



POLITÉCNICO DE COIMBRA  
ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA

Fábio da Costa Matos Fernandes

## *Escherichia coli* em queijos produzidos com leite cru

Orientador: Maria Paula Pinto Amador

Coimbra, 2017

Fábio da Costa Matos Fernandes

## *Escherichia coli* em queijos produzidos com leite cru

Relatório de estágio apresentado à Escola Superior Agrária de  
Coimbra para cumprimento dos requisitos necessários à  
obtenção do grau de mestre em ENGENHARIA ALIMENTAR

Orientador: Maria Paula Pinto Amador

Coimbra, 2017

*Este Relatório de Estágio Profissionalizante foi elaborado expressamente para a obtenção de grau de Mestre de acordo com o despacho nº 2032/2014 de 7 de fevereiro de 2014, referente ao Regulamento do Ciclo de Estudos conducente à obtenção do grau de Mestre do Instituto Politécnico de Coimbra.*

## **Agradecimentos**

Agradeço a orientação da Professora Doutora Paula Amador e Doutor Rui Miranda, a disponibilidade de tempo, a simpatia, a dedicação e valor que acrescentaram a todo este trabalho. Gostaria de exprimir também o meu agradecimento à Doutora Maria Manuel Mendes, cujas capacidades de liderança e valores humanos tomarei como um exemplo a seguir. Por último, mas não menos importante, agradeço a todas as pessoas com quem tive o prazer de trabalhar e, acima de tudo, conhecer ao longo destes seis meses. Muitas das experiências profissionais vividas e competências adquiridas ao longo deste estágio não se conseguem exprimir neste documento, mas essas são sem dúvida as mais gratificantes, e que moldarão com certeza o meu percurso profissional.

Muito obrigado a todos.

Dedico este trabalho aos meus pais, eternamente grato pelo esforço feito em prol da minha formação. Todo o meu sucesso é também o deles, enquanto pais.

## Resumo

O presente relatório de estágio avalia a contaminação por *Escherichia coli* nos queijos produzidos com leite cru, a origem da contaminação, condições que favorecem a sua proliferação, e o que se poderia modificar nos processos de fabrico para reduzir essas concentrações, sem comprometer o comércio e a gastronomia deste alimento. Esta avaliação foi feita através da interpretação de dados laboratoriais de 196 amostras de variados queijos, obtidos por diversos modos de fabrico. Durante o período de estágio foi também prestado apoio aos serviços realizados na Divisão de Riscos Alimentares, unidade orgânica da Autoridade de Segurança Alimentar e Económica, local onde este se realizou. Foi também dado auxílio à execução de tarefas na Direção Geral de Alimentação e Veterinária, nos dois últimos meses desse período. Foram cumpridos todos os objectivos programados no plano de estágio, bem como adquiridas experiências e aptidões únicas, só possíveis numa entidade como a ASAE. Com a elaboração deste trabalho constatou-se que a qualidade higiénica da matéria-prima é fulcral e que os parâmetros humidade e tempo de maturação são os que mais influenciam o crescimento de *E.coli*. Perante os valores verificados pode-se afirmar que seria plausível legislar critérios de higiene de produção, para este tipo de alimento.

**Palavras-chave:** *Escherichia coli*, Queijos DOP, leite cru, Segurança Alimentar.

## **Abstract**

The present work evaluates the contamination by *Escherichia coli* in cheeses produced with raw milk, the origin of the contamination, conditions that favor its proliferation, and what could be modified in the manufacturing processes to reduce these concentrations, without compromising the commerce and the gastronomy of this food. This evaluation was made through the interpretation of laboratory data of 196 samples of various cheeses, obtained by different manufacturing methods. Throughout the internship, support was provided to the services carried out in the Division of Food Risks, an organic unit of the Food and Economic Security Authority, where the internship took place. Assistance was also given to the execution of tasks in the General Food and Veterinary Office during the last two months of the internship. All the objectives programmed in the internship plan were fulfilled, as well as acquired experiences and unique abilities, only possible in an entity like ASAE. With the elaboration of this work, it was verified that the hygienic quality of the raw material is crucial and that the humidity and maturation time parameters are the ones that most influence the growth of *E.coli*. Analyzed the obtained values, it would be plausible to legislate production hygiene criteria for this type of food.

**Key words:** *Escherichia coli*, DOP cheeses, raw milk, Food Safety.

## Índice

Agradecimentos.....	I
Resumo .....	II
Abstract.....	III
Índice.....	IV
Índice de figuras.....	VI
Índice de tabelas .....	VIII
Lista de abreviaturas.....	IX
1. Introdução.....	1
1.1. Objetivos .....	1
1.2. Local de estágio.....	1
1.3. Revisão bibliográfica .....	4
1.3.1. O Queijo .....	4
1.3.2. Tecnologias de fabrico do queijo e características principais .....	5
1.3.3. O sector em Portugal .....	9
1.3.4. Principais queijos Portugueses .....	11
1.3.5 Principais queijos estrangeiros .....	15
1.3.6 Fatores que afetam o crescimento microbiano.....	17
1.3.7. Qualidade microbiológica .....	19
1.3.8. <i>Escherichia coli</i> .....	26
2. Metodologia.....	28
2.1. Recolha de informação .....	28
2.1.1. PNCA de 2014 a 2016.....	29
2.1.2. PNCA de 2017.....	29
2.2. Parâmetros avaliados.....	31
2.3. Tratamento dos dados .....	32
3. Resultados e discussão .....	34
3.1. Queijos com Denominação de Origem Protegida .....	34
3.1.1. Humidade.....	38
3.1.2. Teor de sal.....	39

3.1.3. Maturação.....	40
3.1.4. Espécie animal da qual provém o leite .....	42
3.2. Queijos não DOP .....	44
3.2.1. Queijo de Ovelha.....	44
3.2.2. Queijo de Cabra .....	45
3.2.3. Queijo de Mistura .....	46
3.2.3.1. Queijo de ovelha e cabra .....	46
3.2.3.2. Queijo de ovelha, cabra e vaca .....	47
3.2.4. Outros tipos de queijo .....	48
3.3. Queijos DOP Estrangeiros .....	49
3.3.1. Queijo Parmesão.....	50
3.3.2. Queijo Roquefort DOP .....	50
3.3.3. Queijo Camembert DOP.....	51
3.4. Queijarias .....	52
4. Actividades complementares realizadas .....	54
4.1. Autoridade de Segurança Alimentar e Económica .....	54
4.2. Direcção Geral de Alimentação e Veterinária .....	58
5. Conclusões .....	60
6. Referências Bibliográficas .....	62
Anexo I – Amostras presentes no PNCA .....	70
Anexo II – Tratamento de dados.....	71

## Índice de figuras

Figura 1 - Representação da produção de leite e produtos lácteos em Portugal nos anos 1986 e 2015 .....	10
Figura 2 - Estrutura média da produção de laticínios e valor de vendas (2010-2015).....	10
Figura 3 - Mudanças microbiológicas durante a maturação do "Queijo Roquefort".....	16
Figura 4 – Ocorrência de alterações no microbioma ao longo do tempo num queijo fabricado com leite cru .....	20
Figura 5 - Distribuição percentual das colheitas realizadas nos anos 2014, 2015 e 2016. ....	29
Figura 6 – Número de amostras no grupo dos “Queijos DOP Portugueses” . ....	31
Figura 7 -Exemplo de representação de resultado analítico de uma amostra. ....	33
Figura 8 - Quantificação de <i>E. coli</i> em queijos DOP Portugueses considerados satisfatórios.....	35
Figura 9 - Quantificação de <i>E. coli</i> em queijos DOP Portugueses considerados aceitáveis. ....	36
Figura 10 - Quantificação de <i>E. coli</i> em queijos DOP Portugueses considerados inaceitáveis .....	37
Figura 11 - Quantificação de <i>E. coli</i> em queijos de ovelha não DOP Portugueses. ....	45
Figura 12 - Quantificação de <i>E. coli</i> em queijos de cabra não DOP Portugueses.....	46
Figura 13 - Quantificação de <i>E. coli</i> em queijos de ovelha e cabra não DOP Portugueses. ....	47
Figura 14 - Quantificação de <i>E. coli</i> em queijos de ovelha, cabra e vaca não DOP Portugueses. ....	48
Figura 15 - Quantificação de <i>E. coli</i> percentual em queijos de características distintas (grupo "outros tipos de queijo"). ....	49
Figura 16 - Quantificação de <i>E. coli</i> em queijos DOP Estrangeiros.....	50
Figura 17 - Quantificação de <i>E. coli</i> em queijos de bolores azuis, não DOP.....	51
Figura 18 - Resíduos encontrados em contacto com a carne embalada.....	54

Figura 19 - Processo de higienização a decorrer na “zona limpa” . . . . .	56
Figura 20 - Capa e excerto de agradecimentos, da revista “À Mesa: 100 Mitos” . . . . .	58
Figura 21 – Protótipo da capa da revista “Doação de Alimentos Seguros” . . . . .	59

## Índice de tabelas

Tabela 1 - Composição (%) de leites de algumas espécies animais .....	6
Tabela 2 - Riqueza em bactérias por mililitro nos primeiros e últimos jatos de uma ordenha.....	21
Tabela 3. - Critérios microbiológicos do leite não tratado termicamente e usado para produção de produtos lácteos.....	21
Tabela 4 - Critérios microbiológicos a verificar em queijos fabricados com leite submetido a tratamento térmico (indicadores de higiene dos processos) .....	23
Tabela 5 – “Valores Guia” para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos-a-comer .....	23
Tabela 6 - Grupos de queijos formados neste estudo e respetivo número de amostras colhidas .....	30
Tabela 7 - Exemplo do tratamento dos dados para a quantificação de <i>E. coli</i> nas amostras de queijos.....	32
Tabela 8 - Escalonamento de cores dependente da enumeração de <i>E. coli</i> .....	33
Tabela 9 – Quantificação de <i>E. coli</i> nas amostras dos queijos DOP Portugueses. ....	34
Tabela 10 - Número de verificações para cada intervalo de resultado analítico. ....	38
Tabela 11 – Quantificação de <i>E. coli</i> em amostras dos queijos DOP Portugueses e respetiva humidade relativa (%). ....	38
Tabela 12 - Teor de sal de alguns queijos DOP Portugueses.....	40
Tabela 13 – Quantificação de <i>E. coli</i> em amostras dos queijos DOP Portugueses e respetivo tempo de maturação (dias). ....	41
Tabela 14 - Quantificação de <i>E. coli</i> em amostras dos queijos DOP Portugueses e respetiva espécie animal da qual provém o leite. ....	43
Tabela 15 - Quantificação de <i>E. coli</i> , nos queijos não DOP Portugueses. ....	44
Tabela 16 - Nível de contaminação das amostras dos queijos DOP Estrangeiros por <i>Escherichia coli</i> . ....	50
Tabela 17 – Análises efetuadas às queijarias das diferentes regiões do País. ....	52

## Lista de abreviaturas

- ANIL** - Associação Nacional de Industrias de Lacticínios
- ASAE** - Autoridade de Segurança Alimentar e Económica
- A<sub>w</sub>** - Atividade de água
- DAEC** - Diffuse-adhering *E. coli*
- DCCA** - Divisão de Controlo da Cadeia Alimentar
- DGADR** - Direção Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural
- DGAV** - Direção Geral de Alimentação e Veterinária
- DGV** - Direção Geral de Veterinária
- DOP** - Denominação de Origem Protegida
- DRA** - Divisão de Riscos Alimentares
- DRAL** - Divisão de Riscos Alimentares e Laboratórios
- EAEC** - Enteroaggregative *E. coli*
- EFSA** - European Food Safety Authority
- EHEC** - Enterohemorrhagic *E. coli*
- EIEC** - Enteroinvasive *E. coli*
- EPEC** - Enteropathogenic *E. coli*
- ETEC** - Enterotoxigenic *E. coli*
- FAQ** - Frequently Asked Questions
- FDA** - Food and Drug Administration
- HACCP** - Hazard Analysis and Critical Control Point
- IAN-AF** - Inquérito Alimentar Nacional e de Atividade Física
- IDF** - International Dairy Federation
- INE** - Instituto Nacional de Estatística
- INE** - Instituto Nacional de Estatística
- INIAV** - Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária
- INSA** - Instituto Nacional de Saúde
- IPSS** - Instituição de Particular de Solidariedade Social
- LBPV** - Laboratórios de Bebidas Alcoólicas e Produtos Vitivinícolas
- LFQ** - Laboratórios de Físico-Química

**LM** - Laboratórios de Microbiologia

**PNCA** - Plano Nacional de Colheita de Amostras

**PO APMC** - Programa Operacional de Apoio às Pessoas Mais Carenciadas

**SIPACE** - Sistema de Informação de Plano de Aprovação e Controlo dos Estabelecimentos

**STEC** - Shiga toxin *E. coli*

**VTEC** - Verotoxigenic *E. coli*

## 1. Introdução

### 1.1. Objetivos

O principal objetivo deste estudo consistiu em quantificar a espécie *Escherichia coli* nos queijos produzidos a partir de leite cru<sup>1</sup>, perceber a origem da contaminação, as condições que favorecem a sua proliferação, e o que poderia ser feito para reduzir essas concentrações de *E. coli*, sem comprometer o comércio e a gastronomia deste género alimentício.

Tendo em conta que os processos de produção de queijo são rigorosos no que toca aos requisitos de higiene, a origem da contaminação por *E. coli* reside não só na matéria-prima, uma vez que esta não sofre qualquer tipo de tratamento, mas também nas características dos próprios queijos.

Por último, e uma vez que a presença de *E. coli* é um critério de segurança e higiene de processos de muitos géneros alimentícios, reflecte-se se seria plausível tornar a presença deste microrganismo um critério de higiene de processos também para os queijos elaborados com leite cru.

### 1.2. Local de estágio

O estágio foi realizado na Divisão de Riscos Alimentares (DRA), unidade orgânica flexível da Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (ASAE).

Na sequência das crises relativas à alimentação humana e animal dos anos 1990 e início dos 2000 é publicado, em 2002, o Regulamento (CE) nº 178/2002, do Parlamento Europeu e do Conselho, “que determina os princípios e normas da legislação alimentar, cria a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) e estabelece

---

<sup>1</sup> - Leite cru: leite que não tenha sido aquecido a mais de 40 °C, nem tenha sido submetido a qualquer tratamento com efeito equivalente (Reg (UE) no 1308/2013).

*procedimentos em matéria de segurança de géneros alimentícios*". A ASAE, estabelecida em 2006, é o ponto focal da European Food Safety Authority (EFSA) em Portugal, especializada no âmbito da Segurança Alimentar e de Fiscalização Económica. Criada pelo Decreto-Lei n.º 237/2005, de 30 de Dezembro (revogado pelo Decreto-Lei n.º 274/2007, de 30 de julho, com excepção dos artigos n.º 32, 35º e 36º) é uma autoridade com estatuto de órgão de polícia criminal. Em 2012, sofre uma nova reestruturação de acordo com a Decreto - Lei n.º 194/2012, de 23 de agosto, passando a incluir as atribuições da Comissão de Aplicação de Coimas em Matéria Económica e de Publicidade no Domínio da Economia. A ASAE tem como missão a avaliação e comunicação dos riscos na cadeia alimentar, bem como a fiscalização dos agentes económicos e da sua actividade, na área alimentar e económica, desde os estabelecimentos industriais de produção aos estabelecimentos de comércio, aplicando e regulando o cumprimento da legislação reguladora dessas mesmas áreas (ASAE, 2017).

A ASAE rege-se pelos princípios da independência científica, da precaução, da credibilidade e transparência e da confidencialidade. As funções ao cuidado desta instituição são inúmeras, desde a realização de perícias e colheitas de amostras nos locais onde se produzem, comercializam e forneçam alimentos tanto para humanos como para animais, tendo como finalidade a emissão de pareceres técnicos e científicos, em matérias relacionadas com nutrição humana, saúde e bem-estar animal, fitossanidade e organismos geneticamente modificados. Através da divulgação de informação sobre Segurança Alimentar e definindo estratégias para a comunicação dos riscos em matéria de Segurança Alimentar, acaba por ter também uma vertente virada para os consumidores. Seguindo o disposto no Regulamento (CE) n.º. 882/2004, de 29 de Abril, *“relativo aos controlos oficiais realizados para assegurar a verificação do cumprimento da legislação relativa aos alimentos para animais e aos géneros alimentícios e das normas relativas à saúde e ao bem-estar dos animais”*, a ASAE elabora o Plano Nacional de Colheita de Amostras (PNCA) (ASAE, 2017).

O PNCA vem dar cumprimento, em termos de controlo oficial, ao estabelecido no Regulamento (CE) n.º 882/2004, e tem como objetivo verificar e assegurar que os géneros alimentícios<sup>2</sup> colocados no mercado não colocam em risco a saúde humana. Além disso, outro objetivo deste plano é salvaguardar os interesses do consumidor ao nível da correta e adequada informação, tais como a rotulagem, práticas fraudulentas, entre outras. Este plano, estabelecido anualmente, assegura a monitorização e controlo através da análise da conformidade dos géneros alimentícios, face ao que está estipulado nas legislações Comunitária e Nacional, em termos de parâmetros microbiológicos e químicos. Através de análises laboratoriais verifica a autenticidade da informação disponibilizada ao consumidor presente na rotulagem dos alimentos, além de verificar o cumprimento dos requisitos legais específicos relativos a determinados géneros alimentícios.

A gestão do PNCA é feita pela ASAE através da Divisão de Riscos Alimentares (DRA) (ASAE, 2017). Esta divisão é uma unidade orgânica flexível da ASAE integrada no Departamento de Riscos Alimentares e Laboratório (DRAL) e entre outras funções é responsável pelo planeamento, definição e coordenação do PNCA. Os Laboratórios de Microbiologia (LM), de Físico-Química (LFQ) e de Bebidas Alcoólicas e Produtos Vitivinícolas (LBPV) são as unidades responsáveis pelos ensaios realizados às amostras colhidas, para posterior apreciação de todas as análises laboratoriais efetuadas às mesmas, no âmbito deste plano. As colheitas das amostras ocorrem sem aviso prévio e não são efectuadas em alturas fixas e pré determinadas. São programadas de modo a serem distribuídas ao longo do ano, devendo chegar-se a dezembro com, pelo menos, a totalidade das amostras planeadas colhidas. Em caso de não conformidade, após a verificação efectuada pela DRA dos resultados do ensaio e/ou o respectivo rótulo, esta divisão ficará responsável, dependendo da natureza da infracção, por emitir um

---

<sup>2</sup> - “Género alimentício”: qualquer substância ou produto, transformado, parcialmente transformado ou não transformado, destinado a ser ingerido pelo ser humano ou com razoáveis probabilidades de o ser (Reg (EU) n.º 178/2002).

parecer técnico pormenorizado ou por dar a possibilidade ao operador económico responsável pela colocação do produto no mercado de interpor recurso, se for caso disso (ASAE, 2017).

No decorrer do período de estágio, foi dada a possibilidade de realização dos dois últimos meses de estágio numa outra entidade, a Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV). Esta entidade foi estabelecida de forma a unificar a Direção-Geral de Veterinária e a Direção-Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural (DGADR), que anteriormente detinha o domínio da fitossanidade. Tem por missão a definição, execução e avaliação das políticas de segurança alimentar, de proteção animal e de sanidade animal, de proteção vegetal e fitossanidade, sendo também a Autoridade responsável pela gestão do Sistema de Segurança Alimentar. Uma das secções que fazem parte da Direção de Serviços de Segurança Alimentar é a Divisão de Controlo da Cadeia Alimentar (DCCA). Das suas competências fazem parte, entre muitas outras, a coordenação, implementação, supervisão e divulgação de resultados da execução do plano de aprovação de estabelecimentos de produção, transformação e distribuição de géneros alimentícios de origem animal desde a produção primária até ao consumidor, dos estabelecimentos da agro-indústrias e dos estabelecimentos de subprodutos de origem animal (DGAV, 2017).

### **1.3. Revisão bibliográfica**

#### **1.3.1. O Queijo**

Citando Sá e Barbosa (1990) um queijo é um intenso mundo vital, um laboratório de transformação onde operam miríades de seres em labores de uma complexidade extrema.

Em simultâneo com as primeiras experiências de domesticação de animais, com o objetivo de garantir leite e carne à população, a descoberta do queijo terá ocorrido por alturas do Neolítico. Terão sido os nómadas da Ásia que descobriram a actividade coagulante do estômago de herbívoros, ao guardarem leite dentro de recipientes feitos a partir desse órgão. Quer o leite quer o queijo entraram gradualmente na

alimentação diária dos camponeses e aldeões, desde a antiga Suméria, passando pelas civilizações Babilónica e Hebraica, e acabando na antiga Grécia e na civilização Romana. Em Portugal o Queijo Serra da Estrela é o mais célebre queijo, tanto no país como junto de inúmeros apreciadores em todo o mundo. Embora a origem deste queijo remonte às invasões romanas, existem alguns defensores que afirmam que os lusitanos já o produziam. Gil Vicente no século XVI imortalizou-o ao incluí-lo na lista de ofertas dos pastores à realeza no Auto da Serra da Estrela, quando era já presença habitual nas mesas reais (Reis et al., ND).

