acesso do pessoal.			
4.2.3 Conservação adequada de materiais destinados ao reprocessamento.			
4.2.4 Ordenado, linear e sem cruzamento.			
4.3 ROTULAGEM E ARMAZENAMENTO DO PRODUTO-FINAL:			
4.3.1 Dizeres de rotulagem com identificação visível e de acordo com a legislação vigente.			
4.3.2 Produto final acondicionado em embalagens adequadas e íntegras.			
4.3.3 Alimentos armazenados separados por tipo ou grupo, sobre estrados distantes do piso, ou sobre paletes, bem conservados e limpos ou sobre outro sistema aprovado, afastados das paredes e distantes do teto de forma a permitir apropriada higienização, iluminação e circulação de ar.			
4.3.4 Ausência de material estranho, estragado ou tóxico.			
4.3.5 Armazenamento em local limpo e conservado			
4.3.6 Controle adequado e existência de planilha de registro de temperatura, para ambientes com controle térmico.			
4.3.7 Rede de frio adequada ao volume e aos diferentes tipos de alimentos.			
4.3.8 Produtos avariados, com prazo de validade vencido, devolvidos ou recolhidos do mercado devidamente identificados e armazenados em local separado e de forma organizada.			
4.3.9 Produtos finais aguardando resultado analítico ou em quarentena e aqueles aprovados devidamente identificados.			
4.4 CONTROLE DE QUALIDADE DO PRODUTO FINAL:			
4.4.1 Existência de controle de qualidade do produto final.			
4.4.2 Existência de programa de amostragem para análise laboratorial do produto final.			
4.4.3 Existência de laudo laboratorial atestando o controle de qualidade do produto final, assinado pelo técnico da empresa responsável pela análise ou expedido por empresa terceirizada.			
4.4.4 Existência de equipamentos e materiais necessários para análise do produto final realizadas no estabelecimento.			
4.5 TRANSPORTE DO PRODUTO FINAL:			
4.5.1 Produto transportado na temperatura especificada no rótulo.			
4.5.2 Veículo limpo, com cobertura para proteção de carga. Ausência de vetores e pragas urbanas ou qualquer evidência de sua presença como fezes, ninhos e outros.			
4.5.3 Transporte mantém a integridade do produto.			
4.5.4 Veículo não transporta outras cargas que comprometam a segurança do produto.			

4.5 TRANSPORTE DO PRODUTO FINAL:	CONTINUA...		
4.5.5 Presença de equipamento para controle de temperatura quando se transporta alimentos que necessitam de condições especiais de conservação.			

BLOCO 5

5. DOCUMENTAÇÃO			
5.1 MANUAL DE BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO:			
5.1.1 Operações executadas no estabelecimento estão de acordo com o Manual de Boas Práticas de Fabricação.			
5.2 PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS PADRONIZADOS:			
5.2.1 Higienização das instalações, equipamentos e utensílios:			
5.2.1.1 Existência de POP estabelecido para este item.			
5.2.1.2 POP descrito está sendo cumprido.			
5.2.2 Controle de potabilidade da água:			
5.2.2.1 Existência de POP estabelecido para controle de potabilidade da água.			
5.2.2.2 POP descrito está sendo cumprido.			
5.2.3 Higiene e saúde dos manipuladores:			
5.2.3.1 Existência de POP estabelecido para este item.			
5.2.3.2 POP descrito está sendo cumprido.			
5.2.4 Manejo dos resíduos:			
5.2.4.1 Existência de POP estabelecido para este item.			
5.2.4.2 O POP descrito está sendo cumprido.			
5.2.5 Manutenção preventiva e calibração de equipamentos.			
5.2.5.1 Existência de POP estabelecido para este item.			
5.2.5.2 O POP descrito está sendo cumprido.			
5.2.6 Controle integrado de vetores e pragas urbanas:			
5.2.6.1 Existência de POP estabelecido para este item.			
5.2.6.2 O POP descrito está sendo cumprido.			
5.2.7 Seleção das matérias-primas, ingredientes e embalagens:			
5.2.7.1 Existência de POP estabelecido para este item.			
5.2.7.2 O POP descrito está sendo cumprido.			
5.2.8 Programa de recolhimento de alimentos:			
5.2.8.1 Existência de POP estabelecido para este item.			
5.2.8.2 O POP descrito está sendo cumprido.			

ANEXO B - Modelo de ficha utilizado na análise sensorial para o teste de aceitação.

Nome: _____		Idade: _____	
Aluno()		Téc. Adm.()	Docente()
Terceirizado()		Sexo: M () F ()	
Por favor, avalie a amostra servida utilizando as escalas abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou do produto. Marque a posição da escala que melhor reflita seu julgamento.			
Código da amostra: _____		Código da amostra: _____	
() Gostei extremamente		() Gostei extremamente	
() Gostei muito		() Gostei muito	
() Gostei moderadamente		() Gostei moderadamente	
() Gostei ligeiramente		() Gostei ligeiramente	
() Indiferente		() Indiferente	
() Desgostei ligeiramente		() Desgostei ligeiramente	
() Desgostei moderadamente		() Desgostei moderadamente	
() Desgostei muito		() Desgostei muito	
() Desgostei extremamente		() Desgostei extremamente	
Comentários: _____			

ANEXO C - Modelo de ficha utilizado na análise sensorial para o teste de intenção de compra.

Nome: _____ Idade: _____	
Aluno(☐) Téc. Adm.(☐) Docente(☐) Terceirizado(☐) Sexo: M (☐) F (☐)	
Por favor, avalie a amostra utilizando as escalas abaixo para descrever sua INTENSÃO DE COMPRA do produto. Marque a posição da escala que melhor reflita seu julgamento.	
Código da amostra: _____	Código da amostra: _____
(☐) Certamente compraria	(☐) Certamente compraria
(☐) Possivelmente compraria	(☐) Possivelmente compraria
(☐) Indiferente	(☐) Indiferente
(☐) Possivelmente não compraria	(☐) Possivelmente não compraria
(☐) Certamente não compraria	(☐) Certamente não compraria
Comentários: _____	