

DOI: 10.31416/rsdv.v12i1.690

Qualidade do leite cru refrigerado para a na produção de Queijo Artesanal Serrano (QAS) do RS: um estudo de caso

Quality of refrigerated raw milk for the production of Serrano Artisanal Cheese (SAC) in RS: a case study

STRÖHER, Jeferson Aloísio. Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Universidade Estadual do Rio Grande do Sul - Campus Encantado. R. Alegrete, 801, bairro Lambari - Encantado - RS - Brasil. CEP: 95.960-000 / Telefone: (51) 3751.3376 / E-mail: jeferson-stroher@uergs.edu.br

DOS SANTOS JR., Luís Carlos. Doutor em Engenharia de Alimentos

Universidade Federal de Santa Catarina - Florianópolis. R. Eng. Agrônomo Andrei Cristian Ferreira, S/N, bairro Trindade - Florianópolis - SC - Brasil. CEP: 88.040-900/ Telefone: (51) 3751.3376 / E-mail: luisc.oliveirajr@gmail.com

CEOLIN, Lilian Varini. Mestre em Ambiente e Sustentabilidade

Universidade Estadual do Rio Grande do Sul - Campus São Francisco de Paula. R. Assis Brasil, 842, bairro Centro - São Francisco de Paula - RS - Brasil. CEP: 95.400-000 / Telefone: (54) 3244.2912 / E-mail: lilaceolin@gmail.com

SANT'ANNA, Voltaire. Doutor em Engenharia Química

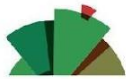
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul - Campus Encantado. Rua Alegrete, 801, bairro Lambari - Encantado - RS - Brasil. CEP: 95.960-000 / Telefone: (51) 3751.3376 / E-mail: voltaire-santanna@uergs.edu.br

PADILHA, ROSIELE LAPPE. Doutora em Biologia Celular e Molecular

Universidade Estadual do Rio Grande do Sul - Campus Encantado. Rua Alegrete, 801, bairro Lambari - Encantado - RS - Brasil. CEP: 95.960-000 / Telefone: (51) 3751.3376 / E-mail: rosiele-padilha@uergs.edu.br

RESUMO

O presente trabalho aborda sobre a qualidade do leite cru refrigerado para a produção do Queijo Artesanal Serrano (QAS) com identidade e qualidade oriunda da região dos Campos de Cima da Serra, norte do Estado do Rio Grande do Sul (RS). O leite contém uma variedade de micro-organismos endógenos apresentando as características deste tipo de queijo, podendo ser benéfico ou patogênico, caso não haja ações higiênicas em seu processo. Desta forma, foi selecionada uma propriedade que produz QAS no município de São Francisco de Paula (RS), para acompanhar a ordenha ininterrupta dos animais e após, coletar amostras de leite cru refrigerado a fim de analisá-lo. As análises incluíram a contagem de células somáticas (CCS), contagem padrão em placas (CPP), caseína, cinzas, gordura, lactose, proteína, sólidos não gordurosos (SNG), sólidos totais (ST) e ureia, acidez, densidade, estabilidade ao alizarol, índice crioscópico, pH, sendo analisado também proteômica. Os resultados revelam um alto nível de conformidade à legislação brasileira, exceto para o teor de lactose do leite ($4,22 \pm 0,02$ g/100g), estando inferior à legislação que é $\geq 4,3$ g/100 g. No entanto, na análise proteômica, foram detectadas três espécies de micro-organismos causadores de mastite no leite (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Stenotrophomonas maltophilia*), que podem levar à contaminação do QAS produzido na propriedade. Portanto, a identificação destes contaminantes e a aplicação de ações corretivas imediatas na propriedade tornam-se indispensáveis para a fabricação de um QAS de qualidade, visto que, um leite de má qualidade, pode afetar e interferir nos atributos característicos deste tipo de queijo.



Palavras-chave: Qualidade do leite. Queijo Artesanal Serrano. Análises físico-químicas. Análises microbiológicas.

ABSTRACT

The present work deals with the quality of raw chilled milk for the production of Serrano Artisanal Cheese (SAC) with identity and quality from the Campos de Cima da Serra region, north of the state of Rio Grande do Sul (RS). Milk contains a variety of endogenous microorganisms presenting the characteristics of this type of cheese, which can be beneficial or pathogenic if there are no hygienic actions in its process. Thus, a farm that produces SAC in the municipality of São Francisco de Paula (RS) was selected to monitor the uninterrupted milking of the animals and, after that, to collect samples of refrigerated raw milk in order to analyze it. The analyses included somatic cell count (SCC), standard plate count (SPC), casein, ash, fat, lactose, protein, solids-non-fat (SNG), total solids (ST) and urea, acidity, density, alizarol stability, cryoscopic index, pH, and also proteomic analysis. The results reveal a high level of compliance to the Brazilian legislation, except for the lactose content of the milk (4.22 ± 0.02 g/100g), being lower than the legislation that is ≥ 4.3 g/100 g. However, in the proteomic analysis, three species of microorganisms causing mastitis in milk were detected (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Stenotrophomonas maltophilia*), which can lead to the contamination of the QAS produced on the farm. Therefore, the identification of these contaminants and the application of immediate corrective actions on the farm become indispensable for the manufacture of a quality QAS, since poor quality milk can affect and interfere with the characteristic attributes of this type of cheese.

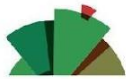
Keywords: Milk quality. Serrano Artisanal Cheese. Physicochemical analysis. Microbiological analysis.

Introdução

O leite é o produto obtido pela ordenha de vacas sadias, sob condições de higiene, estando sob condições de bem-estar animal (BRASIL, 2018a). Desta forma, ele é composto por uma mistura de elementos sólidos em água, representando cerca de 12 a 13% do leite, enquanto a água representa cerca de 87% do total. Entre os principais elementos sólidos do leite estão os lipídios (gordura), carboidratos, proteínas, sais minerais e vitaminas. A distribuição e interação desses elementos são cruciais para a estrutura, propriedades funcionais e aptidão do leite para processamento. Segundo EMBRAPA (2023), as características físicas dos produtos lácteos, como estrutura e cor, são predominantemente determinadas pelas micelas de caseína e pelos glóbulos de gordura.

Uma ordenha higiênica é fundamental para manter a qualidade do leite obtido, seja ele manual ou mecanizado. Durante a ordenha, é fundamental assegurar uma higiene pessoal adequada, além de manter uma limpeza constante nas instalações e equipamentos utilizados, pois a falta de higiene pode levar a alterações na composição do leite, uma vez que aumenta a quantidade de bactérias presentes, muitas das quais patogênicas, prejudicando a qualidade do leite e dos produtos lácteos derivados (TRONCO, 2008).