De acordo com o *Codex Alimentarius* queijo é um produto fresco ou curado, semiduro, duro ou extra duro que pode ser revestido e no qual a relação proteínas do soro/caseína, não pode exceder a do leite. Tem de ser obtido por coagulação total ou parcial da proteína do leite, do leite desnatado, parcialmente desnatado, nata, nata do lactosoro ou leitelho, ou qualquer combinação destes. Essa coagulação é feita graças à acção do coalho ou outros agentes apropriados e por dessoramento parcial do lactosoro, respeitando o princípio de que o fabrico do queijo resulta numa concentração da proteína do leite, em particular na fracção da caseína, e que, em consequência, o teor proteico do queijo será significativamente maior de que o teor de proteína da mistura dos ingredientes dos quais o queijo foi feito. Pode também ser obtido pelo emprego de técnicas de fabrico que provoquem a coagulação do leite e/ou das matérias-primas dele derivadas de forma a obter um produto final que tenha as características físicas, químicas e organolépticas semelhantes ao do produto definido anteriormente (CA, 2011).

### **1.3.2. Tecnologias de fabrico do queijo e características principais**

O processo de fabrico dos queijos tradicionais varia pouco entre si, podendo-se agrupar segundo alguns factores específicos, entre os quais se destacam o tipo de coagulante usado, o modo de salga, o modo de trabalho e de esgotamento da coalhada, bem como os procedimentos, as condições e a duração da maturação ou cura. Muito mais nos queijos tradicionais do que nos outros queijos os factores descritos dependem bastante da matéria-prima, uma vez que são feitos com leite cru.

O leite<sup>3</sup>, matéria-prima principal para o fabrico de queijo, irá condicionar fortemente todo o processo tecnológico, nomeadamente no que diz respeito ao rendimento e à qualidade do produto final obtido, devido não só à sua composição quantitativa e qualitativa, no que se refere à riqueza em componentes úteis para o fabrico do queijo, mas também devido à sua qualidade microbiológica (Baião, 2007). A maioria dos queijos destaca-se pelo teor de proteínas, de minerais e oligoelementos (principalmente cálcio, zinco, potássio) e de vitaminas (principalmente A, B2, B9, B12 e D) (Pinho e Ferreira, 2006).

A gordura e a proteína constituem dois dos principais componentes do leite com maior complexidade (Tabela 1). A gordura pode ser analisada sob três pontos de vista: o primeiro como suporte nutricional, o segundo como influência nas características estruturais e reológicas do queijo, o terceiro como contributo na formação do aroma (Nájera et al., 1993). Quanto à proteína, a sua fracção é um dos factores preponderantes no processo de coagulação, condicionando as características da coalhada e do produto final obtido.

**Tabela 1 - Composição (%) de leites de algumas espécies animais (Fox et al., 2000)**

<i>Espécie animal</i>	<i>Gordura (%)</i>	<i>Proteína (%)</i>
<i>Caprina</i>	4,5	2,9
<i>Ovina</i>	7,4	4,5
<i>Bovina</i>	3,7	3,4

Além dos componentes referidos também o pH, nomeadamente a acidez, revelam-se importantes uma vez que estão associados à qualidade higiénica do leite e ao grau de frescura do mesmo, dando indicações das condições inerentes à produção e conservação do leite bem como ao estado sanitário dos animais (Dias et al., 2008).

---

<sup>3</sup> - "Leite" fica exclusivamente reservada ao produto da secreção mamária normal, proveniente de uma ou mais ordenhas, sem qualquer adição ou extracção (Reg. (UE) n.º 1308/2013).

A composição físico-química dos componentes acima descritos difere não só de espécie para espécie, mas também varia dentro da própria espécie com a raça, fisiologia individual, ração, estado de lactação, idade, estado de saúde do animal, estação do ano e quantidade de leite produzido (Rebelo, 1994).

A coagulação do leite resulta de modificações físico-químicas, introduzidas por acidificação ou pela acção de enzimas coagulantes. Estas enzimas podem ser de origem animal, vegetal ou microbiana. Nesta fase as proteases aspárticas, complexos enzimáticos coagulantes, têm como acção primária a desestabilização da estrutura coloidal da caseína, através da frágil ligação peptídica da caseína *k*, responsável pela estabilidade do complexo caseínico do leite. Atingida uma porção significativa deste tipo de caseína a desestabilização micelar é tal que permite que as restantes caseínas, sensíveis ao cálcio, iniciem um processo de agregação micelar correspondendo à formação de um gel, captando o cálcio iónico disponível, verificando-se a coagulação numa segunda fase. Nestas condições, a proporção residual de coagulante e os microrganismos, que constituem os agentes de transformação, são fundamentais para a evolução do queijo, mesmo na fase posterior, de cura (Brule e Lenoir, 1987).

O sal tem também uma grande influência nas transformações que decorrem na formação do queijo. A formação da crosta, inibição de crescimento de microrganismos, maturação, textura, concentração de água, aroma e sabor são moldados pela presença ou ausência de sal. É um importante fator que contribui para a segurança alimentar e para a supressão de bactérias indesejadas, que danificam as qualidades organolépticas do queijo. No entanto, a salga exagerada prejudica a fermentação láctica, fazendo com que a maturação dos queijos nunca seja perfeita, com caseína por desdobrar, originando queijos quebradiços e pouco plásticos (Dias, 2008). É por isso um componente essencial para o produtor de queijo, utilizando-o no processo de maturação de acordo com a variedade e qualidade do queijo desejadas (IDF, 2016d).

Inúmeras variedades de queijos resultam de tradições centenárias de produção em muitos países pelo mundo. Cada variedade tem a sua quantidade de sal específica

que permite um controlo da qualidade das suas características. É um importante fator para a diversidade de queijos e para a riqueza e herança da sua produção. O momento e o processo de salga variam muito segundo os tipos de queijo. Tanto pode ser feita parcialmente no leite (por exemplo no Queijo da Serpa DOP), como somente na massa (queijo Cheddar), antes de ser colocada nas formas ou já seca (queijo “Camembert” e “Brie”) (Sá e Barbosa, 1990). O queijo Emmental e outros queijos suíços têm um teor reduzido de sal para permitir que as bactérias ácidas propiónicas desenvolvam os olhos característicos e sabores no queijo. Em contraste, alguns queijos como o Parmesão contêm mais sal para reduzir o risco de fermentações ácidas propiónicas. Para o queijo Gouda o sal ajuda a prevenir o risco de fermentação butírica ácida. No queijo Cheddar, o sal ajuda a prevenir o sabor amargo. Nos queijos Roquefort, uma concentração elevada de sal previne o crescimento de *Geotrichum candidum*, ocasionalmente presente nas veias do queijo e, por isso, favorece o desenvolvimento de *Penicillium roqueforti*. Para o queijo Mozzarella, o sal melhora as suas propriedades de fusão (IDF, 2016d).

O fabrico do queijo não é mais do que um processo de conservação do leite. Na sua essência transforma um produto alimentar facilmente perecível noutro que se conserva por períodos mais ou menos longos e de forma mais ou menos alterada ou modificada, fazendo uso do contributo de diferentes meios de conservação, como a desidratação e a acidificação. A fase de maturação, ou cura, é fundamental no desenvolvimento das características individuais de cada queijo. Um queijo em maturação é um sistema bioquímico muito complexo, no qual se estabelecem múltiplos equilíbrios e entrecruzam-se numerosas rotas de degradação e síntese de compostos (Ordóñez et al., 2005). Corresponde a uma fase de digestão enzimática da coalhada essencialmente constituída por caseínas, matéria gorda e uma fração dos componentes solúveis do leite e deverá ocorrer em condições favoráveis para que permitam definir as características finais do queijo. (Martins e Vasconcelos, 2004). O tempo do processo de maturação pode ir de vinte dias até mais de dois anos, período durante o qual ocorrem eventos bioquímico primários tais como o metabolismo da lactose, das proteínas e dos lípidos. Estas três reacções são as responsáveis pelas

alterações ocorridas durante a cura que mais determinam a textura e desenvolvem o sabor e aroma, definindo, caracteristicamente, cada tipo de queijo. Nesta fase a diminuição de pH e a neutralização da pasta são dos processos mais selectivos relativamente ao controlo ou determinação da actividade microbiana e enzimática (Gomes, 2011). Alguns tipos de queijos são submetidos a uma lavagem periódica da casca, especialmente quando sujeitos a contaminações microbianas (em particular fungos e leveduras) que lhes conferem pigmentações indesejáveis. Muitas vezes erradamente associam-se os defeitos às condições de maturação, quando os problemas podem ter origem em fases muito mais precoces do ciclo de laboração. Coagulações lentas, coalhadas difíceis de trabalhar, com problemas a nível do dessoramento e retenção de soro no queijo em fresco, perda de rendimento por via de coagulação incompleta da caseína, são exemplos de problemas a nível tecnológico com origem no leite (Martins e Vasconcelos, 2004). Os defeitos do aspeto exterior, de textura ou de aroma e sabor tornam-se evidentes e acentuam-se durante esta importante fase de fabrico (Nunes, 2004).

Ainda relativamente à cura, há que acrescentar que as condições ambientais em que esta decorre, especialmente a temperatura, a velocidade de circulação do ar e a humidade relativa dentro das camaras são um fator muito importante para a actividade microbiana. Funcionam como agentes condicionantes da indução ou da limitação do desenvolvimento do microbioma de superfície, desejável ou não, consoante o tipo de queijo (Martins e Vasconcelos, 2004). O microbioma benéfico presente no leite e posteriormente no queijo é a que mais contribui para todos esses processos, participando também na inibição do desenvolvimento de bactérias patogénicas. De entre os géneros mais comuns encontrados nos queijos, constam: *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* e *Leuconostoc* (Fox et al., 2000).

### **1.3.3. O sector em Portugal**

A evolução que a indústria queijeira sofreu foi assombrosa, sobretudo no capítulo da automatização, ao que se prende, de imediato, a normalização da

qualidade. A produção de leite em Portugal ao longo dos últimos 36 anos mais que duplicou, passando das 970 mil toneladas para dois milhões de toneladas. Portugal alcançou a terceira maior taxa de variação anual homóloga da produção em 2014 e atingiu o sexto maior volume de produção em 2015. O consumo de queijo (11,7 kg per capita em 2015) mais que triplicou, evoluindo a um ritmo médio anual de 3,2% (Figura 1) (INE, 2016).

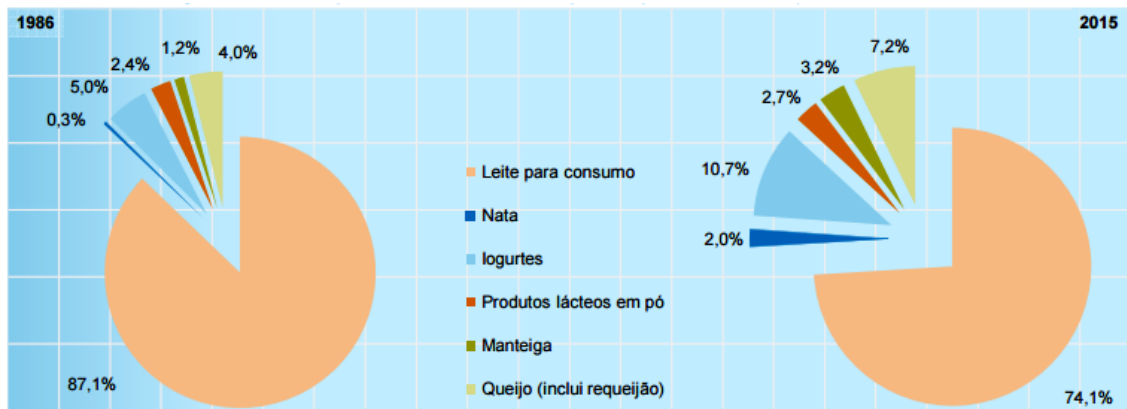


Figura 1 - Representação da produção de leite e produtos lácteos em Portugal nos anos 1986 e 2015 (INE, 2016)

Enquanto o leite perde quase metade da sua importância, em volume, o queijo amplifica-a seis vezes devido à sua grande valorização. O queijo surge como o produto lácteo mais valorizado nos últimos cinco anos por oposição aos iogurtes (Figura 2) (INE, 2016).

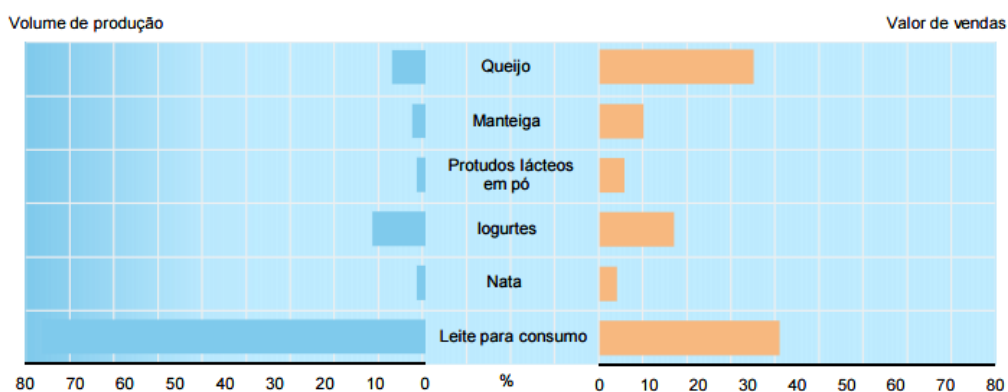


Figura 2 - Estrutura média da produção de lacticínios e valor de vendas (2010-2015) (INE, 2016).

Adicionalmente existem dados de 2007 que indicam que os queijos artesanais representavam 22% do total das vendas de queijo em Portugal, dos quais apenas 6% beneficiavam de uma denominação de origem protegida (DOP) (Reis e Malcata, 2007).

#### **1.3.4. Principais queijos Portugueses**

Existe uma enorme variabilidade de diferentes atributos que podem estar representados num queijo, dependendo da tecnologia de fabrico usada. De facto, este alimento tanto pode ser elaborado de uma maneira simples e relativamente rápida, obtendo-se um produto com poucas especificações e características, adequada ao consumo em grande escala e à produção industrial, como também pode ser elaborado de uma maneira mais complexa, obtendo-se um produto com características únicas, dificilmente reprodutíveis em grande escala dada a sua especificidade. No caso dos produtos tradicionais, a qualidade está intimamente ligada à riqueza e diversidade sensorial, razão pela qual estes queijos ganham especial favoritismo para os apreciadores, embora os aspectos relacionados com a segurança alimentar, muitas vezes questionáveis, não possam deixar de ser considerados (Martins e Vasconcelos, 2004).

Os queijos tradicionais portugueses são produtos que, muitas das vezes, remetem-nos a uma região, às suas gentes e a um modo característico de produção. São produtos manufacturados artesanalmente que suscitam imenso interesse não só devido à sua história e características organolépticas únicas, como também à grande dificuldade de imitá-los a nível industrial (Reis et al., ND).

O maior dos fatores de variabilidade que as queijarias tradicionais usam é a utilização do leite cru, predominantemente proveniente de pequenos ruminantes, em lotes relativamente reduzidos. Este facto deve-se não só aos sistemas tradicionais de produção animal mas principalmente à ideia de que toda a riqueza físico-química e biológica é um fator de qualidade e tipicidade do produto final que está intimamente ligado à região onde é produzido. Só assim se garante que esses aspectos,

determinados pelas condições específicas de cada região, se possam exprimir no produto final (Martins e Vasconcelos, 2004).

Muitas variedades de queijos em todo o mundo são tipicamente produzidas a partir de leite cru. Os consumidores apreciam a diversidade e as propriedades sensoriais distintas destes queijos cujo sabor é diferenciado e variado consoante as estações do ano bem como os microrganismos e enzimas nativos que reforçam e intensificam essas características. A maioria dos queijos mais famosos tem a sua Denominação Protegida, como o Queijo Serra da Estrela DOP, o Queijo Roquefort DOP ou o Queijo Camembert DOP. Estes queijos representam muitos anos de tradição e frequentemente dão destaque a localizações rurais particulares (Montel et al. 2014).

Dos principais queijos em Portugal destacam-se:

*Queijo Serra da Estrela DOP*

É dos queijos mais antigos e de maior tradição dos que se fabricam em Portugal. Famoso pela sua elevada qualidade, a natureza da sua pasta e restantes características faz dele um queijo sem nenhum rival em todo o mundo (Sá e Barbosa, 1990). É um produto obtido por esgotamento lento da coalhada, após coagulação do leite de ovelha cru da raça Bordaleira Serra da Estrela ou da raça Churra Mondegueira, utilizando o cardo (*Cyanara cardunculus* L.). Pode apresentar-se como queijo curado, de pasta semi-mole<sup>4</sup>, amanteigada, branca ou ligeiramente amarelada, bem ligada, cremosa e untuosa, com poucos ou nenhuns olhos. Pode também apresentar-se de pasta semi-dura e extra dura, ligeiramente quebradiça, untuosa, cor alaranjada/acastanhada, com poucos ou nenhuns olhos, sendo neste caso correntemente designado por Queijo Serra da Estrela Velho. (CPQSE, 2009).

---

<sup>4</sup> - O tipo de pasta é classificado quanto à humidade presente no queijo: extraduro (<51%), duro (49-56%), semiduro (54-69%) e mole (>67%) (CA, 2011).

### *Queijo Serpa DOP*

A matéria-prima do Queijo Serpa DOP é completamente diferente daquela que preside ao fabrico do Queijo Serra da Estrela DOP. O que contribui para que tal se verifique é o facto de as explorações terem dimensões maiores, em que os rebanhos de ovelhas podem atingir 600 cabeças. Este facto tem repercussões na carga microbiana do leite, devido não só ao excessivo tempo que a ordenha leva a ser executada, em consequência do elevado número de cabeças que é preciso ordenhar, mas também ao facto de se multiplicarem desta forma as fontes de contaminação, agravado pelo facto dos úberes e as mãos dos operadores serem pouco lavadas. Uma outra razão é a abundante flora pseudoláctica e outra não láctica específica que é usada na cura deste queijo, resultando num gosto forte e cheiro acentuado (Sá e Barbosa, 1990). É um queijo curado, de pasta semi-mole, amanteigado, com poucos ou nenhuns olhos, obtida por esgotamento lento da coalhada após coagulação do leite cru de ovelha, estreme, por acção de uma infusão de cardo (*Cyanara cardunculus* L.) (QAP, ND).

### *Queijo de Azeitão DOP*

Tem muitas parecenças com o Queijo Serra da Estrela DOP, de onde se diz ser originário, através de um pastor que foi contratado por um proprietário de Azeitão para se encarregar do fabrico do queijo das suas ovelhas. No entanto a sua cura é cerca de três semanas mais rápida, dando à massa um sabor mais acidulado e fresco (Sá e Barbosa, 1990). É um queijo curado de pasta semi-mole e amanteigada, branca ou ligeiramente amarelada, com poucos ou nenhuns olhos, obtido por esgotamento lento da coalhada após coagulação do leite de ovelha cru e estreme pelo cardo (ARCOLSA, ND).

### *Queijos da Beira Baixa DOP*

Designam-se por Queijos da Beira Baixa DOP, os queijos curados dos tipos Queijo Amarelo da Beira Baixa DOP, Queijo de Castelo Branco DOP e Queijo Picante da Beira Baixa DOP. O tipo “Castelo Branco” resulta do esgotamento lento da coalhada após a coagulação do leite cru, estreme de ovelha Merina ou outras raças adaptadas à região

com uma infusão de cardo (*Cinara cardunculus* L.). Os queijos “Amarelo” e “Picante” resultam do esgotamento da coalhada após coagulação de leite cru da raça acima mencionada e leite cru de cabra raça Charnequeira ou outras raças bem adaptadas à região, estremes ou em mistura em diferentes proporções, com coalho de origem animal (APQDCB, 2016). Estes dois últimos queijos diferem, principalmente, no seu tempo de maturação. A acentuada promiscuidade em que as três espécies de animais referidas coabitam na região devido às condições geográficas e económicas que aí se verificam, estabelecem uma distinção inequívoca com a região naturalmente produtora do Queijo Serra da Estrela, daí a existência bem definida dos tipos de queijo da “Beira Baixa DOP” (Sá e Barbosa, 1990).

#### *Queijo São Jorge DOP*

Produzido nos Açores, na ilha de S. Jorge, caracterizada por possuir factores humanos e edafo-climáticos responsáveis pelas características específicas do tradicionalmente conhecido queijo “São Jorge”. É um queijo curado de consistência firme, pasta amarelada, dura ou semidura, com olhos pequenos e irregulares, que apresenta uma estrutura quebradiça, untuosa e cheiro agradável, mas muito intenso, e sabor forte, ligeiramente picante. Este tipo de queijo é obtido por dessoramento e prensagem após coagulação do leite de vaca inteiro e cru (UCALSJ, ND; Sá e Barbosa, 1990).

#### *Queijo de Nisa DOP*

É um queijo curado, de pasta semi-dura, de tonalidade branco-amarelado, fechado, com alguns olhos pequenos, obtido por esgotamento lento de coalhada, após a coagulação do leite cru de ovelha, estreme, por acção de uma infusão de cardo (*Cynara Cardunculus*, L.) (APPNA, ND).

#### *Queijo de Évora DOP*

É um queijo curado de pasta dura ou semi-dura com poucos ou nenhuns olhos e ligeiramente amarelada. Obtido por esgotamento da coalhada após a coagulação de leite cru de ovelha de raça Merina estreme, por acção de uma infusão de cardo (*Cinara*

*Cardunculos L.*), que lhe confere um sabor ligeiramente picante e acidulado, sendo mais acentuado no queijo de pasta dura. Constitui um produto tradicional muito apreciado, apresentando características especiais de sabor e tamanho que o tornam um produto facilmente comercializável (COE, ND).

