



Instituto Politécnico
de Castelo Branco

Instituto Politécnico de Castelo Branco

Canelo, Laura Isabel Nave

Análise estatística de dados microbiológicos de queijos elaborados a partir de leite cru

<https://minerva.ipcb.pt/handle/123456789/643>

Metadados

Data de Publicação	2008
Resumo	Neste trabalho foram analisados parâmetros microbiológicos tais como, Escherichia coil, Staplococcus coagulase positiva, Salmonella spp, Listeria monocytogenes, de duas queijarias, das quais se recolheram 102 registos de análises realizadas durante 5 anos na empresa Aquimisa, Consultores Agro Industriais Lda, em Castelo Branco. Também foram realizadas visitas às queijarias em estudo de modo a permitir explicar os resultados obtidos. Toda a metodologia de análise microbiológica foi observada no ...
Editor	IPCB. ESA
Palavras Chave	Segurança alimentar, Microrganismos, Análise estatística
Tipo	Thesis
Revisão de Pares	Não
Coleções	ESACB - Engenharia Biológica e Alimentar

Esta página foi gerada automaticamente em 2018-11-10T04:51:13Z com
informação proveniente do Repositório



ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA
INSTITUTO POLITÉCNICO DE CASTELO BRANCO

**Análise estatística de dados microbiológicos de
queijos elaborados a partir de leite cru**

Engenharia Biológica e Alimentar
Relatório do Trabalho de Fim de Curso

Laura Isabel Nave Canelo

CASTELO BRANCO

2008



Instituto Politécnico de Castelo Branco

Escola Superior Agrária

Relatório de Estágio

**Análise estatística de dados microbiológicos de
queijos elaborados a partir de leite cru**



Laura Isabel Nave Canelo

Engenharia Biológica e Alimentar

Orientador interno: Prof. Doutor Armando Mateus Ferreira

Orientador externo: Eng. Vítor Amaro Lopes

Castelo Branco, Setembro de 2008

*“As doutrinas expressas neste
trabalho são da inteira
responsabilidade do seu autor”*

*“Dedico este trabalho ao meu avô paterno, José Canelo,
pela força com que me ensinou a lutar durante
toda a minha vida e pela coragem que tem tido para lutar
contra certas circunstâncias da sua vida, que nem sempre
é justa! A ele agradeço tudo o que sempre me ensinou!
Adoro-te, avô!”*

Agradecimentos

Terminado este trabalho quero expressar os mais sinceros agradecimentos a todos aqueles que me apoiaram durante a sua elaboração:

Ao meu orientador, Professor Doutor Armando Mateus Ferreira, por toda a disponibilidade demonstrada e todo o incansável apoio prestado desde o primeiro dia de estágio, por todos os conhecimentos que me transmitiu e infinitas dúvidas que esclareceu, pelos conselhos e incentivos que me deu, pela preciosa ajuda na revisão do tratamento estatístico e por tudo aquilo que fez para que este trabalho decorresse sempre da melhor forma possível.

Ao meu orientador externo, Engenheiro Vítor Manuel Amaro Lopes, por me ter permitido fazer estágio na sua empresa, pela disponibilidade demonstrada, também extensível aos trabalhadores da empresa Aquimisa.

À Engenheira Maria Manuela Martins Francisco Goulão, responsável pelo Responsável do Sector de Microbiologia e Imunologia, pela simpatia e disponibilidade imediata para me explicar as noções práticas fundamentais a ter em conta nas determinações microbiológicas efectuadas.

A todos os colaboradores das queijarias M e S, pela excelente forma como me receberam e pela ajuda prestada, o que contribuiu em muito para que este trabalho fosse possível.

Aos meus pais pelo incentivo que me deram durante a realização deste trabalho.

A todos, MUITO OBRIGADA.

Índice

I – Introdução e Objectivos	1
II – Aspectos gerais	2
1. O leite como matéria-prima para o fabrico de queijo	2
1.1. <i>Variações na composição do leite</i>	2
1.1.1. <i>Algumas características do leite de Ovelha</i>	2
1.1.2. <i>Algumas características do leite de cabra</i>	3
2. Tecnologia de fabrico	5
2.1. <i>Etapas do processo de fabrico</i>	5
2.1.1. <i>Recepção do leite</i>	5
2.1.2. <i>Coagem do leite</i>	6
2.1.3. <i>Aquecimento</i>	6
2.1.4. <i>Coagulação</i>	6
2.1.5. <i>Corte da coalhada</i>	7
2.1.6. <i>Dessoramento</i>	8
2.1.7. <i>Enchimento e moldagem</i>	8
2.1.8. <i>Prensagem</i>	8
2.1.9. <i>Salga</i>	8
2.1.10. <i>Cura</i>	9
2.1.11. <i>Expedição/Embalagem</i>	9
3. Diferenças observadas nas tecnologias de fabrico das queijarias em estudo	10
4. Características dos microrganismos associados aos queijos em estudo	17
4.1. <i>Escherichia coli</i>	18
4.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	19
4.3. <i>Salmonella</i> spp	19
4.4. <i>Listeria monocytogenes</i>	20
III – Material e Métodos	22

1. Caracterização da empresa	22
2. Metodologia de laboratório	23
2.1. Método Horizontal para contagem de <i>Escherichia coli</i> presumíveis – ISO 16649 – 2: 2001	23
2.2. Contagem de <i>Staphylococcus coagulase positiva</i> – ISO 6888-2: 1999	24
2.3. Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp – ISO 6579: 2002	25
2.4. Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i> – metodologia interna	25
3. Análise estatística	26
IV – Resultados e Discussão	27
1. Relação entre microrganismos e queijarias em estudo	27
1.1. <i>E.coli</i> e Queijarias	27
1.2. <i>Staphylococcus coagulase positiva</i> e Queijarias	30
1.3. <i>Salmonella</i> e Queijarias	32
1.4. <i>Listeria monocytogenes</i> e Queijarias	33
2. Relação entre Microrganismos, Tempo e Queijarias	35
2.1. <i>E. coli</i> , Tempo e Queijarias	35
2.2. <i>Staphylococcus</i> , Tempo e Queijarias	37
2.3. <i>Salmonella</i> , Tempo e Queijarias	38
2.4. <i>Listeria monocytogenes</i> , Tempo e Queijarias	40
3. Relação entre Microrganismos, Ano e Queijarias	42
3.1. <i>E.coli</i> , Ano e Queijarias	42
3.2. <i>Staphylococcus</i> , Ano e Queijaria	43
3.3. <i>Salmonella</i> , Ano e Queijaria	45
3.4. <i>Listeria monocytogenes</i> , Ano e Queijaria	46
V – Considerações Finais	48
VI – Bibliografia	50
VII – Anexos	
Anexo I – Dados recolhidos	56
Anexo II – Fotos de laboratório	61
Anexo III – Análise estatística – SPSS	63