Araújo et al. (2015) descrevem que um leite de boa qualidade deve possuir seus atributos físico-químicos, sensoriais e microbiológicos em acordo com a legislação brasileira vigente (BRASIL, 2018a), e não possuindo conservantes químicos, micro-organismos contaminantes e resíduos de antibióticos. Portanto, o controle de qualidade do leite é de suma relevância na produção de derivados lácteos, como o Queijo Artesanal Serrano (QAS), pois, um leite de qualidade assegura que os derivados fabricados a partir deste leite possuam as suas características originais por muito tempo. Devido ao QAS ser produzido a partir de leite sem tratamento térmico (pasteurização), os cuidados



com a qualidade do leite devem ser intensificados através das boas práticas agropecuárias (BPA) na propriedade.

A composição da microbiota do leite pode variar devido a diversos fatores, incluindo fatores internos e externos, e pode incluir micro-organismos benéficos, deteriorantes ou patogênicos para a saúde humana. A microbiota típica do leite bovino é heterogênea e composta principalmente por bactérias produtoras de ácido lático (BAL) dos gêneros *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* e *Enterococcus*, assim como por bactérias psicotróficas como *Pseudomonas*, *Acinetobacter* e *Aeromonas*. Métodos de análise microbiológica mais recentes identificam a presença dos gêneros bacterianos anaeróbicos, como *Bacteroides*, *Faecalibacterium*, *Prevotella* e *Catenibacterium*, em leite cru refrigerado, indicando possível contaminação fecal (MÜLLER et al., 2023; TILOCCA et al., 2020). Taponen et al. (2019) encontraram grande diversidade em suas amostras de leite, enquanto Parente et al. (2020) relataram a presença de 25 gêneros diferentes, incluindo micro-organismos benéficos e bactérias comuns à microbiota intestinal e úberes de animais. No entanto, a falta de procedimentos operacionais padrão e de um banco de dados estruturado dificultam comparar dados entre estudos microbiológicos do leite.

Conforme Ferrocino et al. (2021), a microbiota predominante em produtos lácteos é composta por *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* e *Streptococcus*. Embora em quantidades menores, também podem ser encontrados micro-organismos patogênicos, cuja presença pode estar relacionada à saúde dos animais e ao ambiente em que são criados.

O QAS é um produto maturado, fabricado em microqueijarias localizadas nas propriedades de origem do leite, sendo produzido a partir de leite cru integral e logo após a ordenha de animais saudáveis, utilizando coalhos industriais para a coagulação enzimática. Essa produção segue a tradição histórica e cultural da região delimitada denominada de Campos de Cima da Serra (PACHOUD; COY et al., 2017). Assim, o QAS é categorizado como um queijo semigordo, com teor de umidade médio, conforme as especificações do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) para queijos (RIO GRANDE DO SUL, 2014).

Conforme destacado por Ambrosini (2007), a comercialização do QAS desempenha um papel significativo no sustento econômico das propriedades, contribuindo com uma parcela substancial, variando de 10% a 60% da renda gerada, ressaltando a relevância socioeconômica e ambiental desse produto na região. Uma vez que o QAS é elaborado a partir do leite de vacas de corte ou mestiças que se alimentam de pastagens nativas da região, a preservação do ambiente torna-se crucial para os produtores. Essa região está localizada no Planalto Sul-Brasileiro, especialmente nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. A qualidade do produto final é influenciada por diversos fatores, incluindo o manejo e a dieta oferecida aos animais durante o ano. Moloney et al. (2008) destaca que a diversidade botânica na pastagem é essencial para a obtenção de queijos de qualidade, devido à contribuição de altos níveis de ácidos graxos e antioxidantes benéficos para a saúde humana. Essa constatação reforça a importância da biodiversidade vegetal na produção de queijos de alta qualidade.

A fabricação do QAS segue uma tradição secular, sem grandes modificações, passado de geração em geração. A região dos Campos de Cima da Serra-RS abriga cerca de 1.500 produtores de



QAS, com uma produção estimada de 700 toneladas por ano (AMBROSINI, 2007; RIES et al., 2012). No entanto, segundo Pachoud; Coy et al. (2017), a magnitude desse número pode ser ampliada devido à falta de formalização das propriedades produtoras. A produção de leite para fabricação do QAS é afetada pelas condições climáticas da região, sendo menor no inverno, produzindo em torno de 8,8 L/animal em comparação ao verão que é em média 9,2 L/animal, devido à escassez de pastagens. O QAS é vendido diretamente pelos produtores em suas propriedades para conhecidos e turistas, ou por intermediários que revendem em centros urbanos maiores (PACHOUD; COY et al., 2017).

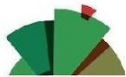
Visando controlar a contaminação do leite cru refrigerado, que serve como base para produzir o QAS, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) emitiu a instrução normativa (IN) n.º 76 (BRASIL, 2018a), que rege os padrões físico-químicos e microbiológicos que o leite cru refrigerado deve dispor. Dessa forma, o presente trabalho teve por objetivo fazer a avaliação físico-química e microbiológica do leite cru refrigerado de uma propriedade de QAS na região dos Campos de Cima da Serra-RS, quanto aos parâmetros exigidos na legislação vigente.

Material e métodos

As amostras de leite cru refrigerado foram coletadas de uma queijaria produtora de QAS no município de São Francisco de Paula (RS), sendo acompanhadas as rotinas da propriedade de um dia de produção do leite e da fabricação do QAS, a ordenha dos animais e posteriormente coletadas seis amostras, contendo 45 mL cada de leite cru refrigerado para as análises físico-químicas e microbiológicas para a sua realização em laboratório externo credenciado da Rede Brasileira de Qualidade do leite (RBQL) (Unianálises - Lajeado, RS, Brasil), quanto a contagem de células somáticas (CCS), contagem padrão em placas (CPP), gordura, proteína, lactose anidra, sólidos não gordurosos (SNG), sólidos totais (ST), caseína e a análise de ureia conforme protocolo oficial constante na IN n.º 77 (BRASIL, 2018b).

Outras duas amostras de leite, contendo 2 L para os ensaios físico-químicos *in loco* de acidez titulável, estabilidade ao alizarol 72%, densidade relativa e índice crioscópico, conforme Brasil (2006; 2018a). A detecção de resíduos de antibióticos foi realizada através dos kits comerciais da marca Bioeasy®, para os grupos das tetraciclinas, sulfonamidas, fluoroquinolonas, betalactâmicos, cefalexina e quinolonas, realizadas em um laboratório físico-químico de uma indústria de laticínios da Serra Gaúcha-RS.

Também foram coletadas três amostras de leite cru refrigerado (45 mL cada) para a identificação proteômica pela técnica MALDI-TOF-MS que foi realizada pelo laboratório Qualileite da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (Pirassununga, SP, Brasil), conforme metodologia descrita por Barcelos et al. (2019). Todas as análises foram realizadas em triplicata e calculadas a sua média \pm desvio padrão. Portanto, a estratégia de investigação utilizada neste trabalho foi descritiva, aplicando as abordagens qualitativa e quantitativa.