#### *Queijo Rabaçal DOP*

É um queijo curado de pasta semi-dura a dura, branco-mate, com poucos ou nenhuns olhos pequenos e irregulares disseminados na massa, obtido por esgotamento lento da coalhada após coagulação da mistura de leites de ovelha e cabra por acção do coalho de origem animal. O leite utilizado para o fabrico deste queijo, deve ser proveniente de fêmeas das duas espécies numa proporção que deverá situar-se entre duas a três partes de leite de ovelha para uma de leite de cabra (CPQR, ND).

#### *Queijo de Cabra Serrano Transmontano DOP*

É um queijo curado, extraduro, obtido por esgotamento lento da coalhada, após a coagulação do leite cru de cabra da Raça Serrana, estreme, por acção de coalho animal e de fabrico artesanal (CPLCS, ND).

A certificação DOP de tais produtos significa conceder ao produtor um atestado de confiança no seu processo de fabrico e no seu produto. A vantagem económica da certificação traduz-se no preço mais elevado do produto no mercado, dando oportunidade aos produtores de desenvolverem localmente a sua actividade de uma forma mais rentável. Deste modo, é possível manter padrões económicos aceitáveis através da valorização da mão-de-obra familiar, permitindo também complementar a manufactura de produtos artesanais com a exploração de turismo rural (Reis et al., ND).

### **1.3.5 Principais queijos estrangeiros**

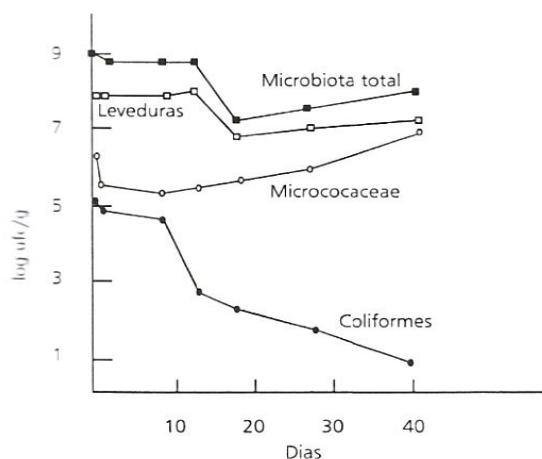
#### *Queijo Parmesão DOP*

As variedades mais conhecidas deste grupo são o “Grana Padano” e o “Parmigiano Regiano”. São bastante semelhantes, em termos de processo de fabrico e em

características visuais, no entanto, diferem em pormenores como por exemplo na nutrição disponível para o gado, uma vez que o “Parmigiano Reggiano” apenas pode ser fabricado entre 15 de Abril e 11 de Novembro. Consequentemente, as características do leite obtido serão desta forma distintas, consoante as estações do ano (Tamime & Marshall, 1997). Trata-se de um queijo de ralar, muito duro, com uma textura granulosa e aberturas muito pequenas. Fabrica-se com leite cru parcialmente desnatado e a sua maturação pode ir de um a dois anos para os denominados “velho”, ou até três anos para o “velhíssimo”. A pouca humidade do queijo é um fator que contribui para a sua estabilidade na conservação, podendo esta atingir largos anos. Este tipo de queijo é obtido com leite cru, pois o seu processo de fabrico implica uma autêntica pasteurização, acrescida da elevada acidez a que a coalhada é submetida, determinando uma espécie de pasteurização química (Sá e Barbosa, 1990).

#### *Queijo Roquefort DOP*

É um queijo fabricado com leite cru de ovelha, e por isso contem um microbioma variado, predominando as bactérias lácticas entre quantidades variáveis de outros microrganismos. O desenvolvimento do microbioma neste queijo é ilustrado na Figura 3.



**Figura 3 - Mudanças microbiológicas durante a maturação do "Queijo Roquefort" (Ordóñez et al., 2005).**

Verifica-se que o grupo a que os lactococos pertencem diminui rapidamente, devido, por um lado, ao seu alto grau de acidez e, por outro, à crescente concentração

de sal na fase aquosa. Quanto aos micrococos, embora a sua taxa diminua no início pelo ácido formado, volta a aumentar depois com o aumento do oxigênio através da massa quebradiça e, sobretudo, quando se fazem orifícios para que o *Penicillium roqueforti* possa desenvolver-se no interior do queijo. Essa microbiose forçada é acompanhada pela elevação do pH que ocorre quando o ácido láctico é consumido pelo fungo e pela geração de substâncias nitrogenadas de carácter básico. Uma vez adicionado o fungo, este multiplica-se, sendo o microrganismo predominante nas fases mais avançadas da maturação (Ordóñez et al., 2005).

#### *Queijo Camembert DOP*

Este queijo até completar o seu fabrico passa por seis fases de maturação, correspondendo cada uma à predominância de um certo tipo de agentes microbianos, desempenhando funções perfeitamente ajustadas ao momento (Sá e Barbosa, 1990). Apresenta um sabor suave, ligeiramente acidulado, com um interior de textura pouco firme, pasta mole, que se modifica à medida que se aproxima da crosta. Toda a microflora, e a sua actividade resultam em mudanças de textura e sabores, que conferem ao “Queijo Camembert” características únicas, das quais se destaca a sua crosta branca/amarelo creme, coberta pelo fungo *Penicillium camembert*. (Robinson, 1995).

#### **1.3.6 Fatores que afetam o crescimento microbiano**

É importante ter em atenção o facto de o desenvolvimento e a sobrevivência dos microrganismos nos alimentos serem determinados por diversos fatores. Os designados por intrínsecos estão relacionados com o próprio alimento, nomeadamente o teor de humidade, a atividade de água<sup>5</sup> ( $a_w$ ), o pH, o potencial oxidação-redução, os nutrientes disponíveis, os constituintes antimicrobianos e as estruturas biológicas. Enquanto os fatores extrínsecos, estão relacionados com as

---

<sup>5</sup> - “Atividade de água” – definida como o produto entre a pressão de vapor de água em equilíbrio com o alimento e a pressão de vapor de água em equilíbrio com água pura.

características do ambiente de armazenagem, incluindo a temperatura, a humidade relativa da atmosfera e a presença e concentração de gases nomeadamente CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> (Ferreira e Sousa, 2002).

No que diz respeito a alguns dos fatores, destaca-se o parâmetro  $a_w$ , a adição de outros ingredientes aos queijos diminui o valor deste parâmetro e quanto mais baixo for, maior a segurança do alimento. (Freitas e Malcata, 2000). A redução de  $a_w$  por secagem ou adição de sal é uma das principais técnicas usadas para preservar alimentos. Combinado com variações de pH e temperatura,  $a_w$  tem uma grande influência no desenvolvimento de microrganismos. O mínimo necessário para o desenvolvimento microbiano é de cerca de 0,62. Permite, por exemplo, o crescimento de espécies xerófilas. À medida que  $a_w$  aumenta, e a partir de 0,8, algumas espécies de bactérias podem-se desenvolver, incluindo microrganismos patogénicos: *Staphylococcus aureus* a partir de 0,86; *Listeria monocytogenes* a partir de 0,92; *E. coli* a partir de 0,95 (Fox e McSweeney, 1998). A maioria das bactérias patogénicas encontra-se controlada quando valores de  $a_w$  são inferiores a 0,85, sendo que a produção de toxinas é, na maioria dos casos, inibida a valores inferiores a 0,90 (Batista e Venâncio, 2003).

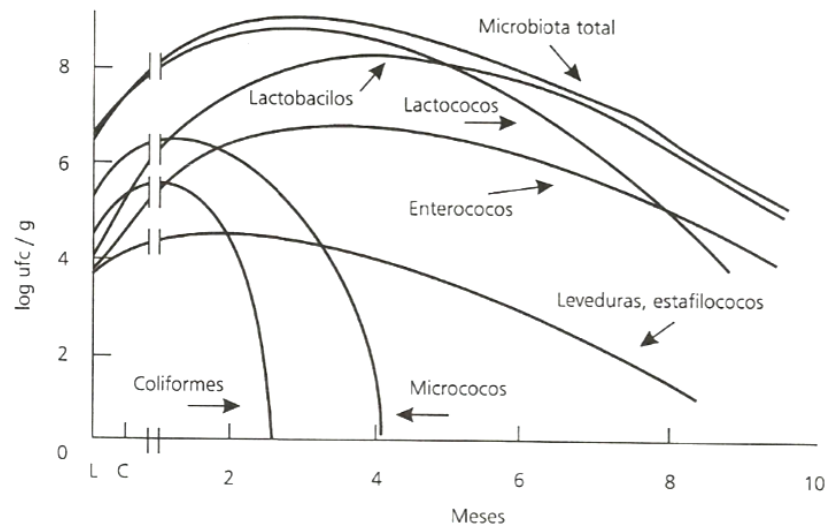
Quanto ao parâmetro de pH, a sua redução no alimento contribui para reduzir a capacidade de desenvolvimento microbiano. Existem diferentes técnicas que usam variações de pH para a conservação de alimentos, como sejam a acidificação por processos fermentativos, como o iogurte, ou o uso de ácidos fracos, como as conservas de *pickles*. Estes processos são eficazes uma vez que a redução do pH contribui para reduzir a capacidade de desenvolvimento microbiano, contudo, diferentes grupos de microrganismos têm condições ótimas, mínimas e máximas de acidez para crescerem nos alimentos (Batista e Venâncio, 2003). Para alimentos com um pH >4.5, considerados de baixa acidez, é predominante o crescimento bacteriano. Para níveis de pH entre 4.5 e 4.0, considerados alimentos ácidos, predomina o desenvolvimento de leveduras oxidativas ou fermentativas e de bolores em aerobiose. Algumas bactérias esporogénicas e não esporogénicas também se podem desenvolver.

Com pH <4.0, consideram-se os alimentos muito ácidos, e o desenvolvimento microbiano é quase exclusivo de leveduras, bolores e também de bactérias acéticas (QSA, ND).

Outro dos fatores intrínsecos é o potencial oxido-redução. Relacionado com este fator temos que considerar os microrganismos consoante as suas exigências em relação ao oxigênio, classificando-os como aeróbios, anaeróbios, aeróbios facultativos e microaerófilos. Quase todos os bolores, leveduras oxidantes e muitas bactérias são microrganismos aeróbios, enquanto que algumas bactérias patogênicas, como *Clostridium botulinum*, são anaeróbios. A relação entre o crescimento microbiano e o potencial oxido-redução pode variar bastante, dependendo de mudanças no pH do alimento, dos ingredientes e composição deste (Batista e Venâncio, 2003).

#### **1.3.7. Qualidade microbiológica**

Quando um queijo é fabricado com leite cru, os microrganismos presentes neste passarão à coalha. Da grande diversidade dos microrganismos que existem no leite, alguns multiplicam-se rapidamente desde o início do processo de transformação, tais como os lactococos, enquanto outros apenas se expressam em etapas mais avançadas da maturação, nomeadamente, os lactobacilos e outros microrganismos secundários. Existem também microrganismos que têm o seu desenvolvimento inibido devido à presença de condições desfavoráveis, e mesmo outros que acabam por desaparecer durante o período maturativo. A Figura 4 exemplifica as mudanças que ocorrem no microbioma ao longo do processo de fabrico e maturação de um queijo obtido a partir de leite cru. Todos estes aspectos microbiológicos ocorrem em todos os tipos de queijo maturados, onde as bactérias lácticas têm um papel crucial (Ordóñez et al., 2005).



**Figura 4 – Ocorrência de alterações no microbioma ao longo do tempo num queijo fabricado com leite cru; L-leite; C-coalha. (Ordóñez et al., 2005).**

É estritamente necessário uma abordagem integrada, do prado ao prato, quando se fala em produção de queijos com leite cru com vista ao controlo de contaminação de patogénicos de origem alimentar. A produção inicia-se no prado e continua durante o transporte do leite até à queijaria, depois no armazenamento e finalmente no transporte do produto final até ao retalho (Collins and Wall, 2004).

Só o leite com uma qualidade consistente e segurança satisfatória pode ser usado no fabrico de queijo com leite cru. Como a quantificação da qualidade microbiológica do leite tem as suas limitações, a segurança alimentar passa em grande parte pelas medidas preventivas relacionadas com a saúde animal, qualidade nutricional e aplicação de boas práticas higiénicas e sanitárias, quer ao nível da ordenha quer ao nível da linha de produção industrial. A Tabela 2 apresenta, a título exemplificativo, como a medida preventiva da rejeição dos primeiros jatos de leite na ordenha podem contribuir para uma redução drástica da carga microbiana no leite.

**Tabela 2 - Riqueza em bactérias por mililitro nos primeiros e últimos jatos de uma ordenha (Sá e Barbosa, 1990).**

<i>Número de jatos</i>	<i>Bactérias por mL</i>
1º e 2º	5591
5º e 6º	2096
9º e 10º	436
Últimos jatos	144

Um dos principais requisitos sanitários aplicáveis à produção de leite cru é que este deve provir de animais pertencentes a explorações oficialmente indemnes de brucelose e tuberculose. Existem também requisitos aplicáveis às instalações e equipamentos, à higiene durante o transporte e também relativos à higiene do pessoal (Reg. (CE) n° 2073/2005).

Para o presente estudo, interessa ter em especial atenção os critérios<sup>6</sup> aplicáveis ao leite cru. Os operadores das empresas que queiram fabricar produtos lácteos por um processo que não inclua nenhum tratamento térmico devem assegurar que se cumpra os seguintes critérios para o leite cru (Tabela 3):

**Tabela 3. - Critérios microbiológicos do leite não tratado termicamente e usado para produção de produtos lácteos (Reg (CE) n° 853/2004).**

<i>Espécie animal</i>	<i>Contagem em placas a 30°C (ufc/mL)</i>
<i>Bovino</i>	$\leq 1 \times 10^5$ (*)
<i>Outras espécies</i>	$\leq 5 \times 10^5$ (*)

(\*) Média ao longo de um período de dois meses, com, pelo menos, duas colheitas mensais.

---

<sup>6</sup> Critério microbiológico que define a aceitabilidade de um produto, de um lote de géneros alimentícios ou de um processo, baseado na ausência ou na presença de microrganismos, ou no seu número, e/ou na quantidade das suas toxinas/metabolitos, por unidade(s) de massa, volume, área ou lote (Reg. (CE) n° 2073/2005).

Tendo em conta a pesquisa de *E. coli* nos queijos, como principal objectivo deste estudo, torna-se importante referir o que está regulamentado relativamente a este assunto. A legislação actualmente em vigor apenas considera a pesquisa de *E. coli* como um critério de higiene dos processos (e não como um critério de segurança dos géneros alimentícios) para queijos feitos com leite tratado termicamente.

É importante saber distinguir estes dois critérios. De acordo com o Regulamento (CE) nº 2073/2005 *“um critério de segurança para os géneros alimentícios define a aceitabilidade de um produto ou de um lote de géneros alimentícios aplicável aos produtos colocados no mercado”*. De acordo com o mesmo Regulamento, *“um critério de higiene dos processos indica se o processo de produção funciona de modo aceitável. Não é aplicável aos produtos colocados no mercado. Estabelece um valor de contaminação indicativo, acima do qual se tornam necessárias medidas correctivas para preservar a higiene do processo em conformidade com a legislação alimentar”*.

Além do que já foi mencionado, importa referir que não é estabelecido qualquer critério para a *E. coli* relativamente a queijos fabricados com leite cru. Por esta razão, um dos principais objectivos deste trabalho é perceber até que ponto não será plausível esse critério ser aplicado também para queijos elaborados com leite cru, à semelhança do que acontece com queijos de leite pasteurizado ou natas e manteigas obtidas a partir de leite cru. Perante este facto, foi importante perceber quais são os limites estabelecidos para outros alimentos e de certa forma transpor esses limites para o género alimentício em questão. No regulamento acima referido, os critérios indicadores de higiene dos processos a verificar para um queijo obtido através de leite pasteurizado são os presentes na Tabela 4.

**Tabela 4 - Critérios microbiológicos a verificar em queijos fabricados com leite submetido a tratamento térmico (indicadores de higiene dos processos) (Reg (CE) nº 2073/2005):**

Categoria de alimento	Microrganismo	Plano de amostragem		Limites (ufc/g)	
		n	c	m	M
Queijo fabricado com leite pasteurizado	<i>E. coli</i>	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>

n = número de unidades que constituem a amostra; c = número de unidades da amostra com valores entre m e M; m = valor mínimo verificado; M = valor máximo verificado.

Uma outra referência são os “Valores Guia” para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos-a-comer (Santos et al., 2000), estabelecidos pelo Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge. Este documento é utilizado actualmente na elaboração de pareceres técnicos por parte da Divisão de Riscos Alimentares da ASAE. Com base na contagem de microrganismos aeróbios mesófilos, microrganismos indicadores e a presença ou o número de determinados patogénicos, obtidos na análise microbiológica, foram estabelecidos quatro níveis de qualidade microbiológica segundo os quais os alimentos são classificados. Os alimentos analisados dizem respeito a géneros prontos a consumir, contudo o queijo não está especificamente mencionado. Ainda assim de um modo geral, e para a bactéria *E. coli*, os alimentos podem ser classificados tendo em conta o número de unidades formadoras de colónias por grama de queijo (ufc/g), como se apresenta na Tabela 5.

**Tabela 5 – “Valores Guia” para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos-a-comer (adaptado Santos et al., 2000).**

<i>Microrganismo</i>	<i>Qualidade Microbiológica</i>			
	Satisfatória	Aceitável	Não satisfatória	Inaceitável/potencialmente perigoso
<i>E. coli</i> (ufc/g)	≤10	10 a 10 <sup>2</sup>	≥10 <sup>2</sup>	Não aplicável

Além dos evidentes problemas que a presença de patogénicos podem trazer para a saúde pública, a falta de higiene ao longo do processo de fabrico de um queijo pode colocar em causa a concretização e obtenção do produto final desejado. Os factores

mais ligados ao animal (espécie, raça), em conjunto com as envolventes geográficas e ambiental, e ainda, a alimentação animal, são considerados como os factores mais importantes na definição da tipicidade e especificidade dos queijos tradicionais, desde que tenham possibilidade de se expressar no produto final (Martins e Vasconcelos, 2004).

A evolução das características do produto está intimamente relacionada com a atividade microbiana. Esta atividade pode ser afetada por inibidores ou outros contaminantes de origem química, pelo que o leite deve estar isento destas substâncias indesejáveis, bem como de patogénicos que podem por em causa a saúde do consumidor. Deste modo, a composição microbiana do leite é o fator que mais pode contribuir para o aparecimento de defeitos, quer diretamente no produto final, quer indirectamente afetando toda a evolução da transformação tecnológica.

A utilização de refrigeração em condições deficientes pode tornar-se uma fonte potencial de problemas para o fabrico do queijo. A consequente variação da temperatura altera completamente o equilíbrio do microbioma do leite, favorecendo o desenvolvimento de psicotróficos, causando graves problemas na evolução e na qualidade do queijo. A qualidade da matéria-prima é por isso considerada o fator mais importante, exercendo influência em todas as fases de fabrico (Martins e Vasconcelos, 2004).

O risco de segurança alimentar de queijo produzido com leite cru pode ser controlado implementando padrões rigorosos de higiene durante a produção do leite, juntamente com a implementação de boas práticas de higiene no processamento. Adicionalmente, e sempre que necessário, este procedimento pode ser suportado com controlos microbiológicos relevantes, baseados na análise de risco, ao longo do processo de produção de forma a garantir produtos de qualidade, seguros e saudáveis. Tendo em conta no fabrico do queijo, que alguns passos do processamento podem limitar, atrasar ou prevenir o crescimento de patogénicos e/ou reduzir a potencial carga microbiana presente inicialmente no leite cru, a aplicação de boas práticas de

higiene, planos HACCP, análises regulares, rastreamento e procedimentos de recolha ou retirada de produtos, são ferramentas necessárias para minimizar o risco para os consumidores (IDF, 2016a).

Uma questão pertinente, que surge ao aplicar todos os critérios de segurança alimentar referidos anteriormente, diz respeito à sua aplicabilidade aos métodos tradicionais. Foram por isso estabelecidas derrogações às exigências vigentes, de modo a permitir a continuidade da produção dos queijos tradicionais, sem prejudicar as adequadas condições de segurança alimentar. A utilização dos modos tradicionais de preparação do queijo, designadamente no que se refere ao tipo de materiais de que são feitos os instrumentos e ao equipamento utilizado especificamente para a preparação, embalagem e acondicionamento destes produtos, não comprometem a concretização dos objectivos das exigências vigentes, desde que sejam limpos, desinfectados regularmente e mantidos permanentemente num estado de higiene satisfatório (Despacho n.º 25484/2009).

A título exemplificativo do que foi referido anteriormente, é admitido no processo de maturação tradicional, a colocação do queijo em estruturas de madeira e o seu envolvimento em cintas de pano, desde que estes sejam higienizados de forma a assegurar que não existe acréscimo de risco microbiológico. O uso destas estruturas deve-se às propriedades da própria madeira que, de certa forma, possuem interesse do ponto de vista da segurança dos alimentos uma vez que alguns tipos de madeira possuem propriedades antimicrobianas, provavelmente relacionadas com a presença de polifenóis. As espécies que mais se destacam com esta capacidade são o carvalho e o pinheiro. Prateleiras feitas em abeto, usadas frequentemente para suportar os queijos maturados, são menos eficazes mas ainda assim apresentam melhores resultados comparados com as prateleiras de plástico, no que diz respeito à inibição de certas bactérias (Milling et al., 2005). Além disso, o uso de prateleiras de madeira é considerado fundamental na obtenção de certos tipos queijos, para que estes adquiram a humidade e a textura final desejadas, bem como o seu sabor (IDF, 2016 b). Da mesma forma, durante o processo de cura do “Queijo Picante da Beira Baixa DOP”

é permitido o uso de feixes de palha de centeio para envolver os queijos, desde que seja assegurado que existe um processo de higienização validado, capaz de eliminar os riscos microbiológicos. Esta higienização, geralmente, utiliza uma solução clorada e posterior secagem em estufa a 65°C durante 24 horas, mas pode-se recorrer a outro processo que o operador demonstre ter o mesmo efeito (Despacho n.º 25484/2009).