Anexo IV – Diagramas de fabrico das queijarias M e S

84

Índice de figuras

Figura 1: Diagrama de fabrico das queijarias M e S	10
Figura 2: Depósitos de leite da queijaria M	11
Figura 3: Tanque de passagem do leite da queijaria S	11
Figura 4: Depósitos de leite da queijaria S	11
Figura 5: Depósitos e arrefecedor de água gelada da queijaria S	11
Figura 6: Pasteurizador da queijaria M	12
Figura 7: Pasteurizador da queijaria S	12
Figura 8: Cuba da queijaria M	12
Figura 9: Cuba da queijaria S	12
Figura 10: Dessoramento da queijaria S	13
Figura 11: Enchimento e moldagem da queijaria M	13
Figura 12: Enchimento e moldagem da queijaria S	13
Figura 13: Prensagem na queijaria M	14
Figura 14: 1ª Câmara de cura da queijaria M	14
Figura 15: 2ª Câmara de cura da queijaria M	14
Figura 16: 1ª Câmara de cura da queijaria S	14
Figura 17: 3ª Câmara de cura da queijaria M	15
Figura 18: 4ª Câmara de cura da queijaria M	15
Figura 19: 3ª Câmara de cura da queijaria S	15
Figura 20: Queijos prontos a ser embalados	15
Figura 21: Números de casos Satisfatórios, Admissíveis e Não Satisfatórios nas duas queijarias referentes a <i>E.coli</i>	27
Figura 22: Números de casos Satisfatórios, Admissíveis e Não Satisfatórios nas duas queijarias referentes a <i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	30
Figura 23: Números de ausência e presença de <i>Salmonella</i> nas duas queijarias	32
Figura 24: Números de ausência e presença de <i>Listeria monocytogenes</i> nas duas queijarias	33
Figura 25: Níveis de casos Satisfatórios, Admissíveis e Não Satisfatórios nas duas queijarias relacionados com o tempo referentes a <i>E.coli</i>	35
Figura 26: Números de casos Satisfatórios, Admissíveis e	

Não Satisfatórios nas duas queijarias relacionados com o tempo referentes a <i>Staphylococcus</i>	37
Figura 27: Números de ausência e presença de <i>Salmonella</i> nas duas queijarias relacionados com o tempo	38
Figura 28: Números de ausência e presença de <i>Listeria monocytogenes</i> nas duas queijarias relacionados com o tempo	40
Figura 29: Níveis de casos Satisfatórios, Admissíveis e Não Satisfatórios nas duas queijarias relacionados com os anos referentes a <i>E.coli</i>	42
Figura 30: Números de casos Satisfatórios, Admissíveis e Não Satisfatórios nas duas queijarias relacionados com os anos referentes a <i>Staphylococcus</i>	43
Figura 31: Números de ausência e presença de <i>Salmonella</i> nas duas queijarias relacionados com os anos	45
Figura 32: Números de ausência e presença de <i>Listeria monocytogenes</i> nas duas queijarias relacionados com os anos	46

Índice de tabelas

Tabela 1: Composição média do leite de diversos animais (%)	2
Tabela 2: Diferenças e semelhanças entre o processo de fabrico da queijaria M e S	11
Tabela 3: Teste do Qui-Quadrado para <i>E.coli</i> nas Queijarias	27
Tabela 4: Relação de associação entre <i>E.coli</i> e Queijarias	28
Tabela 5: Teste do Qui-Quadrado para <i>Staphylococcus</i> nas Queijarias	30
Tabela 6: Relação de associação entre <i>Staphylococcus</i> e Queijarias	30
Tabela 7: Teste do Qui-Quadrado para <i>Salmonella</i> nas Queijarias	32
Tabela 8: Relação de associação entre <i>Salmonella</i> e Queijarias	32
Tabela 9: Teste do Qui-Quadrado para <i>Listeria monocytogenes</i> nas Queijarias	33
Tabela 10: Relação de associação entre <i>Listeria monocytogenes</i> e Queijarias	34
Tabela 11: Teste do Qui-Quadrado para <i>E.coli</i> nas duas Queijarias relacionado com o tempo	35
Tabela 12: Relação de associação entre <i>E.coli</i> e Queijarias relacionados com o tempo	35
Tabela 13: Teste do Qui-Quadrado para <i>Staphylococcus</i> nas	

duas Queijarias relacionado com o tempo	37
Tabela 14: Relação de associação entre <i>Staphylococcus</i> e Queijarias relacionados com o tempo	37
Tabela 15: Teste do Qui-Quadrado para <i>Salmonella</i> nas Queijarias relacionado com o tempo	38
Tabela 16: Relação de associação entre <i>Salmonella</i> e Queijarias relacionado com o tempo	39
Tabela 17: Teste do Qui-Quadrado para <i>Listeria monocytogenes</i> nas Queijarias relacionado com o tempo	40
Tabela 18: Relação de associação entre <i>Listeria monocytogenes</i> e Queijarias relacionado com o tempo	40
Tabela 19: Teste do Qui-Quadrado para <i>E.coli</i> nas duas Queijarias relacionado com os anos	42
Tabela 20: Relação de associação entre <i>E.coli</i> e Queijarias relacionados com os anos	43
Tabela 21: Teste do Qui-Quadrado para <i>Staphylococcus</i> nas duas Queijarias relacionado com os anos	44
Tabela 22: Relação de associação entre <i>Staphylococcus</i> e Queijarias relacionados com os anos	44
Tabela 23: Teste do Qui-Quadrado para <i>Salmonella</i> nas Queijarias relacionado com os anos	45
Tabela 24: Relação de associação entre <i>Salmonella</i> e Queijarias relacionado com os anos	45
Tabela 25: Teste do Qui-Quadrado para <i>Listeria monocytogenes</i> nas Queijarias relacionado com os anos	46
Tabela 26: Relação de associação entre <i>Listeria monocytogenes</i> e Queijarias relacionado com os anos	46

Análise estatística de dados microbiológicos de queijos elaborados a partir de leite cru.