O total de leite produzido no dia do acompanhamento foi 70 L, proveniente de 17 animais das raças de cruzamentos de bovinos de corte, incluindo Jersey, Gir mestiço, Girolando e Holandês em lactação na propriedade, possuindo uma média de 4,11 L/animal/dia.

Resultados e discussão

A Tabela 1 apresenta os resultados das análises físico-químicas e microbiológicas do leite cru refrigerado da propriedade estudada conforme padrões mínimos e máximos da legislação brasileira (BRASIL, 2018a).

Tabela 1 - Resultados dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos em leite cru considerando os seus limites mínimos e máximos conforme a IN n.º 76 (BRASIL, 2018a).

Análises	Resultado	Limite Mín.	Limite Máx.
Acidez (g de ácido láctico/100 mL)	0,16 ± 0,01	0,14	0,18
Caseína (g/100 g) **	2,9 ± 0,01	-	-
CCS (CS/mL)	341.000 ± 24	-	500.000
Cinzas (%) **	0,71 ± 0,01	-	-
CPP UFC/mL	8.000 ± 0,01	-	300.000
Densidade (g/mL)	1,0315 ± 0,01	1,028	1,034
Estabilidade ao alizarol 72 (%)	Estável 74 ± 0,01	72	-
Gordura (g/100 g)	3,87 ± 0,04	3	-
Índice crioscópico (°H)	0,530 ± 0,01	-0,555	-0,530
Lactose anidra (g/100 g)	4,22 ± 0,02	4,3	-
pH**	6,76 ± 0,01	-	-
Proteína (g/100 g)	3,42 ± 0,01	2,9	-
SNG (g/100 g)	8,88 ± 0,01	8,4	-
ST (g/100 g)	12,78 ± 0,02	11,4	-
Ureia (g/100 g) **	11,14 ± 0,01	-	-
Deteção de antibióticos	Negativo	Negativo	
Identificação de microrganismos (MALDI-TOF-MS)	<i>Enterococcus faecalis</i> ; <i>Staphylococcus saprophyticus</i> e <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>		

Fonte: Autores (2022).

A acidez do leite foi de 0,16 ± 0,01 g de ácido láctico/100 mL, estando consoante às diretrizes estabelecidas pela legislação brasileira (BRASIL, 2018a), compreendida entre 0,14 e 0,18 g de ácido láctico/100 mL. Tronco (2008) afirma que o teste de acidez do leite revela o aumento do ácido láctico em virtude da fermentação da lactose pelas bactérias mesófilas. Molina et al. (2015) identificaram que 13 amostras de leite cru refrigerado em seu experimento estavam em desacordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2018a), associadas à alta contagem de CCS no leite, corroborando, Júnior et al.



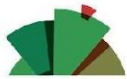
(2013) que verificaram que de 40 amostras de leite cru refrigerado estiveram inconformes e isto deve-se às bactérias deteriorantes do leite, que degradam a lactose do leite produzindo ácido láctico e aumentando o valor da acidez do leite. Os achados de Arbello et al. (2021) indicaram que 7 amostras do total avaliadas estiveram inconformes na análise de acidez, oscilando em valores abaixo e acima do padrão, apontando para falhas nas boas práticas ou um tempo elevado no armazenamento do leite no tanque de resfriamento.

O conteúdo de caseína no leite cru registrou um valor de $2,90 \pm 0,01$ g/100 g, abaixo do observado por Guimarães et al. (2020) que registraram uma média de 3,24 g/100 g para a caseína no leite cru refrigerado. Visto isso, Brasil et al. (2015) citam que as caseínas são os constituintes do leite de maior importância para a indústria, ao conferirem propriedades sensoriais, nutricionais e textura em queijos e derivados. Um leite com uma baixa caseína igualmente aumenta o tempo de coagulação do leite reduzindo também o seu rendimento, ocorrendo uma desvantagem na produção de QAS (AULDIST; HUBBLE, 1998; GIGANTE; COSTA, 2008).

A análise da amostra de leite revelou uma CCS de 341.000 ± 24 CS/mL, indicando um resultado consoante ao máximo estabelecido pela legislação, sendo ≤ 500.000 CS/mL (BRASIL, 2018a). Esse resultado favorável pode ser atribuído em parte à adoção de práticas de monitoramento, como o teste de CMT (*California Mastitis Test*) e o teste da caneca de fundo preto utilizados na propriedade rural do experimento, que permitem a identificação de anomalias no leite e a implementação de medidas corretivas em relação aos animais e ao descarte adequado do leite contaminado, reduzindo o risco de contaminação cruzada. Entretanto, para a produção de QAS um leite com uma CCS variando entre 300.000 e 400.000 CS/mL é considerado inadequado. Levando em conta vacas de baixa produtividade e amamentação do terneiro, é considerado apropriado uma CCS inferior a 100.000 CS/mL (EMATER, 2019), discordando da atual legislação brasileira. Do contrário, uma CCS elevada não é boa para produzir o QAS e segundo Costa et al. (2017) e Lavor et al. (2019), CCS elevada indica haver uma infecção intramamária nos animais em ordenha, e pode ser de origem genética, de imunidade, período de lactação, ambiental.

Por esta razão, na produção de queijos, o uso de leite com uma elevada CCS tem um impacto negativo no tempo de coagulação do leite, retardando sua fermentação e interferindo na redução do pH (CASTRO et al., 2014). Além disso, pode interferir na redução da caseína e do cálcio presentes no leite cru refrigerado, prejudicando o rendimento dos queijos, incluindo a Qualidade do Leite (QAS), e dificultando a formação da coalhada, resultando em uma massa mais flácida e retardando sua solidificação (EMATER, 2019). Martins et al. (2015) identificaram uma média de 743.000 CS/mL de CCS no leite cru refrigerado em sete fazendas no estado de Goiás, atribuindo esse teor à presença de mastite subclínica, sendo as espécies mais comuns *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis* e *Staphylococcus* sp.

O resultado de cinzas identificado neste trabalho foi de $0,71 \pm 0,01\%$. Silva et al. (2017) encontraram na análise das cinzas uma variação de 0,45% a 0,74%. Já Santos et al. (2011) verificou que o leite cru refrigerado apresentou um teor de cinzas de 0,62% e Tronco (2008) observou que os componentes minerais do leite configuram aproximadamente entre 0,60 a 0,80% de seu peso total. Isto posto, Santos et al. (2011), ainda cita que o parâmetro de cinzas no leite, se refere à quantidade



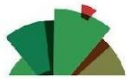
de matéria não combustiva, sofrendo menos modificações, contudo um valor muito baixo, ou inferior a 0,70% é relacionado com a alimentação animal (SILVA, 2002).