### **1.3.8. *Escherichia coli***

Theodor Escherich, bacteriologista alemão, foi o primeiro a descrever em 1885 o isolamento de uma bactéria de fezes de crianças, designada na altura *Bacterium coli*. Em 1920, com os crescentes casos de gastroenterites provocadas por esta bactéria, esta foi renomeada de *E. coli* (Roberts et al., 1996).

Como já referido, alguns microrganismos podem contribuir de forma benéfica no processamento de queijos e na qualidade destes. Contudo, muitos deles estão envolvidos em processos que causam defeitos no produto final, ou, com maior gravidade, efeitos na saúde dos consumidores, levando à ocorrência de doenças de origem alimentar. Estas doenças podem ser agudas ou crónicas, envolvendo não só o aparelho digestivo, mas também os sistemas nervoso, circulatório, urinário e respiratório. Dada a sua elevada prevalência no intestino, a *E. coli* é o indicador preferido para detetar e medir uma contaminação fecal no processo de avaliação de segurança dos alimentos e da água. Considerado um dos comensais mais inofensivos, as suas estirpes constituem 1% da população microbiana intestinal. A *E. coli* patogénica distingue-se pela sua capacidade de causar graves doenças como resultado da sua capacidade genética de produzir toxinas, adesão e invasão de células do hospedeiro, interferência com o metabolismo celular e destruição de tecidos (FDA, 2016).

Existem seis principais grupos patogénicos de *E. coli* que afetam o intestino dos seres humanos: *E. coli* produtora de toxina Shiga (STEC), também chamada *E. coli* produtora de verotoxinas (VTEC); *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), que é um subgrupo de STEC/VTEC, onde se inclui o principal serotipo *E. coli* O157:H7, provavelmente a *E. coli* patogénica mais importante em termos de infeções

alimentares; *E. coli* enteropatogénica (EPEC); *E. coli* enterotoxigénica (ETEC); *E. coli* enteroagregativa (EAEC); *E. coli* enteroinvasiva (EIEC); *E. coli* de aderência difusa (DAEC) (Farrokh et al., 2013).

As bactérias têm a capacidade de alterar o seu material genético, através de elementos genéticos móveis como plasmídeos e bacteriófagos, conseguindo adaptar-se a novos ambientes, contribuindo esta característica para o aparecimento de bactérias patogénicas intestinais mais virulentas. A aptidão da *E. coli* modificar o seu material genético foi demonstrada no caso da estirpe de *E. coli* (O104:H4) responsável pelo surto na Alemanha em Maio e Junho de 2011. Foi descoberto que possuía características genéticas de duas estipes num híbrido STEC-EAEC, além de ser uma estirpe resistente a muitos agentes antimicrobianos. Os ruminantes são reconhecidos como a principal reserva natural da STEC, e em particular da EHEC (O157:H7) (FDA, 2016).

É estabelecido na literatura científica que a presença de um organismo indicador, como a *E. coli*, coliformes, coliformes fecais ou enterobacterias, geralmente não se correlacionam com a presença de patogénicos de origem alimentar nem a sua quantificação se revela útil para a detecção destes. De igual modo, a ausência dos indicadores referidos não significa a ausência de patogénicos de origem alimentar (Kornacki et al., 2015). É importante salientar que estes organismos têm uma tolerância significativa à acidez e às temperaturas baixas usadas no período de cura. Em relação aos efeitos negativos que a elevada carga de *E. coli* ocasiona ao nível da qualidade dos queijos, está relacionado com o facto de estas bactérias provocarem o chamado “flato precoce”, provocado pela produção de gás, podendo inclusive chegar a rachar o queijo (Ordóñez et al, 2005).

## **2. Metodologia**

### **2.1. Recolha de informação**

O banco de dados do Plano Nacional de Colheita de Amostras (PNCA) é elaborado, de um modo geral, com um fim estatístico global de cumprimento/incumprimento dos requisitos legais. A informação contida é a necessária para garantir a rastreabilidade da amostra e contém informações relevantes, tais como, os resultados analíticos, as determinações laboratoriais, a apreciação técnica, o local de colheita, a marca de identificação, o código da brigada, o código da amostra, entre outras.

Tendo em conta os objetivos deste trabalho, a informação disponibilizada por este banco de dados torna-se muito limitada, uma vez que a informação necessária prende-se com as características químicas, físicas e organolépticas da própria amostra, informação essa, muitas vezes não contemplada neste banco de dados ou mesmo no processo documental de cada amostra. Contudo, esse problema foi contornado focando este estudo em queijos DOP. Uma vez que as características destes queijos têm de corresponder a um caderno de especificações rigoroso para que sejam reconhecidos como DOP, é possível cruzar esses requisitos, nomeadamente, características de humidade, salinidade, tempo de maturação, actividade de água, região de origem, entre outras, com os dados do PNCA e assim obter análises fundamentadas e passíveis de serem discutidas. Dado que existe um número significativo de amostras de outros tipos de queijos, estes foram igualmente contemplados tendo em vista uma análise adicional relativa à presença de *E. coli* no sector dos queijos mais comercializados.

Os dados dos PNCA de todos os anos são apresentados usando o programa Microsoft Excel 2010, sendo este o formato escolhido para o tratamento destes mesmos dados. Adicionalmente, foi criado o mesmo banco de dados através do programa IBM SPSS Statistics 20 de forma a obter outro tipo de análise dos resultados.

### 2.1.1. PNCA de 2014 a 2016

De 2014 a 2016, foram colhidas 410 amostras de queijo (Figura 5) no âmbito do Plano Nacional de Colheita de Amostras levado a cabo pela Autoridade de Segurança Alimentar e Económica.

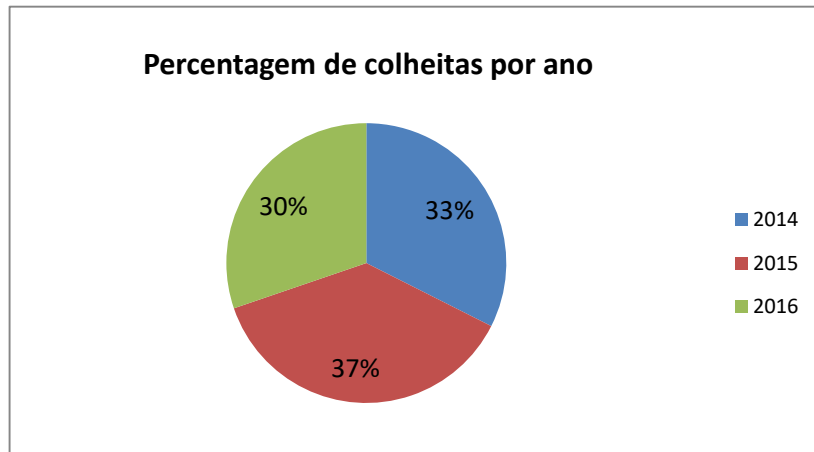


Figura 5 - Distribuição percentual das colheitas realizadas nos anos 2014, 2015 e 2016.

Tendo em conta o objectivo do presente estudo, foi analisada a informação presente no banco de dados do PNCA e contempladas apenas as amostras em que se verificavam os seguintes critérios: queijos fabricados a partir de leite cru; amostras sujeitas a análises microbiológicas; amostras sujeitas a pesquisa da presença de *E. coli*.

Da totalidade das amostras colhidas, 177 cumpriam os requisitos acima mencionados.

### 2.1.2. PNCA de 2017

Por forma a complementar a amostragem das colheitas de 2014 a 2016, durante a realização do estágio, no período entre Fevereiro a Maio de 2017, as amostras de queijo colhidas foram seleccionadas tendo em conta os requisitos do presente estudo e também o tipo de queijos que se revelavam mais interessantes para este tipo de avaliação. Deste modo, as colheitas incidiram exclusivamente em queijos DOP portugueses e estrangeiros, e a seleção dos tipos de queijo foi idealizada tendo em conta, não só os queijos DOP portugueses em falta nas amostras dos anos 2014 a

2016, como também a repetição da colheita dos queijos DOP portugueses que apresentaram valores mais elevados de *E. coli*. Contudo, o limite do número de colheitas por mês, bem como o tempo necessário para efectuar as respetivas análises laboratoriais, representaram condicionalismos para a obtenção de um maior número de amostras presentes no estudo. Face ao exposto, foram realizadas 19 colheitas nos meses anteriormente mencionados, perfazendo um total de 196 amostras de queijo. Pode-se ainda acrescentar, que esta amostragem não representa a totalidade de todos os tipos de queijos DOP portugueses. Adicionalmente, também foram analisados queijos DOP estrangeiros com o objectivo de os comparar com os nacionais, no que diz respeito à sua qualidade, traduzida sob a presença de *E. coli*.

Perante as informações presentes no banco de dados nestes 4 anos, foi possível criar 8 grupos de amostras com características distintas (Tabela 6) de acordo com:

- a) a espécie animal que deu origem ao leite usado no fabrico do queijo;
- b) as características reconhecidas (DOP e não DOP);
- c) outros tipos de queijos, onde se incluem os grupos pouco representados em número de amostras, queijos ralados ou queijos com adição de ervas (especiarias entre outros).

**Tabela 6 - Grupos de queijos formados neste estudo e respetivo número de amostras colhidas**

<i>Características reconhecidas</i>	<i>Tipo de queijo</i>	<i>Número de amostras</i>
DOP	Portugueses	30
	Estrangeiros	13
Não DOP	Ovelha	60
	Cabra	9
	Cabra e Ovelha	6
	Cabra, Ovelha e Vaca	8
	Bolores azuis	12
	Outros tipos <sup>a</sup>	58
<b>Total</b>		<b>196</b>

<sup>a</sup> - Outros tipos: grupo de queijos com características distintas, amostras únicas ou que não apresentam informações suficientes para serem inseridos num dos grupos formados neste estudo.

A Figura 6 apresenta mais pormenorizadamente os tipos de queijo que fazem parte do grupo dos DOP Portugueses. Salienta-se que não foi possível obter amostras de todos os queijos DOP portugueses, estando em falta o Queijo do Pico DOP e o Queijo Terrincho DOP.

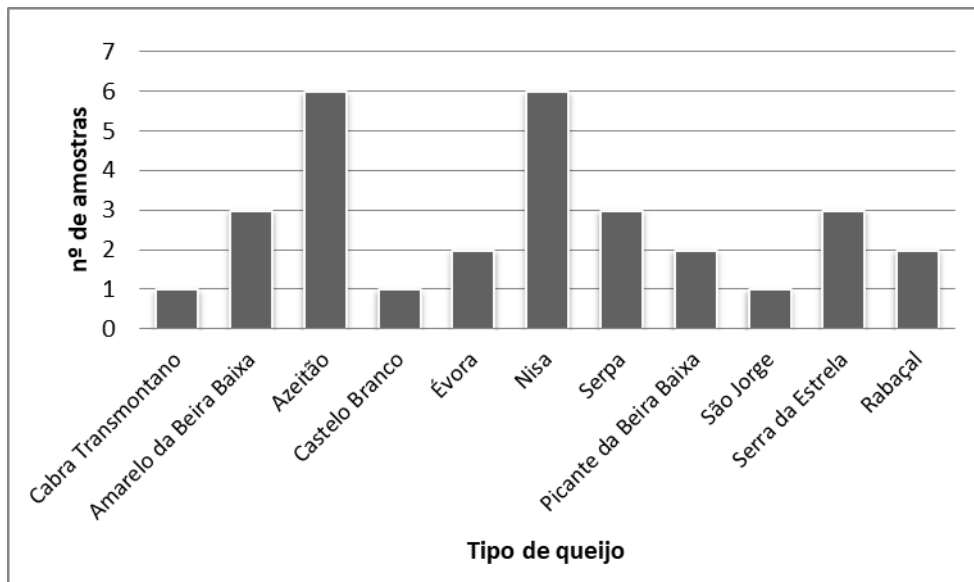


Figura 6 – Número de amostras no grupo dos “Queijos DOP Portugueses”.

## 2.2. Parâmetros avaliados

A informação presente nos dados do PNCA permitiu avaliar diversos parâmetros relativamente à presença de *E. coli*, uma vez que, foi possível cruzar as características das suas especificações. Assim, tentou-se perceber a variação da carga de *E. coli* consoante diferentes factores, nomeadamente, a i) humidade; ii) teor de sal; iii) estado de maturação; iv) espécie animal que deu origem ao leite.

Através da informação disponibilizada no PNCA anualmente, é também possível perceber quais as queijarias que produzem os queijos que apresentam índices de *E. coli* mais elevados e se existem estas incidências repetidas ano após ano, para a mesma queijaria. Os termos definidos na Secção I, do Anexo II, do Regulamento (CE) n.º 853/2004, mostram a obrigatoriedade de uma marca de identificação em todos os queijos, de tal forma que é possível conseguir rastrear a queijaria que o produziu. A consulta das informações, relativas à queijaria que produziu determinado queijo, é

feita através da base de dados do Sistema de Informação do Plano de Aprovação e Controlo dos Estabelecimentos (SIPACE), desenvolvido pela DGAV. O Projeto SIPACE, disponível online, tem como objetivos melhorar a capacidade de resposta e adaptação dos serviços às novas exigências, modernizar os serviços e manter uma base de dados atualizada, permanentemente consultável pelos operadores para fomentar uma maior transparência na atuação da DGAV. Incluí diversas informações relativas ao operador económico, contudo, para este trabalho, apenas foi dada atenção à localização geográfica dos operadores em causa.

### 2.3. Tratamento dos dados

Relativamente à quantificação de *E. coli* presente nas amostras de queijo, os resultados analíticos são expressos em unidades formadoras de colónias por grama de amostra (ufc/g). Das cinco contagens efetuadas por cada amostra é dada especial atenção ao menor e ao maior número contabilizado de ufc/g, de modo a obter-se um intervalo numérico dentro do qual a contagem de *E. coli* se insere. Adicionalmente, também é determinada a mediana dos cinco valores, por forma a verificar-se qual deles representa melhor a amostra, desvalorizando eventuais picos nos resultados. Deste modo, é possível obter um intervalo numérico de contagem de *E. coli* para cada amostra (ufc/g) e a determinação que melhor a representa, tal como se exemplifica na Tabela 7.

**Tabela 7 - Exemplo do tratamento dos dados para a quantificação de *E. coli* nas amostras de queijos**

Determinação (ufc/g)					Valor mínimo	Valor máximo	Mediana
1	2	3	4	5	(ufc/g)	(ufc/g)	(ufc/g)
$1,50 \times 10^2$	$1,30 \times 10^4$	$5,40 \times 10^2$	$4,30 \times 10^2$	$4,90 \times 10^2$	$1,50 \times 10^2$	$1,30 \times 10^4$	$4,90 \times 10^2$

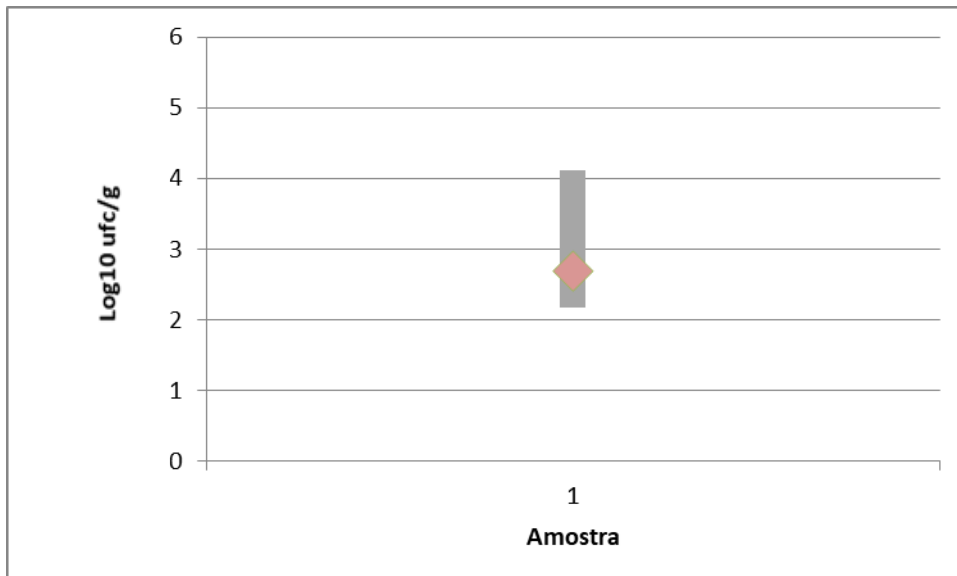
Com o intuito de facilitar a leitura e interpretação da informação presente nos resultados analíticos de cada amostra, foi atribuída uma cor específica de acordo com o número máximo de ufc/g quantificado, uma vez que este parâmetro representa o limite até ao qual se poderá quantificar este microrganismo. A atribuição de cores adotada baseia-se nos critérios legais aplicáveis ao queijo feito com leite pasteurizado (Tabela 4), bem como no estudo do INSA relativamente à qualidade microbiológica dos

alimentos (Tabela 5). Considerou-se portanto, para uma amostra cujos valores se apresentavam superiores a  $10^3$  ufc/g, uma avaliação insatisfatória (Tabela 8).

**Tabela 8 - Escalonamento de cores dependente da enumeração de *E. coli***

<b>Quantificação de ufc/g</b>	<b>Cor atribuída</b>	<b>Avaliação</b>
> Limite de detecção		Satisfatório
$> 10^2$		Aceitável
$> 10^3$		Insatisfatório
$> 10^4$		
$> 10^5$		
$> 10^6$		
$> 10^7$		

Desta forma, a título de exemplificativo, a Figura 7 mostra como neste estudo os resultados analíticos irão ser apresentados. É de salientar que as cores apresentadas para a mediana dizem respeito ao valor máximo de ufc/g de cada amostra.



**Figura 7 -Exemplo de representação de resultado analítico de uma amostra. █ - Intervalo de ufc de *E.coli* por grama de queijo; ◆ - Valor que melhor representa a amostra expresso em ufc/g de queijo.**

### 3. Resultados e discussão

#### 3.1. Queijos com Denominação de Origem Protegida

Da análise dos dados, relativos à quantificação de *E. coli* nas amostras dos queijos DOP portugueses, foi possível subdividir as amostras em três grupos de acordo com os critérios legais aplicáveis ao queijo produzido com leite pasteurizado (Reg 2073/2005) e, simultaneamente, com os critérios de avaliação efetuada pelo INSA (Santos et al, 2000).

Na Tabela 9 está indicado o número de amostras realizadas para cada tipo de queijo e a respectiva cor representativa do número de ufc/g de queijo contabilizadas (nível de contaminação).

**Tabela 9 – Quantificação de *E. coli* nas amostras dos queijos DOP Portugueses.**

<i>Queijo DOP</i>	<i>Número de Amostras/nível de contaminação</i>		
Rabaçal	2		
Picante da Beira Baixa	2		
Castelo Branco	1		
São Jorge	1		
Cabra Transmontano	1		
Nisa	5	1	
Évora	1	1	
Amarelo da Beira Baixa	1	1	1
Serpa	1		2
Serra da Estrela	1		2
Azeitão	1		5

Para o primeiro grupo de queijos, constituído por 13 amostras de queijo, nomeadamente, Queijo Rabaçal DOP, Queijo Picante da Beira Baixa DOP, Queijo Castelo Branco DOP, Queijo São Jorge DOP, Queijo Cabra Transmontano DOP e Queijo Nisa DOP, verificou-se que a presença de *E. coli* não ultrapassou  $10^2$  ufc/g de queijo. Considera-se, portanto, este grupo de queijos como satisfatório em termos

microbiológicos. Contudo, houve uma exceção, numa das seis amostras de Queijo Nisa DOP que contabilizou  $1,6 \times 10^2$  ufc/g de queijo (Figura 8). No entanto, uma vez que este valor está desfasado de todas as contabilizações, para este tipo de queijo, considera-se que as possíveis causas para este número elevado de bactérias se tenha devido a um procedimento de manuseamento e armazenagem incorrectos, e não devido às características do próprio queijo.