Laura Isabel Nave Canelo

Trabalho de Fim de Curso – Engenharia Biológica e Alimentar

Setembro de 2008

Resumo

Neste trabalho foram analisados parâmetros microbiológicos tais como, *Escherichia coli*, *Staphylococcus coagulase positiva*, *Salmonella* spp, *Listeria monocytogenes*, de duas queijarias, das quais se recolheram 102 registos de análises realizadas durante 5 anos na empresa Aquimisa, Consultores Agro Industriais Lda, em Castelo Branco.

Também foram realizadas visitas às queijarias em estudo de modo a permitir explicar os resultados obtidos. Toda a metodologia de análise microbiológica foi observada no laboratório permitindo assim uma visão mais ampla de como na prática são obtidos os resultados recolhidos.

A análise destes parâmetros foi realizada com a ajuda do programa de software estatístico SPSS 16.0, que permitiu aferir sobre a relação de dependência ou não entre os parâmetros microbiológicos em relação às queijarias estudadas, ao tempo e ao ano em que decorreu cada análise.

Através dos resultados obtidos foi possível concluir que ainda há muito a fazer a nível de segurança alimentar e que as práticas de higiene durante o processo de fabrico não estão a ser aplicadas correctamente. Foram também mencionadas algumas melhorias e ideias que poderão ser úteis para melhorar resultados observados.

Palavras-chave: segurança alimentar, microrganismos, análise estatística.

Abstract

In this work, microbiological parameters have been analyzed such as, *Escherichia coli*, *Staphylococcus* coagulase positive, *Salmonella* spp, *Listeria monocytogenes*, of two cheese factories, from which 102 analyses registrations, realized during 5 years in the Aquimisa Consultores Agro Industriais Lda, in Castelo Branco, have been recollected.

Visits to the cheese factories under study have also been realized in order to permit the explanation of the obtained results. All the methodology of the microbiological analysis has been observed in the lab allowing thus a wider vision of how in practice the collected results are obtained.

The analysis of the parameters has been realized with the help of the statistic SPSS 16.0 software program, which allowed comparing on the relation of dependence or not between the microbiological parameters in relation with the studied cheese factories in the time and the year in which occurred each analysis.

Through the collected results, it has been possible to exclude that there is yet many things to do at the food safety level and that the hygiene practices during the manufacture process are not being applied correctly.

Some improvements and ideas have been also mentioned and they will be able to be useful to improve observed results.

Key-words: food security, microorganisms, statistical analysis.

Lista de abreviaturas

Fen – Fenilalanina

h- horas

Hr – Humidade relativa

l – litros

Met – Metionina

min- minutos

ml – mililitro

°C – Graus célsius

p – significância ou probabilidade limite do teste

pH – potencial hidrogeniônico

Phi - estatística Phi do grau associação no teste do qui-quadrado

α - nível de significância usado na decisão estatística do teste

χ^2 - estatística do teste Qui-Quadrado de Pearson

I – Introdução e Objectivos

Algumas razões fundamentais serviram de motivação para este trabalho.

A primeira, baseia-se no facto da importância que a segurança alimentar tem nos dias de hoje, sendo fundamental aferir sobre o estado microbiológico dos alimentos devido à toxicidade que podem causar quando contaminados.

A segunda, atenta na existência de poucos trabalhos publicados sobre a evolução da comparação de variações de resultados microbiológicos ao longo do tempo em queijos elaborados a partir de leite cru de diferentes queijarias.

Em terceiro lugar, também se estudaram associações estatísticas entre os resultados dos parâmetros em análise, em função do ano, tempo e queijaria. Tentou-se, assim, observar as variações ocorridas nos vários parâmetros microbiológicos em função destas variáveis, dado o interesse destas para a explicação de muitos resultados não satisfatórios que possam surgir em análises efectuadas por empresas de controlo alimentar, como é o caso, e assim poderem oferecer uma mais-valia aos seus clientes com uma explicação mais detalhada de onde possam advir certos resultados que dá origem, muitas vezes, à rejeição de um lote de queijos que pode trazer prejuízos não desejados aos fabricantes. É também importante salientar, que o processo de fabrico tem muita influência nos parâmetros microbiológicos analisados.

Convém ainda aqui assinalar, que o ideal teria sido obter resultados dos leites que deram origem aos queijos em análise, mas neste caso é bastante complicado pois não se sabe se os resultados das análises dos leites registados na empresa de controlo alimentar, foram os que deram origem aos queijos analisados. Isto seria um trabalho interessante a desenvolver futuramente numa unidade de produção fabril em que se acompanhasse toda a produção desde a matéria-prima até ao produto final e assim poder comparar os resultados e fazer uma análise bastante mais detalhada.

De referir, também, que teria sido interessante dispor de uma série mais longa de observações (mais anos), regularmente distribuídas ao longo do ano, de modo a poder-se efectuar uma análise que evidenciasse alguma hipotética variabilidade sazonal, utilizando a metodologia das séries temporais.

II – Aspectos gerais

1. O leite como matéria-prima para o fabrico de queijo

A composição do leite varia com a componente genética do animal (raça e indivíduo), a alimentação, o clima, o estado sanitário e fisiológico, a ordenha e posteriores condições de manipulação e conservação. A adopção de um conjunto de medidas que promovam a correcta manipulação do leite desde a sua produção até à sua conservação e posterior utilização, a escolha de uma alimentação adequada e a selecção e o melhoramento da raça produtora, são alguns dos pontos fundamentais onde a intervenção humana pode fazer-se sentir, com vista à obtenção de uma matéria-prima de qualidade assegurada (Martins, 2001, cit. Sanchez, 2004).