A CPP do leite apresentou uma contagem de $8.000 \pm 0,01$ UFC/mL, estando bem abaixo do limite máximo da legislação brasileira, que permite até 300.000 UFC/mL (BRASIL, 2018a), corroborando com a alta porcentagem de conformidades das BPA verificadas na propriedade estudada. Segundo a EMATER (2019), um leite com uma CPP inferior a 50.000 UFC/mL é considerado “de muito boa qualidade” e, é aconselhado para a fabricação do QAS. Lange et al. (2017) salientam que a limpeza adequada da sala de ordenha, dos equipamentos utilizados na ordenha e do úbere dos animais em lactação, contribuem para a redução da CPP no leite. Por sua vez, Tonet et al. (2020) afirmam que a produção de queijos com alta CPP pode resultar em características indesejáveis, como a presença de olhaduras, queijos inflados e redução da vida útil do produto.

A densidade do leite resultou em $1,0315 \pm 0,02$ g/mL, estando conforme com a legislação (BRASIL, 2018a). Um valor de densidade inferior a 1,028 pode ser um indício da presença de água adicionada ao leite e superior a 1,034 g/mL pode significar a incorporação de outras substâncias não desejadas ou o seu desnate (POLEGATO; RUDGE et al., 2003). Conforme a pesquisa realizada por Santos et al. (2021), foi constatado que uma amostra de leite (n=4) apresentou um resultado que excedeu o limite estabelecido para o leite cru refrigerado, resultando em 1,036 g/mL, indicando a adição de reconstituintes de densidade no leite como, tal como, a incorporação de sacarose, sal e amido (TRONCO, 2008). Ulisses et al. (2022) identificaram que uma amostra de leite cru refrigerado estava em desacordo, apresentando média de 1,0272 g/mL, e sugerem que este resultado também seja oriundo da adição de água no leite, que pode considerado uma fraude (BRASIL, 2017).

O leite demonstrou estabilidade ao alizarol de 74% v/v, atendendo ao padrão mínimo de 72% v/v estabelecido pela legislação brasileira (BRASIL, 2018a). A análise da estabilidade ao alizarol é rápida e possui a finalidade de verificar a resistência do leite ao tratamento térmico (TRONCO, 2003). Souza et al. (2021) identificaram que todas as amostras analisadas (n=10) estavam consoantes a legislação brasileira (BRASIL, 2018a), possuindo o alizarol do leite estável em 72% v/v, sendo verificada uma coloração rósea-tijolo sem a formação de grumos, o que se difere de um leite instável.

A análise do teor de gordura do leite resultou em $3,87 \pm 0,04$ g/100 g, atendendo ao requisito mínimo da legislação brasileira de 3,0 g/100 g (BRASIL, 2018a). Embora a gordura do leite possa variar devido a diversos fatores, como alimentação, condição corporal, raça, saúde e temperatura ambiental (Oliveira et al., 2012), um produtor identificado no trabalho reportado por Arbello et al. (2021) apresentou uma matéria-prima com teor de gordura abaixo do limite mínimo estabelecido pela legislação brasileira, registrando 2,17 g/100 g, onde esta amostra específica era proveniente de animais da raça holandesa sendo obtida por meio de ordenhadeira mecânica. No trabalho apresentado por Santos et al. (2021), todas as amostras de leite cru analisadas estavam em conformidade, mostrando uma média de 3,95 g/100g de gordura. Além disso, Ströher et al. (2020) também verificaram que todas as 35 amostras analisadas estavam em conformidade, apresentando resultados em conformidade, além de ressaltar que um teor elevado de gordura no leite é vantajoso para a indústria, uma vez que é possível utilizar a gordura para a fabricação de diversos produtos, como natas, cremes de leite, entre outros.



O índice crioscópico ou ponto de congelamento do leite resultou em $-0,530 \pm 0,001$ °H, possuindo o seu resultado no limite mínimo da legislação brasileira (BRASIL, 2018a). Segundo Zagorska; Ciprova (2013), valores mínimos de índice crioscópico são possíveis de obter devido a fatores como raça do animal, idade, saúde, alimentação, época do ano e ambiente, podendo ser alterados ao longo das estações do ano. Segundo a pesquisa de Almeida; Belo et al. (2020), uma das amostras analisadas apresentou um índice crioscópico de $-0,506$ °H, relacionando esse resultado à redução da quantidade de lactose e sólidos totais nessa mesma amostra, resultado de uma possível fraude por reconstituintes como amido, açúcar e outras substâncias, que visam compensar a fraude por adição de água e mascaram o resultado desta análise no equipamento crioscópio (FAGNANI, 2016).

O teor de lactose anidra do leite resultou em $4,22 \pm 0,02$ g/100 g, estando inferior ao limite mínimo permitido pela legislação brasileira, que indica valores $\geq 4,30$ g/100 g (BRASIL, 2018a), corroborando com isto, Santos (2003) que sugere que o teor de lactose está associado com a alto predomínio de quartos mamários infectados por micro-organismos, o que também pode ser uma das hipóteses neste trabalho, ou também pela adulteração do leite pela adição de água, o que não foi constatado neste experimento. Somando a isto, o teor de lactose está associado à quantidade de leite produzida, sendo que quanto maior o volume de leite produzido pelo animal, menor será o teor de lactose no leite (ÂNGULO, 2018), o que não foi identificado neste experimento.

Segundo Peres (2001), a lactose presente no leite cru refrigerado decorre principalmente da glicose, sintetizada no fígado a partir do ácido propiônico gerado no rúmen do animal. Assim, o teor de lactose também está relacionado com a regulação da pressão osmótica na glândula mamária, de modo que a maior síntese de lactose define um maior volume de leite. Conforme observado por Silva et al. (2019), a média dos valores de lactose foi de 4,46 g/100g e Santos et al. (2021) registraram valores variando de 4,95 a 5,26 g/100g, contudo, Motta et al. (2015), avaliando a qualidade do leite informal no sudoeste de São Paulo, verificaram que 40 amostras estiveram em desacordo com a legislação brasileira, assim como este trabalho.

A ureia do leite resultou em $11,14 \pm 0,01$ g/100 g, sendo considerado na média recomendado para bovinos de leite (CABRAL et al., 2016). Segundo Grazziotin et al. (2013), a concentração de nitrogênio ureico (ureia), possui relação com o aporte proteico da dieta dos animais, assim como a relação entre a energia e proteína. Peres (2001) relaciona teores elevados de ureia no leite a animais que não estão empregando a proteína eficientemente, excretando parte do nitrogênio pelo sangue do animal. Em contrapartida, valores menores, denotam o uso exagerado da proteína dos alimentos e/ou a probabilidade de uma deficiência proteica. Guimarães et al. (2020) identificaram oscilação para a análise de ureia no leite entre 8,63 g/100 g a 11,96 g/100 g. Cabral et al. (2016) relataram valores de ureia variando entre 15,05 a 16,47, representando o volume de leite produzido por animal, variando de menos de 15 litros a mais de 25 litros, respectivamente, e consideram que o resultado de ureia está intimamente associado com o percentual de proteína fornecido aos animais, o que diferencia esses dois grupos com base no manejo alimentar empregado. Já De Oliveira et al. (2015), avaliando o leite cru refrigerado de 200 amostras ao longo de 12 meses, encontraram valores de ureia distintos nos períodos de inverno e verão, variando entre 8,25 e 6,74 g/100 g, respectivamente.