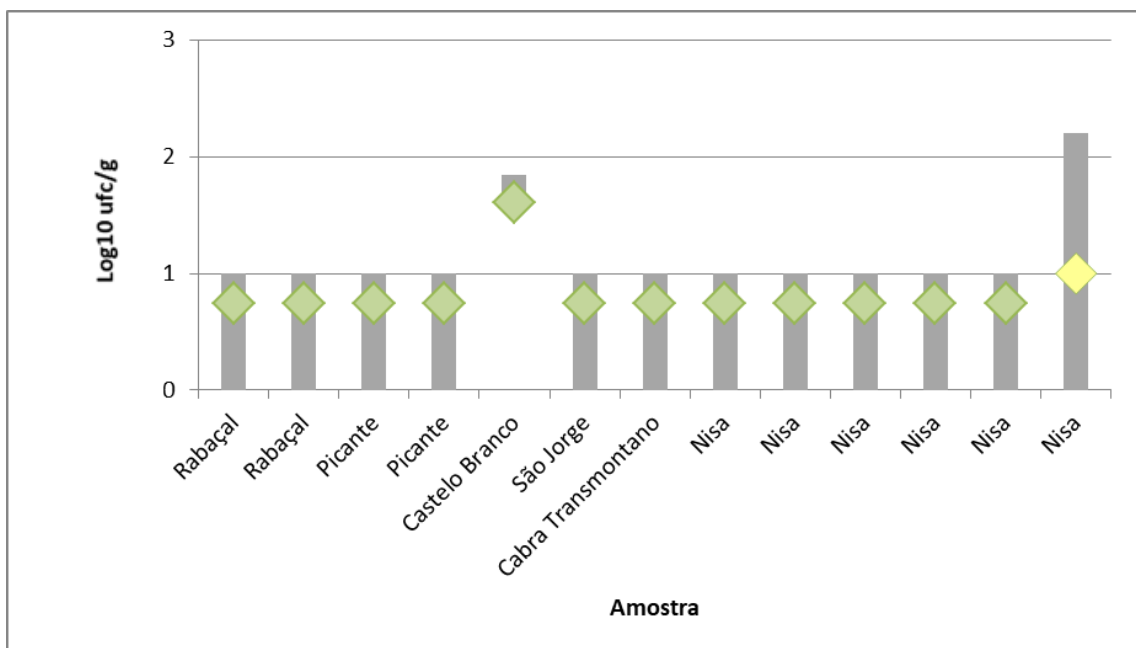


Figura 8 - Quantificação de *E. coli* em queijos DOP Portugueses considerados satisfatórios.

O segundo grupo com cinco amostras, do qual fazem parte o Queijo Évora DOP e Queijo Amarelo da Beira Baixa DOP, apresentaram valores de *E. coli* até  $10^3$  ufc/g de queijo. Exceção feita a uma das três amostras para o Queijo Amarelo da Beira Baixa DOP, que apresentou  $9,6 \times 10^5$  ufc/g de queijo (Figura 9). O desfasamento deste último resultado, em relação aos cinco resultados obtidos para este grupo de queijos é muito elevado, o que pode ser explicado por um possível procedimento incorrecto de higienização da unidade fabril, não se devendo às características do próprio queijo. Contudo, é de referir que este é o grupo do qual se obtiveram menos amostras, pelo que seria necessário uma maior representatividade destas para que a discussão de resultados fosse mais fundamentada. Tendo em conta a avaliação da Tabela 8, este grupo foi considerado como aceitável.

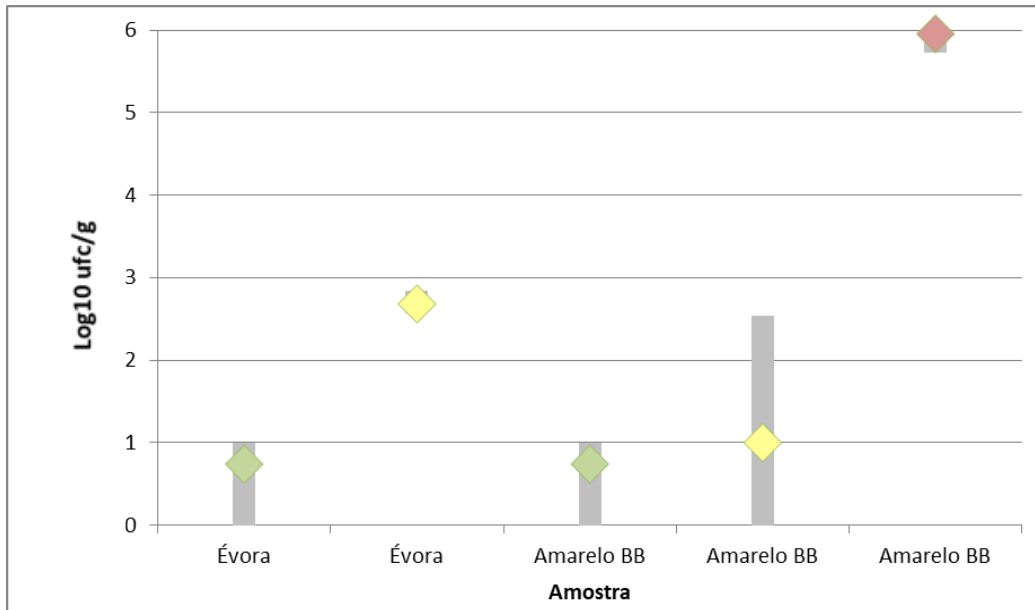


Figura 9 - Quantificação de *E. coli* em queijos DOP Portugueses considerados aceitáveis.

O terceiro e último grupo com 12 amostras, do qual fazem parte o Queijo Serra da Estrela DOP, Queijo Serpa DOP e Queijo Azeitão DOP, apresentaram valores de *E. coli* superiores a  $10^3$  ufc/g de queijo. É de referir ainda que para o queijo de Azeitão, das seis amostras que se analisaram, quatro apresentaram valores acima das  $10^5$  ufc/g de queijo (Figura 10), verificando-se ainda a determinação mais elevada de todos os queijos DOP estudados, com cerca de  $3 \times 10^6$  ufc/g de queijo. Perante estes dados, este grupo de queijos foi considerado, em termos microbiológicos, insatisfatório.

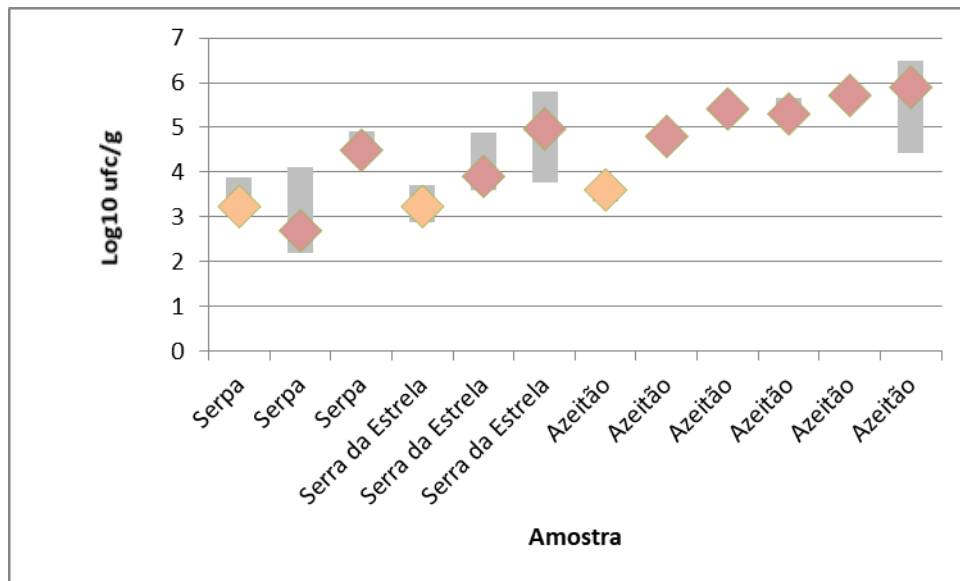


Figura 10 - Quantificação de *E. coli* em queijos DOP Portugueses considerados inaceitáveis

Atendendo aos valores elevados, que se verificaram principalmente para o terceiro grupo de queijos, é possível interpretar os mesmos de acordo com um artigo que refere a *E. coli* como indicador de higiene no processamento de queijos. Refere que durante a formação da coalha, o número de bactérias aumenta aproximadamente 10 vezes, não devido ao seu crescimento, mas devido à concentração de bactérias já presentes no leite (IDF, 2016c). De facto, tendo em conta que o rendimento do leite na produção do queijo é de 10 litros de leite de vaca, 8 litros de leite de cabra e 5,5 litros de leite de ovelha, para se obter 1 quilograma de queijo, é expectável que o número de *E. coli* verificado seja elevado, e que esse número seja, maioritariamente, devido às bactérias já presentes no leite (DGV, 2011).

Tem de se ter em conta, portanto, o limite estabelecido como critério a respeitar pelos operadores que usem leite cru para produção de produtos lácteos. De acordo com a Tabela 3, para o leite cru de vaca o limite de contagem em placas a 30°C (por mL) é de  $\leq 1 \times 10^5$  ufc/mL e para o leite cru de outras espécies de  $\leq 5 \times 10^5$  ufc/mL. De acordo com o estudo acima referido, uma quantidade de bactérias 10 vezes superior ao limite estabelecido para o leite seria de  $1 \times 10^6$  ufc/mL, valor esse ultrapassado em cinco queijos dos 196 analisados no presente estudo (Tabela 10), só para as bactérias *E. coli*.

**Tabela 10 - Número de verificações para cada intervalo de resultado analítico.**

<i>Intervalo de resultado analítico (ufc/g)</i>	<i>Número de verificações</i>
$10^1 - 10^2$	4
$10^2 - 10^3$	28
$10^3 - 10^4$	17
$10^4 - 10^5$	20
$10^5 - 10^6$	13
$10^6 - 10^7$	4
$10^7 - 10^8$	1
<b>Total</b>	<b>196</b>

### 3.1.1. Humidade

A humidade é uma das principais características que mais distingue um queijo, além de ser um fator determinante para o desenvolvimento bacteriano.

Através do caderno de especificações de cada um dos queijos DOP foi possível conhecer a humidade relativa de cada um deles e comparar este parâmetro com o nível de *E. coli* (Tabela 11).

**Tabela 11 – Quantificação de *E. coli* em amostras dos queijos DOP Portugueses e respetiva humidade relativa (%).**

<i>Queijo DOP</i>	<i>Humidade (%)</i>	<i>Número de Amostras/quantificação de <i>E. coli</i></i>	
Rabaçal	52 – 60	2	
Picante da Beira Baixa	49 – 63	2	
Castelo Branco	54 – 69	1	
São Jorge	49 – 63	1	
Cabra Transmontano	25 – 35	1	
Nisa	54 – 63	5	1
Évora	49 – 56	1	1
Amarelo da Beira Baixa	54 – 69	1	1
Serpa	61 – 69	1	2
Serra da Estrela	61 – 69	1	2
Azeitão	61 – 69	1	5

Da análise da Tabela 11 verifica-se claramente uma relação entre as percentagens de humidade e o valor de ufc/g de queijo. Os três queijos que apresentam valores de *E. coli* superiores a  $3 \times 10^6$  ufc/g de queijo têm simultaneamente a mesma humidade, entre 61% a 69%, e a mais elevada comparativamente aos outros queijos analisados. Por outro lado, os queijos que apresentam uma humidade mais reduzida são simultaneamente os que apresentam valores menores, não superiores a  $10^2$  ufc/g de queijo.

Por forma a entender a influência da humidade no desenvolvimento microbiano foi tido em conta um trabalho laboratorial, realizado no âmbito de uma dissertação de mestrado na Universidade de Brasília, no qual foram realizados testes a queijos produzidos com leite cru, verificando-se que a humidade diminuía à medida que o tempo de maturação aumentava. No primeiro dia de maturação verificou-se uma humidade relativa de 60% e ao final de 60 dias de 17%. Adicionalmente, registaram valores máximos na quantificação de *E. coli* ao fim de 20 dias, com 33% de humidade relativa (Santos et al., 2016). Este facto leva a crer, comparando com os resultados do presente trabalho, que existe um teor de humidade para o qual a *E. coli* melhor se desenvolve e que esse desenvolvimento se pode prolongar mesmo depois de alteradas as condições ideais.

### **3.1.2. Teor de sal**

Embora este seja um ingrediente presente em todos os tipos de queijo, verifica-se, pela consulta do caderno de especificações dos queijos DOP, que a concentração exata deste composto não é estabelecida. No entanto, a quantidade deste ingrediente condiciona bastante o desenvolvimento microbiano, como já referido anteriormente, uma vez que influencia diretamente o teor de  $a_w$  presente no próprio queijo.

A Tabela 12 apresenta a quantidade percentual de NaCl de alguns queijos DOP Portugueses (Noronha, ND). Neste estudo, os valores mais elevados de *E. coli* foram atribuídos aos Queijo Serpa DOP, Queijo Serra da Estrela DOP e Queijo Azeitão DOP, correspondendo, como se verifica, a uns dos teores mais baixos de sal. Relativamente

aos restantes queijos, apesar de alguns dos valores não serem conhecidos, verifica-se que na sua grande maioria apresentam teores de sal superiores. Estes resultados demonstram que o teor de sal influencia também o desenvolvimento microbiano, nomeadamente a *E. coli*, estando intimamente ligado ao parâmetro  $a_w$ .

**Tabela 12 - Teor de sal de alguns queijos DOP Portugueses (adaptado Noronha, ND).**

<i>Tipo de Queijo</i>	<i>Sal (%)</i>	<i>Número de Amostras/quantificação de E. coli</i>	
Rabaçal	ND	2	
Picante da Beira Baixa	8,9	2	
Castelo Branco	6,2	1	
São Jorge	ND	1	
Cabra Transmontano	ND	1	
Nisa	4,2	5	1
Évora	4,9	1	1
Amarelo da Beira Baixa	6,2	1	1
Serpa	5,0	1	2
Serra da Estrela	4,7	1	2
Azeitão	4,0	1	5

ND – não determinado.

No entanto, existem exceções no que diz respeito às necessidades de salinidade por parte dos microrganismos. Numa publicação da International Dairy Federation é descrito que *E. coli* O157:H7 produtora da toxina Shiga cresce até 8,5% de concentração de sal em água, sendo moderadamente tolerante ao sal. A concentrações baixas de salinidade, este serotipo consegue mesmo recuperar do stress de uma forma mais rápida graças ao sal (IDF, 2016 d).

### 3.1.3. Maturação

O tempo de maturação é também um parâmetro definido no caderno de especificações de cada tipo de queijo DOP. Na Tabela 13 são apresentados esses tempos por forma a poderem ser comparados com os resultados da contagem de *E. coli* das amostras de queijo.

**Tabela 13 – Quantificação de *E. coli* em amostras dos queijos DOP Portugueses e respetivo tempo de maturação (dias).**

<i>Queijo DOP</i>	<i>Tempo de maturação mínimo (dias)</i>	<i>Número de Amostras/quantificação de E. coli</i>	
Rabaçal	20	2	
Picante da Beira Baixa	120	2	
Castelo Branco	40	1	
São Jorge	90	1	
Cabra Transmontano	60	1	
Nisa	45 a 58	5	1
Évora	30 ou 90	1	1
Amarelo da Beira Baixa	40	1	1
Serpa	30	1	2
Serra da Estrela	20 a 45	1	2
Azeitão	20	1	5

Pela análise da tabela anterior constata-se, claramente, que os níveis de maior contaminação são referentes aos queijos que sofreram um período de maturação inferior a 40 dias. Exceção feita ao queijo Rabaçal, o qual apresentou duas amostras com valores de *E. coli* inferiores a 10 ufc/g de queijo, tendo no entanto um período de maturação de apenas 20 dias. Uma das razões poderá estar relacionada com a humidade presente neste queijo, uma vez que é inferior à humidade de outros queijos com o mesmo tempo de maturação. Este facto confirma que a humidade tem uma maior influência no desenvolvimento microbiano de um queijo, comparativamente ao período de maturação. Contudo, constata-se que, de um modo geral, são raras as grandes cargas microbianas em queijos que sofrem maturações superiores a 50 dias. Pode-se afirmar, portanto, que o tempo de maturação influencia também o desenvolvimento microbiano, nomeadamente no crescimento de *E.coli*.

Estes resultados foram também observados num trabalho realizado com vista ao estudo dos efeitos do tempo de maturação dos queijos de leite cru sobre o desenvolvimento microbiano. Entre outros testes, pesquisou-se a presença de *E. coli*

no leite, cujos valores foram de  $3,31 \times 10^2$  ufc/mL de leite, bem como na massa coagulada a que esse leite deu origem, cujos valores foram de aproximadamente  $3,02 \times 10^3$  ufc/g de massa. O facto das quantidades pesquisadas de *E. coli* terem aumentado cerca de 10 vezes vai de encontro ao referido anteriormente no ponto 3.1., relativamente ao rendimento do leite na produção de queijo. Durante a coagulação dos constituintes do leite são também agregados os microrganismos que se encontram presentes (Cosciani-Cunico et al., 2015). Nesse mesmo estudo, o valor máximo foi verificado ao fim de 20 dias de maturação, com cerca de  $1,55 \times 10^5$  ufc/g de queijo. Comparativamente ao presente estudo, também os queijos que sofreram uma maturação entre os 20 e os 30 dias apresentam resultados semelhantes. A última pesquisa de *E. coli* foi realizada ao fim de 60 dias de maturação, obtendo-se  $1,99 \times 10^2$  ufc/g de queijo. Comparando com o presente estudo, na maioria dos queijos cujo período de maturação ultrapassa os 50 dias, também se verifica um valor semelhante para a pesquisa de *E. coli* (Santos et al., 2016).

#### **3.1.4. Espécie animal da qual provém o leite**

Tentou-se também perceber se a composição da matéria-prima, além dos cuidados de higienização obrigatórios, poderia influenciar o desenvolvimento microbiano com base nas quantidades de componentes presentes, nomeadamente de gordura e proteína, uma vez que estes diferem consoante a espécie da fêmea da qual provem o leite (Tabela 14).

**Tabela 14 - Quantificação de *E. coli* em amostras dos queijos DOP Portugueses e respetiva espécie animal da qual provém o leite.**

<i>Queijo DOP</i>	<i>Espécie animal</i>	<i>Nº de Amostras/quantificação de E. coli</i>	
Rabaçal	Mistura ovina e caprina	2	
Picante da Beira Baixa	Ovina ou Caprina	2	
Castelo Branco	Ovina	1	
São Jorge	Bovina	1	
Cabra Transmontano	Caprina	1	
Nisa	Ovina	5	1
Évora	Ovina	1	1
Amarelo da Beira Baixa	Ovina (Caprina para mistura)	1	1
Serpa	Ovina	1	2
Serra da Estrela	Ovina	1	2
Azeitão	Ovina	1	5

Embora, através da interpretação da tabela anterior, se verifique que os valores de *E. coli* superiores a  $10^4$  ufc/g são apresentados por queijos elaborados com leite de ovelha, existem também queijos produzidos com este tipo de leite que não apresentam um valor de ufc/g de queijo tão elevado. Perante estes dados não é conclusivo que os constituintes do próprio leite, como sejam o teor de gordura, proteína, entre outros, influenciem significativamente o desenvolvimento microbiano.

No entanto, a proporção destes constituintes não é a mesma para os diferentes leites, como foi apresentado anteriormente na Tabela 1. Existem, portanto, leites que poderão apresentar teores mais elevados de gordura e proteína, como acontece no leite de ovelha, e deste modo apresentarem condições mais favoráveis ao desenvolvimento microbiano. Adicionalmente, as condições de produção e o modo de fabrico dos próprios queijos introduzem factores de promoção ao desenvolvimento microbiano, que se sobrepõem aos possíveis efeitos que os componentes da matéria-prima por si só poderiam introduzir.

### 3.2. Queijos não DOP

Como foi referido anteriormente, os dados presentes no PNCA relativos a outros tipos de queijo, que não os DOP, permitem apenas avaliar a higienização do local de fabrico de onde os queijos à venda no mercado provêm tendo, em conta a prevalência de *E. coli*. Na Tabela 15 são apresentados os dados obtidos para os queijos portugueses não DOP depois do seu prévio tratamento.

Tabela 15 - Quantificação de *E. coli*, nos queijos não DOP Portugueses.

<b>Queijo</b>	<b>Número de amostras/ quantificação de <i>E. coli</i></b>				<b>Total</b>
Ovelha	25	14	6	15	60
Cabra	4	1	2	2	9
Cabra e Ovelha	1	1	1	3	6
Cabra Ovelha e Vaca	3	1	1	3	8

Seguidamente vão ser analisados os dados obtidos para cada tipo.

#### 3.2.1. Queijo de Ovelha

Foram analisados 60 queijos de ovelha curados recolhidos no âmbito do PNCA dos anos 2014 a 2016. Embora tenham sido recolhidos outros queijos feitos a partir de leite de ovelha, tais como, queijo de ovelha pimentão, queijo de ovelha colorau, entre outros, apenas os identificados como “Queijos de Ovelha” foram contemplados nesta análise. Pretendeu-se assim evitar possíveis variáveis que poderiam ter influência no desenvolvimento microbiano, como por exemplo, a adição de outros ingredientes, nomeadamente especiarias ou ervas aromáticas.

Da análise do Figura 11 é possível verificar o intervalo entre as quantificações mínimas e máximas obtidas para cada amostra, bem como a mediana, valor que melhor representa a amostra, em ufc/g de queijo.