1.1. Variações na composição do leite

Segundo Scott (1991), as variações na composição (em média) do leite de distintas espécies é muito grande (tabela 1) e se o procedimento de elaboração do queijo não se ajusta adequadamente ao longo do ano às variações estacionais e à composição do leite pode haver grandes dificuldades durante a elaboração de queijo.

Tabela 1: Composição média do leite de diversos animais (%).

Espécie	Gordura	Caseína	Lactose	Proteína
Vaca	3.8	3.0	4.8	3.2
Cabra	6.0	3.3	4.6	2.8
Ovelha	9.0	4.6	4.7	5.5

Fonte: Scott, 1991 e Mahaut *et al* 2000, cit. por Peixeiro, 2005.

Neste trabalho, os dados em análise referem-se a queijos elaborados a partir de leite cru de ovelha e cabra e quando se faz referência a queijo de mistura este é elaborado apenas com o leite proveniente destas duas espécies.

1.1.1. Algumas características do leite de Ovelha

O leite de ovelha distingue-se dos restantes tipos de leites por aspectos característicos, nomeadamente a cor branca nacarada (porcelana), a opacidade mais marcada e a viscosidade mais elevada. Este leite, em relação aos leites de vaca e cabra, possui uma maior resistência à proliferação microbiana nas primeiras horas após a ordenha, que é justificada pela actividade imunológica do próprio leite e pelo seu poder tampão, o que constitui uma característica vantajosa em termos de

conservação. Os teores de matéria gorda e proteína são superiores (como é possível verificar na tabela 1), o que vai dar origem a coalhadas mais firmes e rendimentos queijeiros superiores (Peixeiro, 2005).

1.1.2. Algumas características do leite de cabra

O leite de cabra apresenta, como característica peculiar, uma coloração branco-malte, contrariamente ao leite de vaca, devido à ausência de β -caroteno, razão pela qual a manteiga de cabra é branca. Além disso, possui um sabor e um cheiro “*sui generis*”, conferidos em parte pelos ácidos gordos de cadeia curta, cáprico, caprílico e capróico, presentes em maior proporção no leite de cabra (Sanchez, 2004).

As variações na composição deste tipo de leite são mais acentuadas, pois são considerados leites individuais, atenuando-se o efeito em leites de grandes misturas, principalmente no caso do leite de pequenos ruminantes. Este facto verifica-se, essencialmente, devido a não existir uma normalização das condições de produção de leite de cabra, com um baixo nível tecnológico, à qual se associa uma maior diversidade de raças produtoras e o diminuto grau de apuramento genético da raça com vista à produção de leite, como ocorre no caso das vacas leiteiras (Vieira de Sá, 1990, cit. por Sanchez, 2004), designadamente no nosso País.

Todos estes factores irão contribuir, em maior ou menor extensão, para a obtenção de um leite com composição físico-química bastante variável e de qualidade higiénico-sanitária deficiente, apresentando características extremamente penalizadoras em termos de fabrico de queijo, como, por exemplo, o pH muito baixo e a acidez excessiva, problemas associados ao leite que contribuem fortemente para a má qualidade e para a variabilidade observada no produto final (Sanchez, 2004).

O pH do leite de cabra oscila entre 6,5 e 6,7. No entanto, é importante ter em atenção o facto do leite armazenado durante um determinado período de tempo, mesmo refrigerado, apresentar valores mais baixos de pH, devido ao desenvolvimento da acidez por acção microbiana (Sanchez, 2004).

Em relação à acidez, o leite de cabra, obtido em boas condições de higiene e de animais sadios, apresenta, em média, valores ligeiramente inferiores ao do leite de vaca, 13 a 15 ml de NaOH/l de leite contra 16 a 18 ml de NaOH/l de leite, respectivamente. Sendo a acidez do leite o resultado do somatório da acidez natural, relacionada com o teor de proteína (caseínas) e de sais minerais presentes no leite e a acidez desenvolvida por acção da flora microbiana, os valores de acidez mencionados anteriormente podem vir a sofrer um acréscimo considerável, nomeadamente se não

se assegurarem um conjunto de medidas que previnam a contaminação e o desenvolvimento dos microrganismos (Le Jaouen, 1977, cit. por Sanchez, 2004).

Aliada à elevada digestibilidade, encontra-se o excelente valor nutricional do leite de cabra, conferido pelas características particulares das suas fracções proteica e lipídica, nomeadamente no que se refere à menor dimensão dos glóbulos de gordura, com predominância de ácidos gordos de cadeia curta e ao elevado valor biológico das proteínas, quando comparado com o leite de outras espécies (Sanchez, 2004).

Apesar de, neste trabalho, não ter sido possível obter dados dos leites destinados ao fabrico dos queijos a analisar, é de extrema importância a referência às suas características pois este pode conter determinados defeitos ou sofrer alterações, com incidência directa no processo tecnológico de fabrico de queijo e, consequentemente, na qualidade do produto final.

De um modo geral, os defeitos são definidos como modificações das características organolépticas, nomeadamente a nível do odor, do sabor e da cor, que se verificam no leite logo após a ordenha, devido a alterações nos seus componentes, por razões fisiológicas (Mestas, 1988, cit. por Sanchez, 2004).

Torna-se bastante útil o estabelecimento dos principais defeitos que podem surgir no leite de fabrico, de modo a permitir não somente a actuação *a posteriori* sobre os potenciais efeitos destes mas, fundamentalmente, o estudo das causas directas destes defeitos, que se prendem essencialmente com o animal, as condições de produção e conservação do leite (Le Jaouen, 1977, cit. por Sanchez, 2004).

2. Tecnologia de fabrico

As tecnologias de fabrico dos diferentes queijos tradicionais revelam muitos aspectos comuns, podendo agrupar-se segundo alguns factores específicos, entre os quais podemos citar o tipo de coagulante, 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 (Martins *et al*, 2002).