O teste de resíduos de antibióticos do leite cru apresentou-se negativo, estando, portanto, apto para a fabricação do QAS pela propriedade, assim como indica a legislação brasileira e estadual (BRASIL, 2018a; RIO GRANDE DO SUL, 2018), devido ao controle rigoroso das aplicações de medicamentos de uso veterinários na propriedade rural, respeitando o seu prazo de carência anteriormente ao seu aproveitamento. Ströher et al. (2020) constataram que o leite cru refrigerado de somente um fornecedor se apresentou inconformidade, estando positivo para a família dos betalactâmicos, de um total de 135 produtores da região do Vale do Taquari-RS. Em concordância com esses achados, Ströher et al. (2022) identificaram, ao analisarem o leite cru refrigerado de 651 produtores rurais da região norte do Rio Grande do Sul, uma amostra positiva para fluoroquinolonas. Isso aponta para a necessidade de ampliar os testes para resíduos de antibióticos na recepção do leite pelas empresas, indo além das famílias de antibióticos usualmente testadas, como os betalactâmicos e as tetraciclina. Segundo a Emater (2019), a presença de resíduos de antibióticos no leite e posteriormente no QAS afeta a ação do coalho e de fermentos naturais inibindo a ação das culturas lácteas, assim descaracterizando o produto.

Na identificação de micro-organismos presentes no leite, pela técnica de MALDI-TOF-MS, pode-se verificar que houve a presença dos seguintes contaminantes: *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Stenotrophomonas maltophilia*. A espécie *Enterococcus faecalis* é um micro-organismo presente no ambiente que pode contaminar o leite e está associada à ocorrência de mastite em animais (DE NICOLO et al., 2019), sendo as espécies *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus* spp. predominantes, seguido por *Enterococcus faecium*, sendo patógenos Gram negativos ambientais encontrados no material orgânico utilizado como cama para o rebanho dos animais (ELHADIDY; ZAHRAN et al., 2014) e podendo ser encontradas em abundância no trato gastrointestinal de mamíferos, no solo (BRUNO et al., 2009). A patogênese do *Enterococcus faecalis* foi relacionada à formação de biofilme (ELHADIDY; ZAHRAN et al., 2014). Além disso, tanto para *Enterococcus faecalis* quanto para *Enterococcus faecium* foram observados relatos de resistência a múltiplos antibióticos, levando a infecções frequentes por enterococos, representando um desafio para o tratamento eficaz (ELHADIDY; ZAHRAN et al., 2014). Assim, o gênero *Enterococcus* pode sobreviver a condições extremas, como pH, temperatura e salinidade (CARIDI et al., 2003), tornando um perigo à saúde pública, entretanto, estão presentes na maioria dos queijos produzidos artesanalmente (BRUNO et al., 2009).

No entanto, há grande controvérsia quanto ao gênero *Enterococcus*, devido este gênero estar presente no queijo artesanal durante a sua maturação e segundo Giraffa (2003) esses micro-organismos possuem a capacidade de exercer um impacto positivo nas características sensoriais dos queijos. Isso ocorre em consequências das reações bioquímicas que eles realizam, como proteólise, lipólise, utilização do citrato e produção de compostos aromáticos voláteis, além da capacidade de produzir bacteriocinas. Em geral, eles são amplamente utilizados como fermento láctico primário devido a essas propriedades.

Segundo Nóbrega (2012), as bacteriocinas produzidas por *Enterococcus* dispõem de atividade antimicrobiana sobre as bactérias Gram positivas, como as bactérias formadoras de esporos e as patogênicas como *Listeria* spp. De Nicolo et al. (2019), avaliando o leite de 899 vacas através da

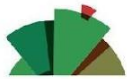


técnica de MALDI-TOF, que possuíam a sua CCS acima de 200.000 CS/mL, constataram a presença da espécie *Enterococcus faecalis* em apenas quatro amostras.

De acordo com Brooke (2012), *Stenotrophomonas maltophilia* é uma espécie bacteriana ambiental, de Gram negativo, com o potencial de causar diversas infecções graves em seres humanos, havendo o contágio direto através do contato com as fontes de contaminação (SCHABLE et al., 1991). Esta espécie também está associada à mastite clínica e subclínica em vacas em lactação, sendo já identificadas em queijos, no leite cru e pasteurizado (OKUNO et al., 2018; EL-PRINCE et al., 2019). Conforme relatado por Alonso; Martínez et al. (1997), as infecções causadas por *Stenotrophomonas maltophilia* são desafiadoras de tratar devido à sua resistência a múltiplos antibióticos.

A contaminação do leite por *Stenotrophomonas maltophilia* pode ocorrer principalmente através das fezes, uma vez que os tetos em contato com a cama dos animais e suas fezes desempenham um papel crucial na multiplicação bacteriana dessa espécie (ZHANG et al., 2014), o que pode ter ocorrido neste estudo devido aos animais permanecerem deitados no mesmo lugar ao defecar. Ohnishi et al. (2012) observaram que isolados de *Stenotrophomonas maltophilia* foram associados a um surto de mastite em bovinos em lactação no Japão apresentando resistência a várias classes de antimicrobianos. No entanto, os autores destacam que essa espécie tem baixa patogenicidade para as glândulas mamárias dos animais e a contaminação do leite pode ter ocorrido por contaminação cruzada da ordenhadeira e/ou uso comunitário de papel toalha nos tetos dos animais, além de má higienização da sala de ordenha e presença de umidade e esterco na cama dos animais. Portanto, deve-se aprimorar o saneamento na propriedade rural, incluindo a verificação e monitoramento das boas práticas agropecuárias, assim como recomenda a legislação brasileira (BRASIL, 2018b), pois este micro-organismo é multirresistente na água e em diversos outros ambientes (OKUNO et al., 2018).