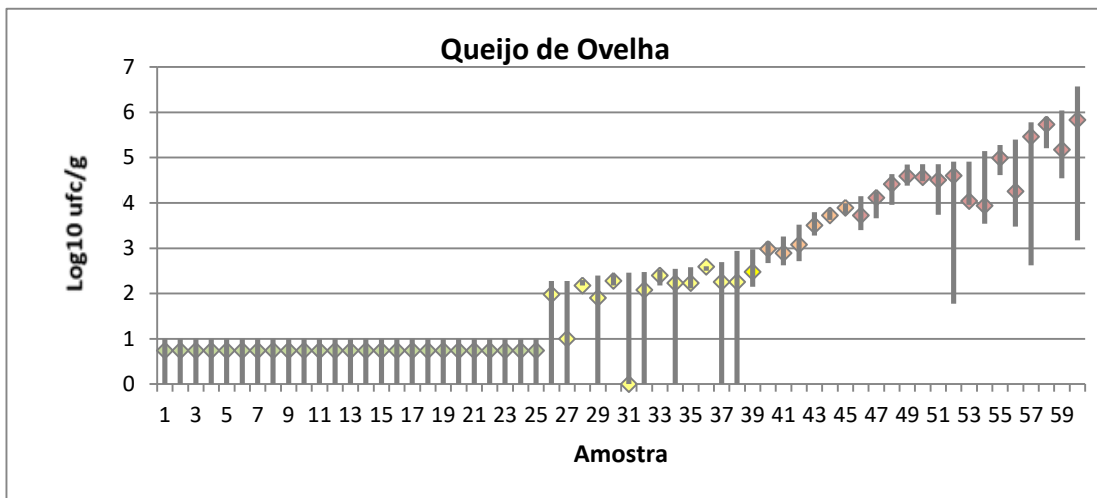


Figura 11 - Quantificação de *E. coli* em queijos de ovelha não DOP Portugueses.

Através da Tabela 15 verifica-se que apenas 25 das amostras analisadas foram satisfatórias, apresentando valores de *E. coli* inferiores a  $10^2$  ufc/g de queijo, enquanto 15 apresentaram valores superiores a  $10^3$  ufc/g de queijo, sendo  $3,7 \times 10^6$  ufc/g a contagem mais elevada, demonstrando a potencialidade deste tipo de queijo para o desenvolvimento microbiano.

Uma vez que o queijo feito através deste tipo de leite é tradicionalmente apreciado e produzido para a obtenção de uma pasta semi-mole a mole e tendo em conta o que foi já analisado, relativamente à influência que a humidade tem no desenvolvimento bacteriano, estes valores eram expectados.

### 3.2.2. Queijo de Cabra

Foram analisados 9 queijos feitos a partir de leite de cabra (Tabela 15), número de amostras demasiado reduzido para fundamentar devidamente as ilações que decorrem dos resultados, no entanto, as contagens refletiram a qualidade de alguns queijos deste tipo presentes no mercado.

Na Figura 12 estão ilustrados os intervalos de contagem das determinações feitas para cada amostra, bem como o valor de ufc/g de queijo que melhor as representa. O valor mais elevado, com cerca de  $1,5 \times 10^6$  ufc/g, apresenta-se bastante acima dos

restantes resultados. Este valor pode sugerir que, além dos factores intrínsecos do próprio queijo que proporcionam condições favoráveis ao crescimento microbiano, outros factores, como a falta de higiene durante a produção, manuseamento ou armazenamento dos queijos, podem também estar na origem desta contaminação tão elevada.

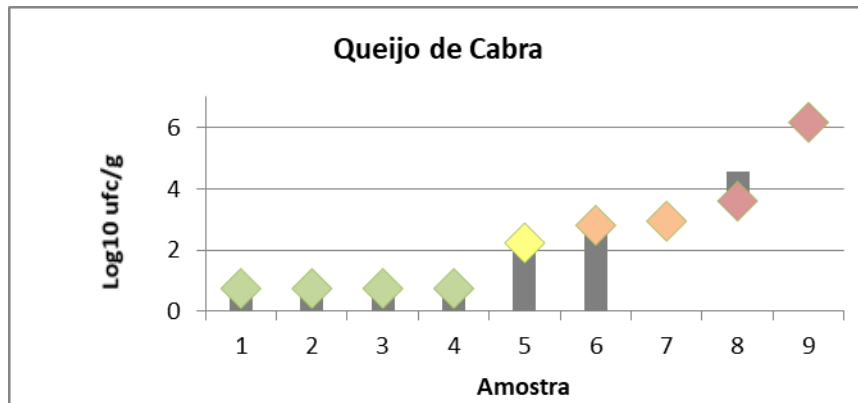


Figura 12 - Quantificação de *E. coli* em queijos de cabra não DOP Portugueses.

### 3.2.3. Queijo de Mistura

#### 3.2.3.1. Queijo de ovelha e cabra

Foram também analisados queijos que resultam da mistura de leites, neste caso provenientes de raças caprina e ovina (Figura 13). Deste tipo de queijo, foram analisadas 6 amostras cujos resultados estão resumidos na Tabela 15. Seria interessante analisar uma maior quantidade de queijos deste tipo uma vez que os resultados demonstraram uma gama muito variada, referente aos valores de *E. coli*, com uma maior incidência a partir de  $10^3$  ufc/g de queijo.

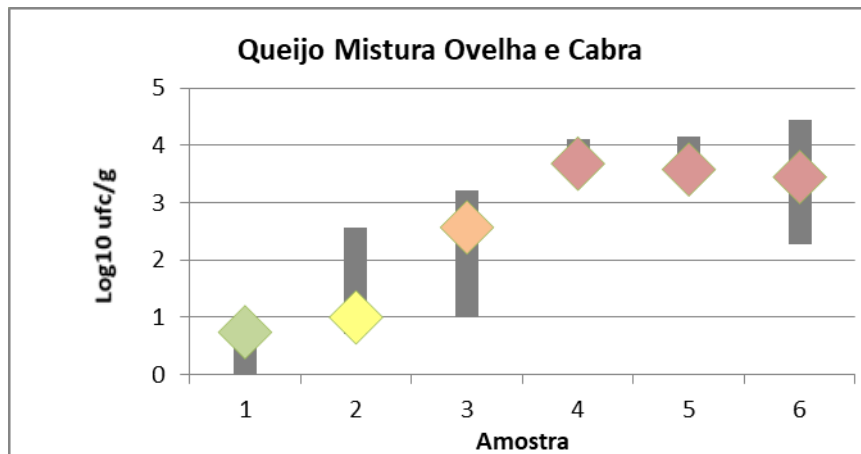


Figura 13 - Quantificação de *E. coli* em queijos de ovelha e cabra não DOP Portugueses.

### 3.2.3.2. Queijo de ovelha, cabra e vaca

Foram analisados oito queijos de mistura feitos com três leites de diferentes espécies, cujos valores obtidos estão presentes na Figura 14. Na Tabela 15 é ilustrada a distribuição das amostras pelos diferentes níveis de contaminação.

Mais uma vez, o número reduzido de amostras não permite retirar ilações devidamente fundamentadas ainda que fique evidente, dados os resultados, que este tipo de queijo proporciona condições bastante favoráveis à proliferação microbiana. Obteve-se, inclusive, um valor para uma das amostras de  $1,4 \times 10^7$  ufc/g de queijo. Este valor, dada a sua grandeza, pode ter-se devido não só às características do próprio queijo, mas também ao nível de higienização do processo de fabrico e armazenagem. O facto de ser produzido com três leites diferentes pode agravar de forma negativa a qualidade higiénica do produto final uma vez que, supondo que os três tipos de leite foram provenientes de três operadores diferentes, bastaria um desses operadores não respeitar as regras de higienização para que o produto final fosse comprometido. De qualquer forma, partindo do pressuposto que os protocolos de Segurança Alimentar são seguidos à risca pelos produtores de leite, por mais pequenos desvios que sejam feitos, um queijo elaborado com os três tipos de leite terá mais hipóteses de acumular erros que irão colocar em causa a sua qualidade alimentar.

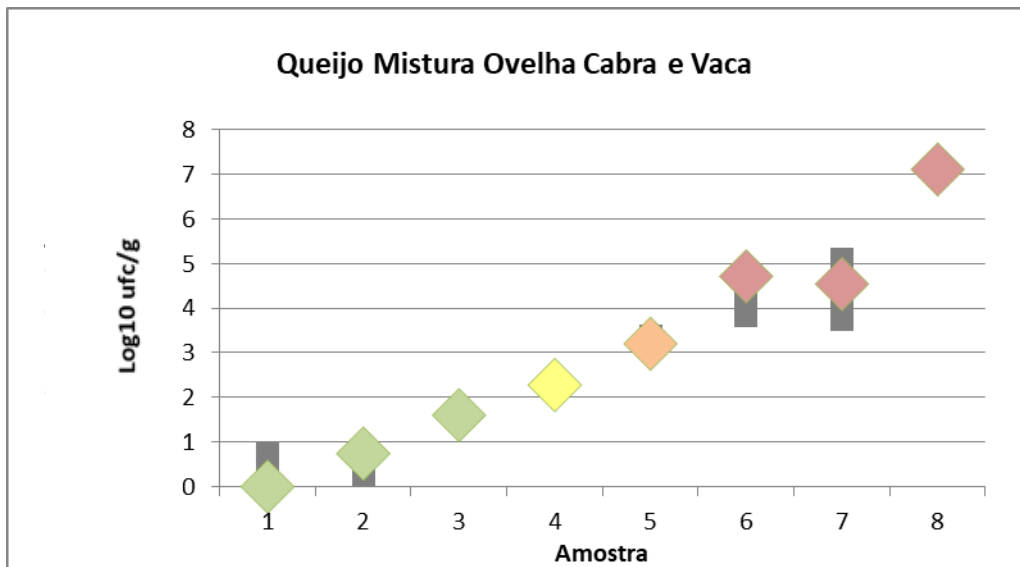


Figura 14 - Quantificação de *E. coli* em queijos de ovelha, cabra e vaca não DOP Portugueses.

#### 3.2.4. Outros tipos de queijo

Foram analisados 58 queijos que apresentavam características distintas, tais como, a inclusão de especiarias ou ervas aromáticas, bem como queijos que não apresentaram informação suficiente para a sua inclusão noutra grupo. Os valores de *E. coli* obtidos nestes queijos podem sofrer influências dessas mesmas características a muitos níveis, uma vez que as condições do desenvolvimento microbiano são afectadas. Torna-se deste modo indispensável que as ervas aromáticas adicionadas, nomeadamente, a salsa, coentros, anis, rosmaninho, erva-doce, sejam tratadas previamente e não transportem microrganismos indesejáveis. Uma vez que essas condições não são conhecidas, neste ponto são apresentados os valores analíticos obtidos para este grupo (Figura 15).

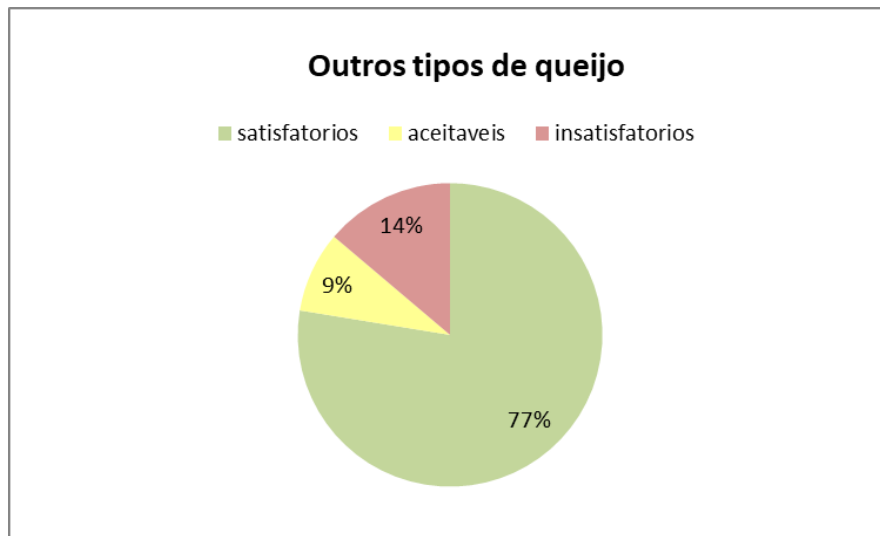


Figura 15 - Quantificação de *E. coli* percentual em queijos de características distintas (grupo "outros tipos de queijo").

Num estudo realizado pela Agência Federal do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos da América (FDA) foram colhidas 1606 amostras de queijos produzidos com leite cru e com 60 dias de maturação. Entre as diversas análises efetuadas neste grupo de queijos incluiu-se a avaliação da presença de *E. coli*. Constituíam violação as determinações que apresentassem valores entre 10 NMP/g e 100 NMP/g caso se verifica-se em três ou mais determinações, das cinco realizadas para a mesma amostra. Os resultados deste estudo indicaram que 5,4% das amostras apresentavam níveis inaceitáveis desta bactéria. Verificou-se, adicionalmente, que dos 42 queijos importados com origem portuguesa, cinco destes apresentavam níveis de *E. coli* reprováveis (FDA, 2016).

### 3.3. Queijos DOP Estrangeiros

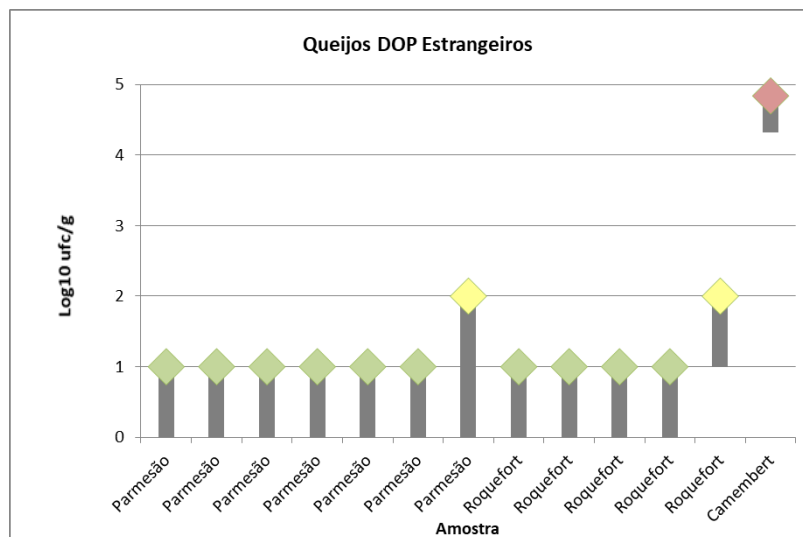
De uma lista de 13 queijos avaliados, fazem parte alguns dos mais conceituados a nível mundial, como o Roquefort, Camembert e Parmesão. Na Tabela 16 apresenta-se o número de amostras realizadas para cada tipo de queijo e a respectiva cor representativa do número de ufc/g de queijo contabilizadas (nível de contaminação). Salienta-se o facto da inclusão de um tipo de queijo não DOP nesta tabela, apenas por questões de mera facilidade na apresentação dos resultados.

**Tabela 16 - Nível de contaminação das amostras dos queijos DOP Estrangeiros por *Escherichia coli*.**

<b>Queijo</b>	<b>Número de amostras/nível de contaminação</b>	
Parmesão DOP	6	1
Roquefort DOP	4	1
Bolores azuis (*)	10	2
Camembert DOP	1	

(\*)- Queijo elaborado com bolores azuis, comumente chamado de Roquefort, mas sem reconhecimento DOP.

Os resultados obtidos (Figura 16 e Figura 17) podem ser interpretados à luz das características referidas no ponto 1.3.5.



**Figura 16 - Quantificação de *E. coli* em queijos DOP Estrangeiros.**

### 3.3.1. Queijo Parmesão

Analisando a Tabela 16, pode-se afirmar que os resultados vão de encontro ao esperado, uma vez que as condições são desfavoráveis ao desenvolvimento microbiano, tais como baixo teor de humidade e elevada acidez.

### 3.3.2. Queijo Roquefort DOP

Para este tipo de queijo o banco de dados PNCA continha um número de amostras significativas, embora sem o reconhecimento DOP. No entanto, a influência das características deste tipo específico de queijo são preponderantes para o

desenvolvimento microbiano. Na Tabela 16 é ilustrada a distribuição das amostras pelos diferentes níveis de contaminação relativas aos queijos tipo Roquefort.

Relativamente aos dados obtidos nas Figura 16 e Figura 17, quer para o queijo Roquefort DOP quer para o queijo de bolores azuis, ambos apresentam uma contagem de *E. coli* que raramente ultrapassa as  $10^2$  ufc/g de queijo. É algo que não surpreende, dadas as características dos próprios queijos referidas anteriormente, das quais se destaca o grande teor de sal e a competição criada pelos próprios bolores. Estas características têm clara influência no desenvolvimento microbiano.



Figura 17 - Quantificação de *E. coli* em queijos de bolores azuis, não DOP.

### 3.3.3. Queijo Camembert DOP

Para este tipo de queijo apenas se avaliou uma amostra, da qual se obteve uma contagem de *E. coli*  $6,90 \times 10^4$  ufc/g de queijo. Dadas as características de pasta mole, com valores de humidade relativa superiores a 67% e ao seu sabor pouco intenso (teores de sal e pH baixos) era expectável um valor elevado para a presença de *E. coli*.

### 3.4. Queijarias

O intuito da análise deste tipo de informação foi perceber se, para a mesma queijaria, os mesmos resultados de enumeração de *E. coli* estava nas amostras de queijos diferentes ou no mesmo tipo de queijo em diferentes anos.

Foi assim elaborada a Tabela 17, onde se teve em conta nove queijarias, de um total de 96, que apresentaram os resultados mais significativos e em que, pelo menos, foram realizadas duas colheitas. Por razões de confidencialidade não é revelada a marca de identificação do operador económico, apenas a região a que a queijaria pertence, o número de verificações efectuadas, o ano dessas verificações e a quantificação de *E. coli* expressa em ufc/g de queijo.

**Tabela 17 – Análises efetuadas às queijarias das diferentes regiões do País.**

Queijaria	Região	Intervalo de contagem (ufc/g)				
		10 <sup>3</sup> a 10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup> a 10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup> a 10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup> a 10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup> a 10 <sup>8</sup>
A	Guarda		1(2014)	1(2014)		
B	Castelo Branco			1(2014)	1(2014)	
C	Castelo Branco		1(2015)	1(2014)		
D	Castelo Branco	1(2014)	2(2014/15)	1(2014)		
E	Évora			1(2015)		1(2015)
F	Évora			1(2014)	1(2014)	
G	Beja		2(2014/15)			
H	Beja	1(2017)	2(2014)			
I	Setúbal	1(2017)		1(2014)		

Apresentação de resultados: nº de análises (ano).

Além de não serem realizadas colheitas todos os anos e em todas as queijarias, estas quando são selecionadas não são notificadas dos resultados menos positivos que se possam vir a encontrar nas amostras, uma vez que o critério aplicado para a presença de *E. coli* nestes queijos é de higiene, e não de segurança. O que se poderá retirar da Tabela 17 é que, ainda que seguindo os protocolos de Segurança Alimentar e cumprindo com os requisitos de higiene, é o tipo de queijo fabricado e o respectivo processo de fabrico que implicam os resultados verificados. Independentemente da

própria queijaria conhecer esses valores elevados de *E. coli* nos seus queijos, os dados apresentados na tabela levam a crer que esse conhecimento não altera em nada os procedimentos realizados, uma vez que se verificam em alguns casos valores dessa ordem de grandeza em anos consecutivos. Esta tendência de permanência destes resultados ao longo dos anos pode indicar que os operadores neste ramo alimentar acreditam que se alterarem os procedimentos até aqui usados, vão comprometer a obtenção da qualidade do seu produto final.

## 4. Actividades complementares realizadas

### 4.1. Autoridade de Segurança Alimentar e Económica

Ao longo dos quatro primeiros meses de estágio, entre Janeiro e Abril foram realizadas tarefas de apoio aos serviços executados pela Divisão de Riscos Alimentares. Uma das tarefas efetuadas mais gratificantes foi o acompanhamento de inspeções, das quais se destacam a visita a dois locais diferentes.

No âmbito de uma operação resultou a apreensão de 170 paletes de carne congelada imprópria para comercialização (Figura 18), tendo-se verificado falhas no cumprimento dos critérios de higiene durante o seu armazenamento.



**Figura 18 - Resíduos encontrados em contacto com a carne embalada.**

No seguimento dessa operação foi solicitado à empresa responsável por esse produto que procedesse à criação de um processo de higienização e limpeza dessa carne, com vista à sua reintrodução no mercado. De modo a verificar os critérios de Higiene e Segurança Alimentar, a ASAE esteve presente nos primeiros dois dias de aplicação desse procedimento para, primeiro, verificar *in loco* os métodos seguidos pela empresa e, segundo, analisar laboratorialmente a qualidade das amostras

recolhidas. Posteriormente, foi validado esse mesmo procedimento por forma a ser aplicado à restante carne apreendida.

Tendo em conta que a matéria apreendida representava uma grande quantidade de géneros alimentícios, toda esta operação foi elaborada por forma a reaproveitar a maior quantidade possível destes alimentos com vista a evitar desperdícios. Com a aprovação do procedimento de higienização, o operador económico ficou responsável pela replicação desse mesmo processo a toda a matéria apreendida. No que diz respeito ao processo de higienização foram criadas duas zonas isoladas. Uma destinada à carne acabada de receber, “zona suja”, e outra destinada à mesma carne depois de higienizada, “zona limpa” (Figura 19). A matéria foi rececionada congelada, embalada a vácuo e armazenada na camara de refrigeração “suja”. Ainda na área “suja” a carne foi selecionada tendo em conta o seu grau de higienização visível seguindo, posteriormente, um de dois destinos: imediata rejeição da matéria-prima (encaminhamento para alimentação animal) caso esta esteja demasiado contaminada, ou, por outro lado, o reaproveitamento para o processo de higienização. Este processo consistiu na limpeza manual da carne embalada com auxílio de toalhetes desinfetantes. Posteriormente, a carne tratada foi encaminhada para a zona “limpa” onde foi armazenada em refrigeração.



Figura 19 - Processo de higienização a decorrer na “zona limpa”.