Como nas tecnologias tradicionais o leite é coagulado sem que praticamente se verifiquem variações de acidez ou pH até à cura, o “meio/queijo em fresco” não é selectivo, e os únicos elementos que, em geral, variam são os teores em humidade, em intervalos também muito pouco selectivos, mas fundamentais para a definição das características finais. Nestas condições, a evolução do queijo vai depender fundamentalmente dos agentes de transformação, que são a proporção residual de coagulante e os microrganismos, e, em sequência, do carácter mais ou menos selectivo da evolução do próprio queijo ao longo da cura. Nesta, a acidificação, a diminuição do pH e a neutralização da pasta são, provavelmente, os processos mais selectivos relativamente ao controlo ou determinação da actividade microbiana e enzimática (Martins *et al*, 2002).

A estes factores, há ainda que acrescentar as condições ambientais em que a cura decorre, especialmente a temperatura, factor muito importante para a actividade microbiana, a velocidade de circulação do ar e a humidade relativa dentro das câmaras, como agentes condicionantes da indução ou da limitação da flora microbiana de superfície, desejável ou indesejável consoante o tipo de queijo (Martins *et al*, 2002).

2.1. Etapas do processo de fabrico

2.1.1. Recepção do leite

O leite cru é descarregado na recepção. Antes do leite ser armazenado nos tanques deveriam ser realizadas primeiro as análises físico-químicas (como por ex: acidez, inibidores, etc), mas na prática isso raramente acontece pois levaria a um retardamento do início do processo de fabrico. Caso se detecte, por exemplo, a presença de antibiótico num leite que já foi para o fabrico o lote de queijos produzidos com esse leite será rejeitado, sendo portanto um prejuízo bastante elevado.

Também é de muita importância verificar o teor de matéria gorda e proteína de forma a obter o máximo rendimento e as características desejadas.

2.1.2. Coagem do leite

A coagem do leite constitui uma medida extremamente importante para a qualidade e segurança do queijo; não só remove a sujidade e as impurezas, mas sobretudo reduz a quantidade de microrganismos presentes no leite (Pintado *et al*, 2003).

Nesta fase, o leite passa por um pequeno tanque, que leva o leite até à clarificadora para filtrar.

2.1.3. Aquecimento

O aquecimento do leite destinado ao fabrico deste tipo de queijos tem como objectivo impedir o crescimento das bactérias e é realizado a baixas temperaturas (25 – 35°C) a fim de não afectar o sabor ou aroma e deste modo, prejudicar o processo de fabrico.

2.1.4. Coagulação

Nesta fase é adicionado ao leite o coalho e sal. O coalho é um dos ingredientes mais importantes no fabrico do queijo, sem o qual a maioria dos queijos não pode ser fabricado. Este que pode ser líquido ou em pó, é um conjunto de compostos proteicos naturais que tem a propriedade de alterar as proteínas do leite e transformá-las em coalhada (Pintado *et al*, 2003).

A acção do coalho vai também exercer uma acção importante durante a cura, ao promover a quebra de algumas proteínas e assim contribuir para a definição da textura e do sabor. Um dos cuidados fundamentais, é o conhecimento da “força coagulante” do coalho. O poder coagulante deve ser previamente testado, assim como os riscos de transmissão de sabores amargos ao queijo. Após a adição do coalho, inicia-se imediatamente a coagulação do leite (Pintado *et al*, 2003).

A coagulação resulta de um conjunto de modificações físico-químicas que se processam a nível das micelas de caseína, induzidas por acidificação (coagulação por acidificação) e/ou pela acção de enzimas proteolíticas (coagulação enzimática), que promovem a passagem do leite do estado líquido a um estado semi-sólido, denominado de gel ou coágulo, sendo o fenómeno central do processo tecnológico de fabrico do queijo (Sanchez, 2004).

No processo de coagulação por acidificação as caseínas precipitam, devido à aproximação do pH do ponto isoelétrico (pH - 4,6). Verifica-se, essencialmente, uma neutralização das cargas negativas da micela de caseína e do potencial de superfície (repulsões electrostáticas), a diminuição do poder sequestrante das caseínas α e β e um aumento progressivo da solubilidade dos iões cálcio e fosfato de cálcio das micelas para a fase aquosa. Esta desmineralização conduz à desagregação das micelas de caseína nas suas subunidades, formando-se uma rede proteica insolúvel, de elevada friabilidade, sendo pouco resistente a tratamentos físicos e/ou mecânicos (Sanchez, 2004).

A coagulação enzimática compreende fundamentalmente duas reacções: a hidrólise da caseína k (Fen 105 - Met 106) – fase primária ou enzimática e a agregação das micelas modificadas – fase secundária ou de coagulação. Estas modificações físico-químicas das micelas de caseína são promovidas por acção de enzimas proteolíticas, conduzindo à formação de uma rede proteica denominada de coágulo ou gel (Sanchez, 2004).

Em suma, o que acontece nesta fase, é o “corte” da caseína pelas enzimas do coalho, ou seja, a caseína cortada tem tendência a juntar-se, formando uma “rede” que é a coalhada.

Segundo Scott (1991) e Robinson (1987), há que ter em conta, entre outros, vários factores que podem influenciar as características da coalhada. Se a agitação do leite antes da adição do coalho for insuficiente pode produzir-se a separação da nata, o que pode provocar que parte se perca no soro durante o dessoramento. Pelo contrário, uma agitação excessiva e prolongada pode provocar a destruição dos primeiros grânulos de coalhada, impedindo portanto, a solidificação do coágulo o que provoca perda de gordura para o soro. Assim, a quantidade de coalho utilizada, a temperatura e acidez do leite influenciam na firmeza do coágulo e na textura da coalhada, o que é fundamental para o fabrico dos diversos tipos de queijo.

2.1.5. Corte da coalhada

Tem por objectivo facilitar a saída do soro com o mínimo de perdas de proteína e gordura. O corte é feito por facas especiais chamadas liras, que podem cortar a coalhada verticalmente e/ou horizontalmente e devem estar isentas de qualquer tipo de ferrugem ou qualquer outra característica que possa contaminar a coalhada (Pintado *et al*, 2003).