Outro micro-organismo encontrado neste estudo foi *Staphylococcus saprophyticus* é uma bactéria oportunista, Gram positiva, anaeróbia facultativa, imóvel, não esporulada com um diâmetro de 0,5 a 1 mm (NUNES et al., 2016). Embora possa causar infecções graves, especialmente em pessoas imunocomprometidas, essa espécie pode contaminar produtos alimentícios, secretando toxinas que causam intoxicações alimentares (GUIDONI et al., 2001). Esta espécie ainda é considerada um patógeno nosocomial, possuindo a capacidade de formação de biofilmes durante o seu crescimento (PFALLER; HERWALDT et al., 1988). *Staphylococcus coagulase negativa* (SCN), como *Staphylococcus saprophyticus*, é frequentemente encontrada na cama dos animais e em seu alojamento (MATOS et al., 1991). Em um estudo realizado por Persson et al. (2011) na Suécia, observou-se que *Staphylococcus saprophyticus* é a espécie predominante em vacas lactantes com mastite subclínica. Nunes et al. (2016), identificou quatro cepas da espécie *Staphylococcus saprophyticus* em queijos Minas frescal, sugerindo que uma das hipóteses desta contaminação é proveniente de boas práticas inadequadas na sua fabricação, alertando que estes micro-organismos possuem resistência a antimicrobianos e podem produzir enterotoxinas que são uma grande ameaça à saúde pública. Corroborando, Coton et al. (2010) identificaram a presença de *S. Saprophyticus* no ambiente, no leite cru e após também no queijo, e uma das hipóteses para a contaminação neste trabalho, assim como conclui o autor, são as inúmeras fontes de contaminação.



Portanto, para a produção de um leite cru refrigerado e um QAS de qualidade devem ser adotadas as boas práticas de fabricação na agroindústria, as boas práticas agropecuárias na propriedade (BRASIL, 2002; BRASIL, 2018b) como também obedecer às condições estabelecidas de maturação do QAS, devendo ser maturado por no mínimo 60 dias em local seco e ventilado, acima de 5 °C (RIO GRANDE DO SUL, 2014) para o mesmo atingir os limites microbiológicos da legislação brasileira (BRASIL, 2022). No entanto, combater a contaminação do leite e do queijo destes patógenos é de suma importância, uma vez que *S. saprophyticus* foi o micro-organismo mais identificado no estudo de Kongo et al. (2008) no queijo Português São Jorge possuindo quatro meses de maturação, o que é um fato preocupante. Por fim, Tondo et al. (2000), afirmam que o leite cru é a principal fonte de contaminação do queijo.

De acordo com Müller et al. (2023), a ausência de padrões regulatórios para a microbiota do leite bovino dificulta a interpretação dos dados de estudos realizados. Há ainda a possibilidade de contaminação bacteriana em utensílios e materiais de laboratório, bem como a presença de DNA de micro-organismos inativos nas amostras, o que deve ser considerado.

O leite cru analisado quanto à sua CCS, esteve em conformidade quanto à legislação brasileira, que deve ser ≤ 500.000 CS/mL (BRASIL, 2018a), entretanto, ainda assim, é possível identificar micro-organismos patógenos presentes no leite cru refrigerado, que podem se multiplicar, aumentando este resultado futuramente. Portanto, a análise proteômica do leite cru refrigerado é de suma importância para a identificação de micro-organismos patogênicos na matéria-prima e imediatamente realizar as ações corretivas junto à propriedade.

Assim, a análise do leite cru refrigerado em conformidade à legislação brasileira desempenha um papel crucial na garantia da produção de queijos de qualidade, incluindo o QAS. Os parâmetros físico-químicos, microbiológicos juntamente com a análise proteômica, fornecem informações essenciais sobre a composição e qualidade do leite, resultando em inúmeros benefícios. Portanto, a análise do leite cru consoante a legislação é indispensável para garantir a obtenção de queijos de alta qualidade, com características sensoriais, nutricionais e de textura desejáveis, além de assegurar a saúde e a segurança dos consumidores.

Conclusões

As especificações físico-químicas do leite cru mostraram que apenas um parâmetro, o teor de lactose anidra, não estava consoante com a legislação brasileira, muito em função da alta contaminação de quartos mamários infectados por micro-organismos patogênicos.

A análise proteômica do leite cru identificou a presença de três espécies de micro-organismos causadores de mastite em vacas leiteiras: *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus saprophyticus* e *Stenotrophomonas maltophilia*. Essa contaminação pode ser transmitida ambientalmente, portanto, é necessário adotar medidas corretivas na propriedade para inativar esses micro-organismos.

Apesar da análise de CCS do leite cru ter apresentado conformidade em seu resultado, a presença dessas três espécies de micro-organismos patogênicos associados à mastite no leite indica a importância de se realizar análises mais abrangentes para garantir a segurança do alimento. Assim,



fica evidente a importância da realização de análises diretas do leite cru nas propriedades rurais, utilizando técnicas mais precisas como a MALDI-TOF-MS.

Referências

ALMEIDA, F. M.; BELO, M. A. D. **Qualidade de leite bovino produzido em propriedades de agricultura familiar, Cacoal/RO**. 2020. 416 f.

ALONSO, A.; MARTÍNEZ, J. L. Multiple antibiotic resistance in *Stenotrophomonas maltophilia*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 41, n. 5, p. 1140-1142, 1997. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC163865/>. Acesso em: 27 out. 2023.

AMBROSINI, L. B. **Sistema agroalimentar do queijo serrano: estratégia de reprodução social dos pecuaristas familiares dos Campos de Cima da Serra-RS**. 2007.

ÂNGULO, J. D. F. **Evolução da qualidade do leite cru refrigerado na mesorregião da zona da mata norte de Minas Gerais frente à vigência das instruções normativas n° 51/2002 e n° 62/2011 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. 2018. 133 f. Dissertação (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

ARAÚJO, G. B. et al. Detecção de resíduo de antibiótico em leite *in natura* em laticínio sob inspeção federal. **Scientia Plena**, v. 11, n. 4, 2015.

ARBELLO, D. D. R. et al. Análise microbiológica e físico-química do leite produzido na cidade de Santana do Livramento - Rio Grande do Sul. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 6, p. e24310615561-e24310615561, 2021.

AULDIST, M.J.; HUBBLE, I.B. Effects of mastitis on raw milk and dairy products. **Aust. J. Dairy Technol.**, v.53, p.28-37, 1998.

BARCELOS, M. M. et al. Comparison of standard and on-plate extraction protocols for identification of mastitis-causing bacteria by MALDI-TOF MS. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 50, p. 849-857, 2019. DOI: 10.1007/s42770-019-00139-2.

BRASIL, R. B. et al. **Estrutura e estabilidade das micelas de caseína do leite bovino**. 2015. Disponível em: <http://repositorio.bc.ufg.br/handle/ri/12468>. Acesso em: 20 out. 2022.

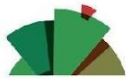
BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Instrução Normativa IN n.º 161**. Estabelece, nos termos da Resolução de Diretoria Colegiada - RDC n° 724, de 1º de julho de 2022, as listas de padrões microbiológicos de alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 1º de julho de 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Decreto n.º 9.013, de 29 de março de 2017**. Regulamenta a Lei n° 1.283, de 18 de dezembro de 1950, que dispõe sobre o controle de qualidade de produtos de origem animal. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 30 mar. 2017. Seção 1, p. 4.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n° 68, de 12 de dezembro de 2006**. Oficializa os métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos. Brasília, Seção 1, p. 8, 14 dez. 2006.

BRASIL. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. **Resolução RDC n.º 275 de 21 de outubro de 2002**. Que dispõe sobre o Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos. 2002.