Os principais critérios de verificação, seguidos pelos elementos da ASAE presentes no local, foram o cumprimento das regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal (Reg. (CE) n<sup>o</sup> 853/2004) e os critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios (Reg. (CE) N<sup>o</sup> 2073/2005).

Outras das inspeções, com o intuito de identificar e apreender carne proveniente de matadouros ilegais foi realizada a dois talhos. Além de muitos incumprimentos verificados nestes estabelecimentos, foram identificadas carnes que não continham informação suficiente para a sua rastreabilidade. O operador económico, em contacto com o fornecedor, conseguiu a informação necessária e posterior rotulagem correta do género alimentício (Reg n<sup>o</sup>1169/2011).

Entre outras tarefas realizadas durante o estágio, procedeu-se ao acompanhamento de diversas actividades executadas nos próprios serviços da Divisão de Riscos Alimentares. Destacam-se o acompanhamento da elaboração de Pareceres Técnicos referentes aos resultados laboratoriais de amostras dos alimentos recolhidos, incluindo a sua rotulagem, no âmbito do controlo oficial levado a cabo pela ASAE, na participação da elaboração do “Relatório Anual de Actividades 2016” da Divisão de

Riscos Alimentares, na participação da avaliação de conformidade das candidaturas de operadores económicos ao “Programa Operacional de Apoio às Pessoas Mais Carenciadas” (PO APMC), nomeadamente da conformidade das fichas técnicas dos géneros alimentícios relativamente aos requisitos estabelecidos pelo programa. Direcionado para os operadores económicos e consumidores foram adicionalmente elaborados com o apoio da DGAV, DGC e INIAV, entre outras entidades, folhetos informativos sobre o uso, manuseamento e armazenamento de carne picada. Estes folhetos foram publicados a 20 de Março de 2017, estando disponíveis no *website* da ASAE.

Ao longo do estágio nesta autoridade foi também dado acompanhamento à elaboração de respostas a dúvidas das Associações ou de particulares sobre a interpretação da legislação alimentar em vigor. Houve a oportunidade de estar presente em diversos workshops e congressos dos quais se destacam: “6º Congresso da Indústria Portuguesa Agro-Alimentar”, promovido pela Federação das Industrias Portuguesas Agro-Alimentares, onde foram abordados os principais desafios que se colocam à indústria nacional, em eixos como o mercado global, os desafios dos consumidores, a inovação e a transformação digital; “Higiene Alimentar na Produção Primária de Leite”, promovido pela Direção Geral de Alimentação e Veterinária; “ADN não humano, Um novo desafio?”, promovido pelo Laboratório da Polícia Científica, da Polícia Judiciária; sessão pública de apresentação dos resultados do “Inquérito Alimentar Nacional e de Atividade Física” (IAN-AF), na Fundação Calouste Gulbenkian, envolvendo investigadores nacionais e internacionais de nove instituições, tendo como promotor a Faculdade de Medicina da Universidade do Porto; “Portugal Saudável – Alimentação e Estilos de Vida”, na Fundação Champalimaud, onde foram apresentados os principais resultados da atividade desenvolvida em 2016, por parte da Missão Continente. Através da promoção de debates com oradores de vários quadrantes da sociedade, foi discutida a importância de uma alimentação e estilos de vida saudável.

#### 4.2. Direcção Geral de Alimentação e Veterinária

Nos meses de Maio e Junho, últimos dois meses de estágio, foram realizadas tarefas de apoio aos serviços prestados na Direcção Geral de Alimentação e Veterinária, nomeadamente na Divisão de Controlo da Cadeia Alimentar. Durante este período de estágio, umas das principais funções desempenhadas foi a participação na elaboração da revista “À Mesa: 100 Mitos” (Figura 20). Este trabalho foi publicado e divulgado na 54ª Feira Nacional de Agricultura, nos dias 14 e 15 de Junho, em Santarém. Em colaboração com entidades como a Direcção Geral da Agricultura e Desenvolvimento Rural, Direcção Geral do Consumidor, entre outras, criou-se uma revista direccionada a operadores económicos e a consumidores com o objectivo de esclarecer, com base legal e técnica, diversas questões do sector alimentar que ao longo dos anos, devido ao crescente conhecimento da cultura gastronómica, se tornaram verdadeiras crenças e convicções, muitas vezes sem fundamento científico, técnico ou legal.

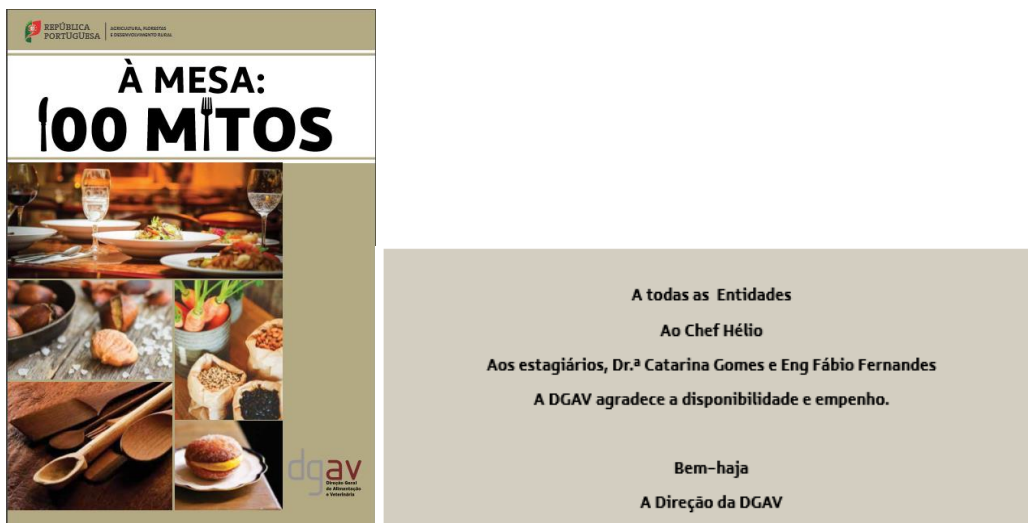


Figura 20 - Capa e excerto de agradecimentos, da revista “À Mesa: 100 Mitos”

Foram também realizadas tarefas de apoio aos serviços prestados pela DGAV como o tratamento de dados relativos às questões mais frequentes (FAQs), no sentido de perceber quais os temas que suscitam maiores dúvidas aos operadores económicos, por forma a criar no website da DGAV uma plataforma relativa a esses temas, direccionada a operadores e consumidores, para um maior esclarecimento. Adicionalmente foi dado acompanhamento na elaboração de respostas a dúvidas das

Associações ou de particulares sobre a interpretação da legislação alimentar em vigor (à semelhança do realizado na ASAE).

Ao longo do estágio nesta autoridade foi também possível a presença em diversos seminários e formações das quais se destacam: “Certificação Alimentar e Comunicação”, promovido pela ÉS Segurança. Esta ação contou com a experiência de diversos profissionais do setor, dando-se a conhecer as Normas FSSC 22000, ISO 22000, British Retail Consortium e International Featured Standards e esclareceram-se questões através de casos práticos; “Rotulagem de Origem do Leite”, promovido pela Associação Nacional dos Industriais de Lacticínios (ANIL) e com colaboração da DGAV; “Rotulagem e Datas de Validade dos Alimentos”, promovido pelo Banco Alimentar Contra a Fome e pela Entrajuda – apoio a instituições de solidariedade social (IPSS).

No seguimento deste último seminário, deu-se início à elaboração de uma nova publicação, por parte da DGAV, direccionada a operadores das IPSS, como forma de esclarecimento e interpretação correta da legislação em vigor, em torno da higiene alimentar. Uma vez terminado o período de estágio não foi possível a continuação do desenvolvimento desta revista, ficando no entanto a vontade de total cooperação e de o ver concluído numa colaboração futura.



Figura 21 – Protótipo da capa da revista “Doação de Alimentos Seguros”

## 5. Conclusões

Dos parâmetros discutidos, todos dizem respeito às características dos próprios queijos e à forma de como estas viabilizam o crescimento microbiológico. No entanto, independentemente do tipo de queijo, a higiene do processo de fabrico é possivelmente o primeiro ponto fulcral e decisivo que, caso mal efectuado, contribui bastante para a proliferação dos microrganismos indesejáveis no queijo.

Pode-se afirmar que a qualidade do leite, nos seus múltiplos aspectos, é o fator que mais pode influenciar as características e a qualidade do queijo de leite cru. Também o domínio das diferentes fases de fabrico e dos factores que as condicionam são cruciais para a definição das qualidades do queijo. Destaca-se a condução da coagulação, do dessoramento e da cura.

Apesar de existirem diferenças geográficas que condicionam o clima e vegetação, os Queijo Serra da Estrela DOP, Queijo Serpa DOP e Queijo Azeitão DOP são bastante semelhantes. Todos são produzidos a partir de leite de ovelha Bordaleira, sendo este coagulado com extracto vegetal de cardo. Uma vez que o seu teor de gordura, humidade e até mesmo o processo de maturação são semelhantes, é provável que se verifiquem valores elevados de *E. coli* nestes três tipos de queijo, uma vez que as condições para o seu desenvolvimento são favoráveis. Os queijos com maior actividade da água apresentam uma maior tendência para se deteriorarem ou para suportarem o crescimento de bactérias patogénicas uma vez que, quanto a este aspecto, constituem um meio de cultivo mais favorável para os microrganismos do que os queijos com actividade da água mais baixa.

A única maneira de se conseguir obter no produto final os factores de tipicidade mais ligados à origem e à tradição, é ultrapassando as limitações tecnológicas e melhorando a qualidade da matéria-prima. Ainda assim, como verificado, existem determinados tipos de queijo cujas características apenas se conseguem obter com processos de fabrico específicos, sujeitos a contaminações e proliferações microbianas,

nomeadamente da bactéria *E. coli*. Tomando como exemplo as derrogações feitas às tabuas de madeira e uso de palha, só deste modo se garante a continuidade desta cultura gastronómica milenar, que oferece sabores e aromas únicos, funcionando como proteção a este setor.

No entanto, apesar dos fatores de riqueza e diversidade conseguidas pelos processos artesanais, os aspectos de Segurança Alimentar não podem deixar de ser considerados. Dados os resultados obtidos terem revelado uma quantificação elevada em muitos dos queijos avaliados, faria todo o sentido existir um critério legal de higiene de processos para os queijos elaborados com leite cru, muito à semelhança dos critérios em vigor para os queijos elaborados com leite pasteurizado, ou as natas e manteigas elaboradas com leite cru. A presença da *E. coli*, enquanto indicador de contaminação fecal, alertando para a potencial presença de patogénicos, demonstra claramente falta de higiene no fabrico, uma vez que o leite é um alimento naturalmente isento desta bactéria. Seria também essencial, caso se verificassem valores elevados de *E. coli*, que as entidades notificassem as queijarias, com o intuito de melhorarem os seus procedimentos de higienização e colocarem a saúde humana em primeiro lugar, tentando ao mesmo tempo não afetar significativamente as propriedades sensoriais e nutritivas características do produto final.

## 6. Referências Bibliográficas

**Alves, M.M., R.B. Martins, A. Raymundo & M. Barbosa (2003).** Queijo de Cabra Transmontano. Aprofundamento da caracterização do leite de cabra Serrana, ecotipo transmontano e respectivo Queijo DOP - Caracterização Preliminar do Queijo. Acta do 6º Encontro de Química de Alimentos. Lisboa. 22-25.

**APPNA:** Agrupamento Produtores Pecuários Norte Alentejo. (ND). Caderno de especificações Queijo Nisa DOP. Disponível em: <https://tradicional.dgadr.gov.pt/>.

**APQDCB:** Associação de Produtores de Queijo do Distrito de Castelo Branco (2016). Queijos da Beira Baixa DOP. Caderno de Especificações. P. 1-26. Disponível em: <https://tradicional.dgadr.gov.pt/>.

**ARCOLSA:** Associação Regional de Criadores de Ovinos Leiteiros da Serra da Arrábida. (ND). Caderno de especificações Queijo de Azeitão DOP. Disponível em: <https://tradicional.dgadr.gov.pt/>.

**ASAE (2016)** Plano Nacional de Colheita de Amostras 2015, Documento de trabalho. Divisão de Riscos Alimentares, Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (ASAE), Lisboa.

**ASAE (2017)** Autoridade de Segurança Alimentar e Económica. Consulta em julho de 2017 em <http://www.asae.gov.pt/>.

**Baião, A. (2007).** Acompanhamento do Processo de Fabrico do Queijo Serpa. Relatório de trabalho de fim de licenciatura em Engenharia Técnica Alimentar. Escola Superior Agrária - Instituto Politécnico de Beja. Beja. 30 pp.

**Batista, P., Venâncio, A. (2003).** Forvisão – Consultoria em Formação Integrada. Os Perigos para a Segurança Alimentar no Processamento de Alimentos. 1ª Edição. Guimarães.

**Brule, G. e Lenoir, J. (1987).** A coagulação do leite. In O Queijo (A. Eck coord., ed.) Vol. 1. Publicações Europa - América, Mem Martins.

**CA:** Codex Alimentarius (2011). Milk and Milk Products, second edition. World Health Organization, Rome.

**COE:** Cooperativa Ovina de Évora. (ND). Produtos Tradicionais Portugueses. Caderno de especificações Queijo de Évora DOP. Disponível em: <https://tradicional.dgadr.gov.pt>.

**Collins, J. D., and Wall, P. G. (2004).** Food safety and animal production systems: controlling zoonoses at farm level. Rev Sci Tech, 23: 685-700.

**Cosciani-Cunico, E., Dalzini, E., Ducoli, S., Sfameni, C., Bertasi, B., Losio, M., Daminelli, P. E Varisco, G. (2015).** Behaviour of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 during the cheese making of traditional raw-milk cheeses from Italian Alps. Italian Journal of Food Safety Vol 4, No 3.

**CPLCS:** Cooperativa de Produtores de Leite de Cabra Serrana. (ND). Caderno de especificações Queijo de Cabra Transmontano. Disponível em: <https://tradicional.dgadr.gov.pt/>.

**CPQR:** Cooperativa de Produtores do Queijo do Rabaçal. (ND). Caderno de especificações Queijo Rabaçal DOP. Disponível em: <https://tradicional.dgadr.gov.pt/>.

**CPQSE:** Cooperativa dos Produtores de Queijo Serra da Estrela (2009). Caderno de especificações Queijo Serra da Estrela DOP. Disponível em: <https://tradicional.dgadr.gov.pt/>.

**Decreto-Lei n.º 194/2012**, D.R. n.º 163, Série I de 2012-08-23.

**Despacho n.º 25484/2009**, Diário da República, 2.ª série — N.º 226 de 20 de Novembro de 2009.

**DGAV:** Direção Geral de Alimentação e Veterinária. Consulta em Junho de 2017, disponível em: <http://www.dgv.min-agricultura.pt/>.

**DGV:** Direção Geral de Veterinária (2011). ProDer: Programa de Desenvolvimento Rural, O Rendimento do Leite na Produção de Queijos, disponível em: <http://www.proder.pt/>.

**Dias, V., R. Faustino, A. R. Chiché, A. (2008).** Fabrico de Queijo. Disciplina Tecnologia de Leites do curso Engenharia Alimentar. Escola Superior Agrária – Instituto Politécnico de Beja.

**Farrokh, C., Jordan, K., Glass, K., Oppegaard, H., Raynaud, S., Thevenot, D., Condron, R., Reu, D., Govaris, A., Heggum, K., Heyndrickx, M., Hummerjohann, J., Lindsay, D., Mischczycha, S., Moussiegt, S., Verstraete, K., Cerf, O. (2013).** Review of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and their significance in dairy production. *Int. J. Food Microbiology*, 162: 190-212.

**FDA:** U. S. Food & Drug Administration (2016). Raw Milk Cheese Aged 60 Days. Microbiological Sampling Assignment, Summary Report. Center for Food Safety and Applied Nutrition.

**Ferreira, W. C. e Sousa, J. C., 2002.** Microbiologia – Volume 3, Lidel.

**Fox**, P. F. and P. L. H. McSweeney (1998). Dairy Chemistry and Biochemistry. Department of Food Chemistry.

**Fox**, P. F.; Guinne, T. P.; Cogan, T. M.; McSweeney, P. L. H. (2000). Fundamentals of cheese science. Gaithersburg: Aspen Publishers, Inc.

**Freitas**, C., Malcata, F.X. (2000). Our Industry Today. Microbiology and biochemistry of cheeses with appellation d'origine protegée and manufactured in the Iberian Peninsula from ovine and caprine milks. Journal of Dairy Science 83:584-602.

**Gomes**, P. A. (2011). Evolução das características físico-químicas e da maturação em Queijo Amarelo e Queijo Picante da Beira Baixa DOP: - Composição, fracções azotadas e ácidos gordos livres. Universidade Técnica de Lisboa.

**IDF**: International Dairy Federation, (2016a). Raw Milk Cheeses. IDF Factsheet – December 2016. Disponível em: <https://www.fil-idf.org/>.

**IDF**: International Dairy Federation, (2016b). Use of Wood in cheese ripening. IDF Factsheet - November 2016. Disponível em: <http://www.fil-idf.org/>.

**IDF**: International Dairy Federation, (2016c). *Escherichia coli* as indicator in cheese processing. Factsheet – Decembre 2016. Disponível em: <https://www.fil-idf.org/>.

**IDF**: International Dairy Federation, (2016d). The Importance of salt in the manufacture and ripening of cheese. Factsheet. Disponível em: <https://www.fil-idf.org/>.

**INE**: Instituto Nacional de Estatística (2016). Estatísticas da Produção e Consumo de Leite 2015. Lisboa.

**Kornacki**, J., Gurtler, J. and Stawick, B. (2015). Enterobacteriaceae, Coliforms, and Escherichia coli as Quality and Safety Indicators, Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 5th edition. Eds. Y. Salfinger and M.L. Tortorello. Ch. 9. American Public Health Association, Washington DC.

**Martins**, A. P. L. e Vasconcelos, M. M. (2004). A Qualidade do Queijo Fabricado com Leite Cru, Efeitos dos Principais Fatores Tecnológicos. Revista da Sociedade Portuguesa de Pastagens e Forragens, volume 24/25 p. 15-33.

**Milling**, A., Kehr R, Wulf A, Smalla K. (2005). Survival of bacteria on wood and plastic particles: Dependence on wood species and Environmental conditions. Holzforschung 59 (1): 72-81.

**Montel**, M. C., Buchin, S., Mallet, A., Delbes-Paus, C., Vuitton, D. A., Desmasures, N., and Berthier, F. (2014). Traditional cheeses: rich and diverse microbiota with associated benefits. Int J Food Microbiol, 177:136-54.

**Nájera**, A. L., Barrón, L. J., e Barcina, Y. (1993). Revisión: comparación de la fracción lipídica del queso de vaca, oveja y cabra, y la influencia sobre su calidad. Revista Española de Ciencia y Tecnología de los Alimentos 334, 345-363.

**Noronha**, J. F. (ND). Manual de Segurança Alimentar de Queijos Tradicionais.

**Nunes**, F. (2004). Leite mecanismos de produção. FENALAC, Federação Nacional das Cooperativas de Produtores de Leite, Vila do Conde.

**Ordóñez**, J. A., Rodríguez, M. I., Álvares, L. F., Sanz, M. L., Minguillón, G. D., Perales, L., Cortecero, M. D. (2005). Tecnologia de Alimentos volume 2. Alimentos de Origem Animal, Artmed editora S. A., Porto Alegre.

**Pinho, O. & Ferreira, I. M. P. L. V. O.** (2006). Queijo, um alimento para todas as idades. Entre o queijo tradicional e os novos alimentos funcionais, 10-11.

**PNCA,** (2017). Relatório Anual 2016 Plano Nacional de Colheita de Amostras, elaborado em Abril de 2017, Divisão de Riscos Alimentares, Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (ASAE), Lisboa.

**Portaria nº 73/90** (1990). Dia 1 de Fevereiro, Diário da República nº 27– I Série. p.436-438.

**QAP:** QUEIJOSERPA - Agrupamento Produtores, Lda. (ND). Caderno de especificações Queijo da Serpa DOP. Disponível em: <https://tradicional.dgadr.gov.pt/>.

**QSA:** Quali.pt – Segurança Alimentar (ND), Qualidade Microbiológica dos Alimentos, consulta em Setembro de 2017, disponível em: <http://www.quali.pt/seguranca-alimentar/209-qualidade-microbiologica-alimentos>.

**Rebello, A. G.** (1994). Queijaria Racional: realidade dos nossos queijos tradicionais. Ministério da Agricultura.301pp. Lisboa.

**Regulamento (CE) nº 1169/2011** de 25 de Outubro de 2011. JO L 304 de 22.11.2011.

**Regulamento (CE) nº 1308/2013** de 17 de Dezembro de 2013. JO L 347 de 20.12.2013.

**Regulamento (CE) nº 178/2002** de 28 de Janeiro de 2002. JO L 31 de 1.2.2002.

**Regulamento (CE) nº 2073/2005** de 15 de Novembro de 2005. JO L 338 de 22.12.2005.

**Regulamento (CE) nº 852/2004** de 29 de Abril de 2004. JO L 139 de 30.4.2004.

**Regulamento (CE) nº 853/2004** de 29 de Abril de 2004. JO L 226 de 25.6.2004.

**Regulamento (CE) nº 882/2004** de 29 de Abril de 2004. JO L 191 de 28.5.2004.

**Reis, P. J. M. e Malcata, F. X. (2007).** Improvements in small scale artisanal cheese making via a novel mechanized apparatus. *Journal of Food Engineering* 82, 11-16.