O tipo e tempo de corte conduz a diferentes tipos de queijo. Quanto maior a duração e quanto mais pequenos forem os fragmentos da coalhada maior o dessoramento e menor a humidade do queijo resultante (Pintado *et al*, 2003).

2.1.6.Dessoramento

Operação que consiste na separação do soro da coalhada, após ruptura mecânica do gel, de modo a conseguir-se um produto moldável mas que mantenha a forma que se pretende, e que apresente condições mínimas de conservação, permitindo a evolução controlada e controlável durante a maturação. A quantidade de soro libertado, bem como as suas características qualitativas, dependem das características do gel e variam consoante o tipo de queijo que se pretenda obter (Sanchez, 2004).

2.1.7.Enchimento e moldagem

Após o dessoramento, a massa de coalhada é colocada em moldes para dar ao queijo a sua forma final. A massa é espremida lentamente. A moldagem no cincho é uma das fases em que cada queijaria poderá dar o seu “toque pessoal” ao queijo. A experiência adquirida permite saber quando é que a massa já está dessorada “quanto baste” (Pintado *et al*, 2003).

Também aqui o material utilizado deve estar em perfeitas condições de higiene para não contaminar o produto (Pintado *et al*, 2003).

2.1.8.Prensagem

Serve sobretudo para melhorar a consistência, a textura e a forma do queijo eliminando completamente o excedente de soro. A prensagem pode ser feita por mera colocação de pesos ou por acção pneumática. As pressões aplicadas são menos intensas no caso dos queijos mais brandos. Em alguns casos não se aplica a prensagem, deixando o queijo no molde apenas sujeito à acção do próprio peso. O local da prensagem deve ser fresco. Todo o material utilizado deve estar em boas condições higiénicas (Pintado *et al*, 2003).

2.1.9.Salga

A salga destina-se a evitar que o queijo se deteriore e a transmitir o sabor final. Existem vários métodos de salga, tais como a aplicação directa na massa, aplicação

directa no queijo, colocação do queijo em salmoura ou uma mistura dos dois últimos métodos (Pintado *et al*, 2003).

No processo de salga na massa, a mistura de sal é feita antes da massa ser colocada nos moldes. Em salmoura, o queijo moldado é imerso numa solução salina para incorporação do sal (tempo de salmoura é condicionado pelo tamanho do queijo e pela concentração final de sal pretendida). Na salga directa, o queijo é coberto com grãos de sal sendo este absorvido lentamente, enquanto que na salga mista, o queijo é primeiro mergulhado em salmoura e depois coberto com sal sólido. Dos processos acima referidos, o mais comum, é a imersão em salmoura. É necessário todo o cuidado no manuseamento e escolha do sal para que este não contamine o queijo, conforme descrito anteriormente (Pintado *et al*, 2003).

2.1.10.Cura

Transmite o aroma, sabor e textura final ao queijo. A crosta vai-se formando e há um “mastigar” da proteína pelo cardo/coalho e pelos microrganismos, que também atacam a gordura. O controlo da temperatura e da humidade é importante por razões microbiológicas e para a formação da casca. A mudança de panos (se for o caso) e/ou as viragens dos queijos devem ser feitos de acordo com o tipo de queijo, evitando assim a acidificação das faces ou a deformação do produto (Pintado *et al*, 2003).

As câmaras de cura devem ter condições de temperatura, humidade e ventilação controladas de acordo com a variedade de queijo a produzir. O tempo de cura varia de acordo com o tipo de queijo podendo ir desde algumas semanas até períodos superiores a um ano. Durante este processo, os queijos podem ser virados periodicamente com o fim de obter uma cura uniforme do produto. 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. A maturação dos queijos em ambiente controlado é, por norma, mais lenta do que a cura natural. As mudanças bruscas de temperatura e humidade são prejudiciais nesta etapa e por isso é fundamental controlar estas variáveis (Pintado *et al*, 2003).

2.1.11.Expedição/Embalagem

Normalmente os queijos tradicionais não são embalados, sendo apenas colocado o rótulo e posteriormente colocados em caixas de cartão, e plástico que

asseguram a sua protecção e acondicionamento durante o transporte, garantindo assim, a qualidade e segurança do produto.

Muitos dos resultados analisados neste trabalho, poderão ter influência no modo de fabrico que cada uma das queijarias em análise utiliza, sendo influenciados pelas condições em que cada uma destas etapas decorre.

3. Diferenças observadas nas tecnologias de fabrico das queijarias em estudo

Como se pode observar na figura 1 os diagramas são muito semelhantes, mas como se vai poder notar a seguir existem algumas diferenças no modo de fabrico das duas queijarias, que de maneira directa ou indirecta influenciam os resultados que se vão poder verificar mais à frente.