BRASILa. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n.º 77, de 2 de**



novembro de 2018. Ficam estabelecidos os critérios e procedimentos para a produção, acondicionamento, conservação, transporte, seleção e recepção do leite cru em estabelecimentos registrados no serviço de inspeção oficial. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 5 nov. 2018.

BRASILb. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n.º 76, de 2 de novembro de 2018.** aprovados os Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 5 nov. 2018.

BROOKE, J. S. *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging global opportunistic pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 25, n. 1, p. 2-41, 2012.

BRUNO, L. M.; CARVALHO, J. D. G. **Documentos 124: Microbiota láctica de queijos artesanais.** Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2009. 30 p.

CABRAL, J. F. et al. Relação da composição química do leite com o nível de produção, estágio de lactação e ordem de parição de vacas mestiças. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v. 71, n. 4, 2016.

CARIDI, A. et al. Ripening and seasonal changes in microbiological and chemical parameters of the artisanal cheese caprino d'Aspromonte produced from raw or thermized goat's milk. *Food Microbiology*, v. 20, n. 2, p. 201-209, 2003.

CASTRO, K. A. et al. Efeito da contagem de células somáticas sobre a qualidade dos queijos prato e mussarela. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, v. 8, n. 1, 2014.

COSTA, H. N. et al. Estimativa das perdas de produção leiteira em vacas mestiças Holandês x Zebu com mastite subclínica baseada em duas metodologias de análise. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 69, p. 579-586, 2017.

COTON, E. et al. Biodiversity of Coagulase-Negative Staphylococci in French cheeses, dry fermented sausages, processing environments and clinical samples. *International Journal of Food Microbiology*, v. 137, n. 2, p. 221-229, 2010.

DE NICOLO, L. et al. Caracterização de *Streptococcus* spp. causadores de mastite subclínica por MALDI-TOF MS. XIII Simpósio de Pós-Graduação e Pesquisa em Nutrição e Produção Animal-VNP 2019.

DE OLIVEIRA, P. G. et al. Relação entre as concentrações de ureia no leite e as diferentes estações do ano. II Congresso de Ensino, Pesquisa e Extensão da UEG. 2015.

ELHADIDY, M.; ZAHARAN, E. Biofilm mediates *Enterococcus faecalis* adhesion, invasion and survival into bovine mammary epithelial cells. *Letters in Applied Microbiology*, v. 58, n. 3, p. 248-254, 2014.

EL-PRINCE, E. et al. *Stenotrophomonas* species in Milk and some Dairy Products. *Journal of Advanced Veterinary Research*, v. 9, n. 1, p. 11-13, 2019.

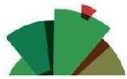
EMATER, **Cartilha de boas práticas agropecuárias na produção de leite para a fabricação de queijo artesanal serrano.** [Elaborada por] Jaime Eduardo Ries, Saionara Araújo Wagner e Izadora Bottega. Porto Alegre: Emater/RS-Ascar, 2019. 48 p.

EMBRAPA, **Composição do leite.** Agência de Informação Embrapa. 2023.

FAGNANI, R. Principais fraudes em leite. **Piracicaba: MilkPoint**, 2016.

FERROCINO, I. et al. Investigating dairy microbiome: An opportunity to ensure quality, safety and typicality. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 73, p. 164-170, 2021.

GIGANTE, M. L. COSTA, M. R. Influência das células somáticas nas propriedades tecnológicas do leite



e derivados. In: Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite, 3., 2008. Recife, **Anais...** Recife: CCS Gráfica e Editora, 1, 2008, p. 161-174.

GIRAFFA, G. Functionality of enterococci in dairy products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 88, n. 2, p. 215-222, 2003. (Enterococci in Foods. Functional and Safety Aspects).

GRAZZIOTIN, S. Z. et al. Qualidade, composição e nitrogênio ureico do leite de vacas das raças Jersey e Holandesa nas diferentes estações do ano. **Salão do Conhecimento**, 2013.

GUIDONI, E. B.; TOPOROVSKI, J. Urinary infection in adolescents. **J. Pediatr.** (Rio J). 2001; 77(2): 165-9.

GUIMARÃES, G. M. et al. Qualidade do leite in natura perante a instrução normativa IN n.º 76 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, p. e262996746-e262996746, 2020.

JÚNIOR, J. C. R. et al. Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química do leite cru refrigerado produzido na região de Ivaiporã, Paraná. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 68, n. 392, p. 5-11, 2013.

KONGO, J. M. et al. Monitoring and identification of bacteria associated with safety concerns in the manufacture of São Jorge, a Portuguese traditional cheese from raw cow's milk. **Journal of Food Protection**, v. 71, n. 5, p. 986-992, 2008.

LANGE, M. J. et al. Tipologia de manejo de ordenha: análise de fatores de risco para a mastite subclínica. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, p. 1205-1212, 2017.

LAVOR, U. L. et al. Bacterial identification, somatic cell count, antimicrobial profile and toxigenic Staphylococcus strains search from mastitic cow milk samples on small farms properties. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 39, p. 715-722, 2019.

MARTINS, J. D. et al. Mastite subclínica em rebanhos leiteiros de propriedades rurais de Goiás. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 9, n. 2, p. 206-214, 2015.

MATOS, J. S. et al. Isolation of Staphylococcus aureus from Sites Other than the Lactating Mammary Gland. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 5, p. 1544-1549, 1991.

MOLINA, C. H. A. et al. Qualidade do leite cru comercializado informalmente no município de Itaquiraçu. **Vigil Sanit Debate**, Rio de Janeiro, v. 3, n. 4, p. 106-113, 2015.

MOLONEY, A. P. et al. Botanically diverse forage-based rations for cattle: implications for product composition, product quality and consumer health. **Grassland Science in Europe**, v. 13, p. 361-374, 2008.

MOTTA, R. G. et al. Indicadores de qualidade e composição de leite informal comercializado na região Sudeste do Estado de São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, p. 417-423, 2015.

MÜLLER, T. et al. Milk microbiota from dairy factories in the Central Region of Rio Grande do Sul, Brazil. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 47, p. e018322, 2023.

NÓBREGA, J. E. **Microbial biodiversity, physicochemical descriptors and sensory characteristics of artisan cheeses produced in the Serra da Canastra and Serro regions, Minas Gerais**. 2012. 128 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos; Tecnologia de Alimentos; Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2012.

NUNES, C. S. R. et al. Identification and molecular phylogeny of coagulase-negative staphylococci isolates from Minas Frescal cheese in southeastern Brazil: Superantigenic toxin production and antibiotic resistance. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 4, p. 2641-2653, 2016.

OHNISHI, M. et al. Antimicrobial susceptibility and genetic relatedness of bovine *Stenotrophomonas*



maltophilia isolates from a mastitis outbreak. **Letters in Applied Microbiology**, v. 54, n. 6, p. 572-576, 2012.