**Reis, P. M., Domingos, T. D., Freitas, A. C., Macedo, A. C., Trigueiros, J. J. B. J. e Malcata, F. X., (ND).** Produção, por Tecnologias Optimizadas, de Lacticínios Tradicionais certificados. Universidade Católica Portuguesa - Escola Superior de Biotecnologia.

**Reis, P. M., Domingos, T. D., Freitas, A. C., Macedo, Â. C., Trigueiros, J. B., Malcata, F. X., (ND),** Produção, por Tecnologias Optimizadas, de Laticínios Tradicionais Certificados, Universidade Católica de Lisboa.

**Roberts, A., Baird-Parker, A., Tompkin, R. (1996).** Microorganisms in foods. ICMSF: microbial specifications of food pathogens. London: Blackie Academic & Professional.

**Tamime, A. Y., & Marshall, V. M. E. (1997).** Microbiology and technology of Fermented Milks. *Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk*. 2 edn, pp. 57-152, London.

**Sá, V., F. e Barbosa, M. (1990).** O leite e os seus Produtos. Nova Coleção Técnica Agrária, 5ª ED., Clássica Editora, Lisboa.

**Santos, A. J. P. (2016).** Efeitos do período de maturação de queijos sobre a microbiota deteriorante e *Listeria monocytogenes* Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 36 p. Dissertação de Mestrado.

**Santos, M. I., Correia, C., Cunha, I. C, Saraiva, M. M., Novais, M. R. (2000).** Valores Guia para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos a comer preparados

em estabelecimentos de restauração. INSA: Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge; CSAN: Centro de Segurança Alimentar e Nutrição. Lisboa.

**SIPACE:** Sistema de Informação do Plano de Aprovação e Controlo dos Estabelecimentos. Disponível em: <https://sipace.dgv.min-agricultura.pt/>.

**UCALSJ:** União das Cooperativas Agrícolas de Lacticínios de S. Jorge. (ND). Caderno de especificações Queijo São Jorge DOP. Disponível em: <https://tradicional.dgadr.gov.pt/>.

## Anexo I – Amostras presentes no PNCA

Número e tipo de amostras presentes no Plano Nacional de Colheita de Amostras usado:

<i>Tipo de queijo</i>	<i>Nº de amostras</i>	<i>Tipo de queijo</i>	<i>Nº de amostras</i>
3 Queijos para gratinar ralados	1	Queijo cabra curado	9
DOP Camembert	1	Queijo cabra ovelha curado	6
DOP Fromaggi parmigiano reggiano	1	Queijo cabra ovelha vaca	1
DOP Grana Padano	1	Queijo cabra ovelha vaca curado	7
DOP Queijo amarelo da Beira Baixa	2	Queijo cabra pasta mole	1
DOP Queijo Azeitão	4	Queijo Camembert	2
DOP Queijo curado ovelha	2	Queijo Camembert Pequeno	1
DOP Queijo de pasta mole	1	Queijo curado	1
DOP Queijo Galbani	1	Queijo de Selle sur Cher	1
DOP Queijo Nisa	1	Queijo francês	1
DOP Queijo Nisa prado reserva	1	Queijo Gruyère curado	1
DOP Queijo ovelha curado Évora	1	Queijo ibérico cunha	1
DOP Queijo ovelha curado Nisa	2	Queijo Ilha	2
DOP Queijo ovelha curado Serpa	1	Queijo Ilha curado	1
DOP Queijo ovelha Serpa	1	Queijo Ilha ralado	1
DOP Queijo parmigiano reggiano cunha	1	Queijo italiano meio gordo	1
DOP Queijo parmigiano reggiano ralado	2	Queijo Mothais sur feulle	1
DOP Queijo picante Beira Baixa	1	Queijo Mozzarella ralado	1
DOP Queijo rabaçal de ovelha e cabra	1	Queijo ovelha	2
DOP Queijo Roquefort	1	Queijo ovelha curado	60
DOP Queijo Roquefort bio	1	Queijo ovelha curado Alcains	1
DOP Queijo Serra da Estrela	2	Queijo ovelha curado Alentejo	1
Pedaços de queijo	1	Queijo ovelha curado artesanal	1
Pedaços de queijo de ovelha curado	1	Queijo ovelha curado pimentão	4
Peti Camembert Marie Harel bio	1	Queijo ovelha curado seco	1
Petit reblochon	1	Queijo ovelha curado seco colorau	1
Queijo amanteigado	1	Queijo ovelha gordo	1
Queijo Mont D'Or	1	Queijo ovelha vaca curado	3
Queijo amanteigado cabra curado	1	Queijo ovelha velho escuro	1
Queijo amanteigado ovelha	1	Queijo parmesão italiano	1
Queijo amanteigado ovelha serrano	1	Queijo petit reblochon	1
Queijo azul	1	Queijo Tipo Roquefort	12
Queijo azul de ovelha	1	Queijo Saint-Marcellin IGP	2
Queijo bolores curado	1	Queijo Serra da Estrela	1
Queijo Brie	1	Queijo suíço vaca	1
Queijo cabra	1	Queijo bolores curado	1

## Anexo II – Tratamento de dados

Tratamento de valores analíticos do grupo de queijos DOP Portugueses (adaptado):

Amostra	1	2	3	4	5	Valor mínimo	Valor máximo	Média amostra
1	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
2	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
3	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
4	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
5	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
6	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
7	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
8	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
9	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
10	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
11	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
12	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
13	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
14	4,00E+01	4,00E+01	4,00E+01	7,00E+01	5,00E+01	4,00E+01	7,00E+01	4,00E+01
15	1,60E+02	1,00E+00	1,00E+00	1,00E+01	1,00E+01	1,00E+00	1,60E+02	1,00E+01
16	3,40E+02	1,00E+00	1,00E+01	1,00E+00	1,00E+01	1,00E+00	3,40E+02	1,00E+01
17	4,80E+02	6,20E+02	3,70E+02	4,40E+02	7,00E+02	3,70E+02	7,00E+02	4,80E+02
18	4,80E+03	2,70E+03	4,00E+03	4,30E+03	2,10E+03	2,10E+03	4,80E+03	4,00E+03
19	1,70E+03	5,00E+03	2,20E+03	9,70E+02	7,50E+02	7,50E+02	5,00E+03	1,70E+03
20	1,70E+03	1,20E+03	1,70E+03	1,40E+03	7,80E+03	1,20E+03	7,80E+03	1,70E+03
21	1,50E+02	1,30E+04	5,40E+02	4,30E+02	4,90E+02	1,50E+02	1,30E+04	4,90E+02
22	7,80E+03	7,50E+04	8,00E+03	3,80E+03	1,30E+04	3,80E+03	7,50E+04	8,00E+03
23	8,00E+04	3,70E+04	3,70E+04	6,30E+04	6,70E+04	3,70E+04	8,00E+04	6,30E+04
24	6,30E+04	2,60E+04	2,90E+04	8,00E+04	3,10E+04	2,60E+04	8,00E+04	3,10E+04
25	2,80E+05	2,40E+05	1,90E+05	2,60E+05	2,80E+05	1,90E+05	2,80E+05	2,60E+05
26	1,50E+05	4,50E+05	3,50E+05	1,50E+05	2,00E+05	1,50E+05	4,50E+05	2,00E+05
27	5,80E+03	9,30E+04	6,20E+05	8,50E+04	5,50E+05	5,80E+03	6,20E+05	9,30E+04
28	4,80E+05	3,70E+05	5,80E+05	6,50E+05	5,20E+05	3,70E+05	6,50E+05	5,20E+05
29	9,60E+05	5,30E+05	8,70E+05	9,00E+05	9,30E+05	5,30E+05	9,60E+05	9,00E+05
30	3,00E+06	4,90E+04	1,40E+06	7,90E+05	2,70E+04	2,70E+04	3,00E+06	7,90E+05

Tratamento de valores analíticos do grupo de queijos de ovelha não DOP (adaptado):

Amostra	1	2	3	4	5	Valor mínimo	Valor máximo	Média amostra
1	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
2	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
3	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
4	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
5	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
6	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
7	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
8	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
9	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
10	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
11	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
12	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
13	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
14	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
15	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
16	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
17	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
18	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
19	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
20	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00

21	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	<b>1,00E+01</b>	5,50E+00
22	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	<b>1,00E+01</b>	5,50E+00
23	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	<b>1,00E+01</b>	5,50E+00
24	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	<b>1,00E+01</b>	5,50E+00
25	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	<b>1,00E+01</b>	5,50E+00
26	1,90E+02	1,00E+00				1,00E+00	<b>1,90E+02</b>	9,55E+01
27	1,00E+01	1,00E+00	1,90E+02			1,00E+00	<b>1,90E+02</b>	1,00E+01
28	2,00E+02	1,50E+02	1,80E+02	1,50E+02	1,50E+02	1,50E+02	<b>2,00E+02</b>	1,50E+02
29	8,00E+01	2,40E+02	2,50E+02	1,00E+00	1,00E+00	1,00E+00	<b>2,50E+02</b>	8,00E+01
30	1,90E+02	1,50E+02	2,70E+02	1,80E+02	2,30E+02	1,50E+02	<b>2,70E+02</b>	1,90E+02
31	1,00E+00	1,00E+01	2,90E+02	1,00E+00	1,00E+00	1,00E+00	<b>2,90E+02</b>	1,00E+00
32	1,20E+02	2,70E+02	1,20E+02	1,00E+00	3,00E+02	1,00E+00	<b>3,00E+02</b>	1,20E+02
33	2,50E+02	2,60E+02	1,50E+02	3,40E+02	2,30E+02	1,50E+02	<b>3,40E+02</b>	2,50E+02
34	1,00E+00	2,20E+02	3,50E+02	1,60E+02	1,70E+02	1,00E+00	<b>3,50E+02</b>	1,70E+02
35	1,70E+02	1,70E+02	1,80E+02	3,80E+02	1,30E+02	1,30E+02	<b>3,80E+02</b>	1,70E+02
36	3,20E+02	4,00E+02	3,60E+02	4,00E+02	3,90E+02	3,20E+02	<b>4,00E+02</b>	3,90E+02
37	1,00E+00	1,80E+02	3,10E+02	1,00E+00	4,90E+02	1,00E+00	<b>4,90E+02</b>	1,80E+02
38	5,00E+02	1,00E+00	1,80E+02	8,70E+02	1,00E+00	1,00E+00	<b>8,70E+02</b>	1,80E+02
39	9,40E+02	2,20E+02	5,00E+02	1,40E+02	3,00E+02	1,40E+02	<b>9,40E+02</b>	3,00E+02
40	9,60E+02	4,70E+02	7,20E+02	1,40E+03	1,20E+03	4,70E+02	<b>1,40E+03</b>	9,60E+02
41	7,80E+02	1,80E+03	1,80E+03	6,50E+02	4,20E+02	4,20E+02	<b>1,80E+03</b>	7,80E+02
42	5,20E+02	2,80E+03	1,20E+03	1,00E+03	3,30E+03	5,20E+02	<b>3,30E+03</b>	1,20E+03
43	4,30E+03	2,10E+03	3,20E+03	1,90E+03	6,20E+03	1,90E+03	<b>6,20E+03</b>	3,20E+03
44	4,20E+03	6,00E+03	4,50E+03	5,30E+03	7,20E+03	4,20E+03	<b>7,20E+03</b>	5,30E+03
45	5,60E+03	7,80E+03	9,80E+03	7,40E+03	8,10E+03	5,60E+03	<b>9,80E+03</b>	7,80E+03
46	8,50E+03	2,50E+03	5,30E+03	3,90E+03	1,40E+04	2,50E+03	<b>1,40E+04</b>	5,30E+03
47	1,30E+04	1,60E+04	1,80E+04	4,60E+03	8,70E+03	4,60E+03	<b>1,80E+04</b>	1,30E+04
48	3,00E+04	4,30E+04	9,00E+03	2,60E+04	1,60E+04	9,00E+03	<b>4,30E+04</b>	2,60E+04
49	3,10E+04	2,40E+04	7,00E+04	3,90E+04	6,20E+04	2,40E+04	<b>7,00E+04</b>	3,90E+04
50	7,10E+04	3,70E+04	3,10E+04	3,80E+04	3,00E+04	3,00E+04	<b>7,10E+04</b>	3,70E+04
51	5,50E+03	3,20E+04	2,80E+04	3,90E+04	7,20E+04	5,50E+03	<b>7,20E+04</b>	3,20E+04
52	8,10E+04	4,00E+04	4,20E+04	6,00E+01	8,00E+01	6,00E+01	<b>8,10E+04</b>	4,00E+04
53	1,10E+04	1,10E+04	2,90E+04	8,20E+04	9,00E+03	9,00E+03	<b>8,20E+04</b>	1,10E+04
54	2,30E+04	3,50E+03	1,40E+05	8,40E+03	8,70E+03	3,50E+03	<b>1,40E+05</b>	8,70E+03
55	1,90E+05	9,70E+04	9,80E+04	4,10E+04	1,60E+05	4,10E+04	<b>1,90E+05</b>	9,80E+04
56	3,00E+03	2,50E+05	4,70E+03	1,80E+04	1,60E+05	3,00E+03	<b>2,50E+05</b>	1,80E+04
57	6,00E+05	4,20E+02	2,90E+05	1,40E+03	2,90E+05	4,20E+02	<b>6,00E+05</b>	2,90E+05
58	1,60E+05	5,40E+05	1,80E+05	6,60E+05	8,00E+05	1,60E+05	<b>8,00E+05</b>	5,40E+05
59	4,00E+05	1,10E+06	1,50E+05	4,90E+04	3,50E+04	3,50E+04	<b>1,10E+06</b>	1,50E+05
60	3,40E+06	3,70E+06	1,50E+03	1,60E+03	6,80E+05	1,50E+03	<b>3,70E+06</b>	6,80E+05

Tratamento de valores analíticos do grupo de queijos de cabra não DOP (adaptado):

Amostra	1	2	3	4	5	Valor mínimo	Valor máximo	Média amostra
1	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	<b>1,00E+01</b>	5,50E+00
2	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	<b>1,00E+01</b>	5,50E+00
3	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	<b>1,00E+01</b>	5,50E+00
4	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	<b>1,00E+01</b>	5,50E+00
5	1,00E+01	1,00E+00	1,70E+02	1,80E+02	1,70E+02	1,00E+00	<b>1,80E+02</b>	1,70E+02
6	1,00E+00	1,20E+03	6,40E+02	1,60E+02	9,60E+02	1,00E+00	<b>1,20E+03</b>	6,40E+02
7	7,50E+02	1,10E+03	6,30E+02	8,80E+02	1,70E+03	6,30E+02	<b>1,70E+03</b>	8,80E+02
8	2,60E+03	4,00E+03	5,40E+03	3,70E+04	3,00E+03	2,60E+03	<b>3,70E+04</b>	4,00E+03
9	1,50E+06					1,50E+06	<b>1,50E+06</b>	1,50E+06

Tratamento de valores analíticos do grupo de queijos de ovelha e cabra não DOP (adaptado):

Amostra	1	2	3	4	5	Valor mínimo	Valor máximo	Média amostra
1	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
2	1,00E+01	1,00E+01	2,50E+02	5,00E+00	3,60E+02	5,00E+00	<b>3,60E+02</b>	1,00E+01
3	2,50E+02	1,00E+01	1,60E+03	5,50E+02	3,70E+02	1,00E+01	1,60E+03	3,70E+02

4	4,20E+03	4,80E+03	2,80E+03	5,40E+03	1,30E+04	2,80E+03	1,30E+04	4,80E+03
5	1,40E+04	6,30E+03	2,50E+03	3,80E+03	3,00E+03	2,50E+03	1,40E+04	3,80E+03
6	1,20E+04	2,70E+04	1,90E+02	2,80E+03	2,50E+03	1,90E+02	2,70E+04	2,80E+03

Tratamento de valores analíticos do grupo de queijos de ovelha, cabra e vaca não DOP (adaptado):

Amostra	1	2	3	4	5	Valor mínimo	Valor máximo	Média amostra
1	1,00E+01	1,00E+00	1,00E+00	1,00E+00	1,00E+00	1,00E+00	1,00E+01	1,00E+00
2	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
3	4,00E+01	4,00E+01	4,00E+01	4,00E+01	4,00E+01	4,00E+01	4,00E+01	4,00E+01
4	1,90E+02	2,20E+02	2,10E+02	1,90E+02	1,70E+02	1,70E+02	2,20E+02	1,90E+02
5	4,30E+03	4,10E+03	1,50E+03	7,60E+02	1,60E+03	7,60E+02	4,30E+03	1,60E+03
6	1,10E+05	7,30E+04	3,00E+04	3,80E+03	5,20E+04	3,80E+03	1,10E+05	5,20E+04
7	2,30E+05	6,20E+03	3,10E+03	1,60E+05	3,50E+04	3,10E+03	2,30E+05	3,50E+04
8	1,40E+07	1,30E+07	1,30E+07	1,20E+07	1,40E+07	1,20E+07	1,40E+07	1,30E+07

Tratamento de valores analíticos do grupo de outros queijos (adaptado):

Amostra	1	2	3	4	5	Valor mínimo	Valor máximo	Média amostra
1	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
2	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
3	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
4	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
5	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
6	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
7	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
8	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
9	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
10	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
11	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
12	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
13	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
14	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
15	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
16	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
17	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
18	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
19	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
20	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
21	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
22	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
23	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
24	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
25	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
26	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
27	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
28	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
29	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
30	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
31	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
32	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
33	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
34	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
35	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
36	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
37	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
38	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
39	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
40	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
41	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
42	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
43	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
44	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00

**Escherichia coli em queijos produzidos com leite cru**

45	4,00E+01	2,00E+01	1,00E+01	1,00E+00	4,00E+01	1,00E+00	<b>4,00E+01</b>	2,00E+01
46	1,00E+00	1,00E+01	1,80E+02	1,00E+00	1,00E+01	1,00E+00	<b>1,80E+02</b>	1,00E+01
47	2,00E+02	3,20E+02	1,50E+02	1,20E+02	1,50E+02	1,20E+02	<b>3,20E+02</b>	1,50E+02
48	1,00E+02	2,00E+02	1,00E+02	4,20E+02	2,50E+02	1,00E+02	<b>4,20E+02</b>	2,00E+02
49	2,80E+02	2,50E+02	1,60E+02	4,50E+02	1,50E+02	1,50E+02	<b>4,50E+02</b>	2,50E+02
50	2,50E+02	3,30E+02	7,90E+02	5,30E+02	5,50E+02	2,50E+02	<b>7,90E+02</b>	5,30E+02
51	3,00E+02	5,30E+02	2,00E+02	1,40E+03	2,50E+02	2,00E+02	<b>1,40E+03</b>	3,00E+02
52	3,00E+02	7,00E+01	2,90E+03	1,20E+03	1,10E+02	7,00E+01	<b>2,90E+03</b>	3,00E+02
53	3,20E+03	4,90E+03	2,50E+03	2,80E+03	2,80E+03	2,50E+03	<b>4,90E+03</b>	2,80E+03
54	4,90E+03	5,80E+03	5,90E+03	6,50E+03	3,90E+03	3,90E+03	<b>6,50E+03</b>	5,80E+03
55	1,30E+04	3,00E+03	3,00E+03	2,00E+03	7,60E+03	2,00E+03	<b>1,30E+04</b>	3,00E+03
56	4,70E+03	3,70E+04	1,70E+03	2,10E+03	1,70E+03	1,70E+03	<b>3,70E+04</b>	2,10E+03
57	9,10E+04	2,40E+04	6,30E+03	7,00E+03	1,50E+04	6,30E+03	<b>9,10E+04</b>	1,50E+04
58	1,60E+05	1,60E+05	1,90E+03	1,30E+05	1,80E+05	1,90E+03	<b>1,80E+05</b>	1,60E+05

Tratamento de valores analíticos do grupo de queijos DOP Estrangeiros (adaptado):

Amostra	1	2	3	4	5	Valor mínimo	Valor máximo	Média amostra
1	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
2	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
3	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
4	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
5	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
6	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
7	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
8	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
9	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
10	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
11	4,00E+01	4,00E+01	1,00E+01	1,00E+01	1,00E+02	1,00E+01	1,00E+02	4,00E+01
12	1,00E+00	1,00E+01	1,00E+00	1,00E+01	1,00E+02	1,00E+00	1,00E+02	1,00E+01
13	4,90E+04	2,10E+04	6,90E+04	6,50E+04	3,10E+04	2,10E+04	6,90E+04	4,90E+04

Tratamento de valores analíticos do grupo de queijos de bolores azuis (adaptado):

Amostra	1	2	3	4	5	Valor mínimo	Valor máximo	Média amostra
1	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
2	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
3	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
4	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
5	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
6	1,00E+01	1,00E+00				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
7	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
8	1,00E+00	1,00E+01				1,00E+00	1,00E+01	5,50E+00
9	1,00E+00	1,00E+01	4,00E+01	1,00E+00	1,00E+01	1,00E+00	4,00E+01	1,00E+01
10	1,00E+00	4,00E+01	1,00E+01	4,00E+01	1,00E+00	1,00E+00	4,00E+01	1,00E+01
11	2,00E+02	1,10E+02	1,00E+00	1,00E+01	1,00E+00	1,00E+00	2,00E+02	1,00E+01
12	4,00E+01	3,50E+02	1,00E+01	1,00E+00	1,00E+01	1,00E+00	3,50E+02	1,00E+01