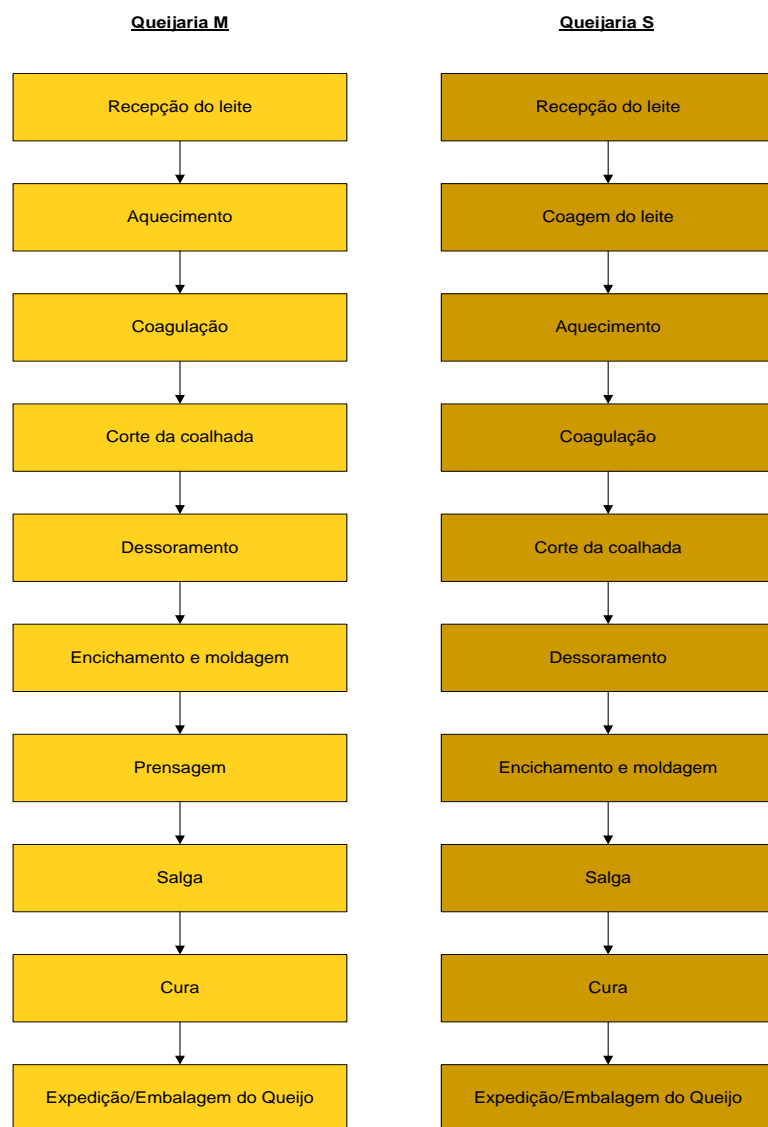










Figura 1: Diagrama de fabrico das queijarias M e S.

Tabela 2: Diferenças e semelhanças entre o processo de fabrico da queijaria M e S.

	Queijaria M	Queijaria S	Fotografias da M	Fotografias da S
Recepção do leite	<p>-O leite é recebido a temperaturas entre 4°C a 5°C.</p> <p>-Caso o leite não seja logo laborado é mantido em depósitos a 4-5°C não mais de 24°C.</p>	<p>-O leite é recebido a temperaturas entre 4°C a 5°C.</p> <p>-O leite passa por um pequeno tanque que leva o leite até à clarificadora (filtrar).</p>	 <p>Figura 2: Depósitos de leite da queijaria M.</p>	 <p>Figura 3: Tanque de passagem do leite da queijaria S.</p>  <p>Figura 4: Depósitos de leite da queijaria S.</p>
Coagem do leite	<p>-A coagem do leite é realizada por um pequeno filtro e um pano na entrada da cuba, quando o leite é descarregado para os depósitos – razão pela qual não foi referenciada esta etapa</p>	<p>-É realizada numa clarificadora que permite a redução da sujidade e impurezas e a redução de microrganismos.</p> <p>-Após esta fase, caso o leite não seja logo laborado é mantido no frio, passando por um arrefecedor de água</p>		 <p>Figura 5: Depósitos e arrefecedor de água gelada da queijaria S.</p>

	no diagrama, pois comparada com a empresa S a coagem do leite é pouco eficaz.	gelada e, armazenado em depósitos de 10000l, não mais de 24h, a uma temperatura de 3°C a 4°C.		
Aquecimento	-O leite é aquecido por um pasteurizador até atingir a temperatura de 30 a 31°C	-O leite é aquecido por um pasteurizador até atingir a temperatura de 30 a 31°C	 <p>Figura 6: Pasteurizador da queijaria M.</p>	 <p>Figura 7: Pasteurizador da queijaria S.</p>
Coagulação	<p>-Utiliza-se coalho animal em pó.</p> <p>-Ocorre durante 30-40 min à temperatura de 26 a 28°C e não se controla o pH.</p> <p>-A coalhada é limpa com um pano para retirar resíduos.</p>	<p>-Utiliza-se coalho animal em pó.</p> <p>-Ocorre durante 45 min à temperatura de 29 a 30°C e não se controla o pH.</p>	 <p>Figura 8: Cuba da queijaria M.</p>	 <p>Figura 9: Cuba da queijaria S.</p>

Corte da coalhada	-É realizado de forma vertical e horizontal.	-É realizado por liras verticais, durante 1 min e tem forma quadrada. -No inverno o corte é realizado por mais tempo para a coalhada ficar mais consistente.
--------------------------	--	---

Dessoramento	-O soro não é aproveitado.	-O soro é aproveitado.
---------------------	----------------------------	------------------------



Figura 10: Dessoramento da queijaria S.





Enchimento e moldagem	-A moldagem é realizada à mão e o enchimento é realizado em formas envolvidas por um pano.	-A moldagem é realizada à mão e o enchimento é realizado em cinchos.
------------------------------	--	--







Figura 11: Enchimento e moldagem da queijaria M.



Figura 12: Enchimento e moldagem da queijaria S.

Prensagem	<p>-O queijo fica 3h na prensa. Posteriormente é aparado e coloca-se anti-fúngico.</p>	<p>-Não há prensagem.</p>		<p>Figura 13: Prensagem na queijaria M.</p>
Salga	<p>- Realizado manualmente, aplicando o sal directamente na massa.</p>	<p>-É realizada manualmente, aplicando o sal directamente na massa.</p>		
Cura	<p><u>-1ªCâmara:</u> o queijo permanece 8 dias à temperatura de 8º a 10ºC e a uma Hr de 80-90.</p> <p><u>-2ªCâmara:</u> o queijo permanece ±15 dias, à temperatura de 8 a 10ºC e a uma Hr de 80-</p>	<p><u>- 1ªCâmara:</u> é de choque para que tornar a azedagem do queijo mais lenta. O queijo permanece um dia à temperatura de 9 a 11ºC.</p> <p><u>-2ªCâmara:</u> o queijo permanece 8 dias, à temperatura de 10,5 a</p>		<p>Figura 14: 1ªCâmara de cura da queijaria M.</p>
				<p>Figura 15: 2ªCâmara de cura da queijaria M.</p>
				<p>Figura 16: 1ªCâmara de cura da queijaria S.</p>