OKUNO, N. T. et al. Polymerase Chain Reaction Assay for Detection of *Stenotrophomonas maltophilia* in Cheese Samples Based on the smeT Gene. **Current Microbiology**, v. 75, n. 12, p. 1555-1559, 2018.

OLIVEIRA, E. N. A. SANTOS, D.C. Avaliação da qualidade físico-química de leites pasteurizados. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, 2012.

PACHOUD, C. COY, M. Relações de proximidade entre atores locais e as dinâmicas de desenvolvimento territorial: análise da cadeia produtiva do queijo artesanal serrano nos campos de cima da serra/RS. **Revista Brasileira de Gestão e Desenvolvimento Regional**, v. 14, n. 2, 2017.

PARENTE, E. et al. The microbiota of dairy milk: A review. **International Dairy Journal**, v. 107, p. 104714, 2020.

PERES, J. R. **O leite como ferramenta do monitoramento nutricional**. In: FÉLIX, H.D. (Ed.). *Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras*. Porto Alegre: Gráfica da UFRGS, 2001. p.30-45.

PERSSON, Y. et al. Etiology and antimicrobial susceptibility of udder pathogens from cases of subclinical mastitis in dairy cows in Sweden. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 53, n. 1, p. 1-8, 2011.

PFALLER, M. A. HERWALDT, L. A. Laboratory, clinical, and epidemiological aspects of coagulase-negative staphylococci. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 1, n. 3, p. 281-299, 1988.

POLEGATO, E. P. S. RUDGE, A. C. Estudo das características físico-químicas e microbiológicas dos leites produzidos por mini-usinas da região de Marília - São Paulo/Brasil. **Higiene Alimentar**, v. 17, n. 111, p. 56-63, 2003.

RIES, J. E. et al. Projeto de qualificação e certificação do Queijo Serrano produzido nos Campos de Cima da Serra do Rio Grande do Sul - relato parcial da experiência. **Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**, Porto Alegre, v. 5, n. 1, p. 10-9, jan./abr. 2012.

RIO GRANDE DO SUL. Decreto n.º 54.199 de 24/08/2018. Que Regulamenta a Lei nº 14.973, de 29 de dezembro de 2016, que dispõe sobre a produção e a comercialização do queijo artesanal serrano no Estado do Rio Grande do Sul. - Estadual - Rio Grande do Sul - LegisWeb. 2018.

RIO GRANDE DO SUL. Instrução Normativa n.º 07 de 9 de dezembro de 2014. **Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Queijo Serrano**. Diário Oficial Estadual, Porto Alegre, 14 de dez. de 2014.

SANTOS, M. J. S. et al. Caracterização de leite cru refrigerado produzido no interior de Sergipe frente aos parâmetros legislatórios no Brasil. In: **Congresso internacional da agroindústria**, 3., 2021, Salvador. Anais... Salvador: Instituto IDV, 2021.

SANTOS, M. V. Importância do período seco no controle da mastite. In: **Simpósio internacional de produção intensiva de leite**, 6., 2003, Piracicaba. Anais... São Paulo: FEALQ, 2003. p. 136-148.

SANTOS, N. A. F. et al. Avaliação da composição e qualidade físico-química do leite pasteurizado padronizado comercializado na cidade de São Luís, MA. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, n. 1, p. 109-113, jan./mar. 2011.

SCHABLE, B. et al. Application of multilocus enzyme electrophoresis to epidemiologic investigations of *Xanthomonas maltophilia*. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 12, n. 3, p. 163-167, 1991.

SILVA, B. P. et al. Caracterização da produção e qualidade do leite em propriedades de agricultura familiar na região sul do Rio Grande do Sul. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 74, n. 4, p. 231-239, 2019.



STRÖHER, J. A.; DOS SANTOS JR., L. C.; CEOLIN, L. V.; SANT'ANNA, V.; PADILHA, R. L. Qualidade do leite cru refrigerado para a na produção de Queijo Artesanal Serrano (QAS) do RS: um estudo de caso. *Revista Semiárido De Visu*, V. 12, n. 1, p. 162-177, mar. 2023. ISSN 2237-1966.

SILVA, G. W. N. et al. Avaliação físico-química de leite *in natura* comercializado informalmente no sertão paraibano. *Revista Principia - Divulgação Científica e Tecnológica do IFPB*, João Pessoa, n. 35, p. 34-41, jun. 2017. ISSN 2447-9187.

SILVA, S. R. N. C. **Avaliação da qualidade físico-química do leite pasteurizado tipo "C" de um estabelecimento com certificação federal no Estado do Maranhão. 2002.** Monografia (Graduação)-Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2002.

SOUZA, T. T. et al. Qualidade e eficiência de transformação do leite cru em queijo: um estudo de caso em um laticínio no Estado do Amazonas. In: **Congresso Internacional da Agroindústria**, 2021.

STRÖHER, J. A. et al. Detecção de antimicrobianos em leite cru refrigerado de propriedades do Vale do Taquari-RS. In: **COINTER PDVAgro. V Congresso Internacional das Ciências Agrárias**, 2020.

STRÖHER, J. A. KAMPHORST, R. C. M.; PADILHA, R. L. Detecção de resíduos de antibiótico no leite cru refrigerado de produtores do norte do Rio Grande do Sul. *Revista Eletrônica Científica da UERGS*, v. 8, n. 3, p. 247-257, 2022.

TAPONEN, S. et al. Bovine milk microbiome: A more complex issue than expected. *Veterinary Research*, v. 50, p. 44, 2019.

TILOCCA, B. et al. Milk microbiota: Characterization methods and role in cheese production. *Journal of Proteomics*, v. 210, p. 103534, 2020.

TONDO, E. C. et al. Assessing and analysing contamination of a dairy products processing plant by *Staphylococcus aureus* using antibiotic resistance and PFGE. *Canadian Journal of Microbiology*, v. 46, n. 12, p. 1108-1114, 2000.

TONET, R. M. et al. **Interferência dos padrões de qualidade (CCS e CBT) no processamento de leite fluido e derivados. 2020.**

TRONCO, V. M. **Manual para inspeção da qualidade do leite. 2 ed.** Santa Maria: Editora da UFSM, 2003.

TRONCO, V. M. **Manual para Inspeção da Qualidade do Leite. 3. ed.** Santa Maria: Editora UFSM, 2008; 206p.

ULISSES, A. F. et al. Leite cru refrigerado: qualidade microbiológica, físico-química e detecção de resíduos de antibióticos. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 1, p. e48111123708-e48111123708, 2022.

ZAGORSKA, J. CIPROVICA, I. Evaluation of factors affecting freezing point of milk. *Int. J. Biol. Biomol. Agric. Food Biotechn. Engin.*, v.7, n.2, 2013.

ZHANG, R. et al. Characterization of bacterial community of raw milk from dairy cows during subacute ruminal acidosis challenge by high-throughput sequencing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 95, n. 5, p. 1072-1079, 2015.