Cura	90.	12,5°C e a uma Hr de 82-85.		
	<p><u>-3ª Câmara:</u> o queijo permanece 1 dia, à temperatura de 10°C e a uma Hr de 70.</p> <p><u>-4ª Câmara:</u> o queijo permanece nesta câmara até ir ser vendido, à temperatura de 10°C e a uma Hr de 70.</p>	<p><u>-3ª Câmara:</u> o queijo permanece 8 dias, à temperatura de 12 a 14°C e a uma Hr de 78-80.</p> <p><u>-4ª Câmara:</u> o queijo permanece 1 mês, à temperatura de 15°C e a uma humidade de 73.</p>		Figura 19: 3ª Câmara de cura da queijaria S.
Expedição/Embalagem	<p>-Faz-se uma lavagem 3 dias antes da expedição (única lavagem realizada depois da cura).</p>	<p>-Alguns queijos levam colorau.</p> <p>-A embalagem é realizada à mão, em</p>		Figura 20: Queijos prontos a ser embalados.

Expedição/Embalagem	<p>-A embalagem é realizada à mão, em caixas de cartão e coloca-se o rótulo em cada queijo.</p> <p>-O queijo de ovelha é cintado.</p> <p>-Alguns clientes vêm buscar as encomendas à fábrica, outras é a fábrica que faz a entrega.</p>	<p>caixas de plástico e coloca-se os rótulos em cada queijo.</p> <p>-Todos os clientes vêm buscar as encomendas à fábrica.</p>
Algumas Notas:	<p>-A temperatura ambiente da fábrica é a temperatura ambiente normal, ou seja, não é controlada é como se fosse a temperatura a que se encontra as nossas casas.</p>	<p>-A temperatura ambiente da fábrica é $\pm 15^{\circ}\text{C}$, não sendo, no entanto controlada.</p>

4.Características dos microrganismos associados aos queijos em estudo

A qualidade e a segurança dos alimentos constituem preocupações do consumidor actual. Os consumidores esperam que os alimentos que comprem e consomem sejam apetecíveis, nutritivos e ao mesmo tempo seguros. Este último aspecto significa que, os alimentos consumidos não podem colocar a saúde do consumidor em perigo (Pintado *et al*, 2003).

Os queijos e outros produtos derivados do leite, tal como todos os alimentos, têm que ser produtos seguros e, não menos importante, deverão ser reconhecidos como tal pelos consumidores. O fabrico do queijo contem regras bem definidas que não podem ser ignoradas, sendo de destacar o respeito pelos procedimentos de fabrico e maturação bem como os aspectos de higiene ao longo de todo o processo. A sanidade dos rebanhos, a ordenha higiénica, o licenciamento das queijarias e uma boa definição e controlo do processo de fabrico são alguns dos aspectos chave na produção de queijo (Pintado *et al*, 2003).

Como em qualquer outro produto, a segurança alimentar de um queijo pode ser ameaçada por três tipos distintos de contaminação: corpos estranhos, compostos químicos ou microrganismos indesejáveis. Qualquer uma destas contaminações deve ser evitada ao longo de toda cadeia de produção, distribuição e consumo (Pintado *et al*, 2003).

A contaminação microbiológica é a que contribui para um maior número de toxinfecções alimentares. Os alimentos, tanto de origem vegetal como animal, ao estarem expostos ao ambiente que os rodeia e em contacto com superfícies, contêm microrganismos – é a chamada contaminação inicial. Esta pode proceder do armazenamento, transporte, manipulação, transformação, etc., podendo, posteriormente, ocorrer a multiplicação dos microrganismos, dependendo das características do alimento e de factores ambientais. No grupo de microrganismos contaminantes incluem-se os que conferem características anormais ao produto assim como os patogénicos, ou seja, aqueles que podem provocar danos na saúde do consumidor. Em termos de segurança alimentar, são estes os que devem ser evitados de forma rigorosa durante todo o processo de fabrico dos queijos (Pintado *et al*, 2003).

Dentro dos microrganismos patogénicos, neste trabalho serão abordados apenas quatro, tendo em conta que os outros microrganismos patogénicos encontrados no queijo, são também de elevada importância. Assim, nesse trabalho vai

ser estudado a incidência de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* e *Listeria monocytogenes* presentes nos queijos elaborados com leite cru.

4.1. *Escherichia coli*

A *E.coli* pertence à família das *Enterobacteriaceae*. É um organismo gram (-), não esporulado, anaeróbio facultativo, umas espécies são móveis e outras não. Podem crescer a temperaturas compreendidas entre 4 e 46°C, sendo a sua temperatura ótima a 37°C, com um pH compreendido entre 4.6 e 9.5 (Eck, 1997).

Este organismo é um hóspede comum no intestino do homem e dos animais, sendo reconhecido como um organismo de contaminação fecal da água e dos alimentos. Segundo Eck (1997), divide-se em vários grupos de acordo com a sua virulência:

- *E.coli* enteropatogénica (EPEC), responsáveis por gastroenterites infantis.
- *E.coli* enterotoxinogénica (ETEC), responsável por diarreia abundante, desidratação acompanhada de náuseas, vômitos e dores abdominais muito fortes. A doença dura entre 3 a 19 dias e a dose infecciosa é de 10^8 a 10^{10} ufc/ml.
- *E.coli* enteroinvasivas, responsáveis por desentrites que se caracterizam por febres e diarreias com sangue e pus. A dose infecciosa é de 10^5 a 10^8 ufc/ml.
- *E. coli* enterohemorrágicas (EHEC), responsáveis por colites hemorrágicas com violentas dores abdominais, podendo originar insuficiências renais. A estirpe 0157:H7 é aquela que com mais frequência provoca diarreias hemorrágicas.

Segundo a Portaria nº 56/96 de 22 de Fevereiro, considera-se um nível satisfatório para valores de *E.coli* $\leq 10^3$ ufc/g, admissível entre $10^3 - 10^4$ ufc/g e não satisfatório $\geq 10^4$ ufc/g. A presença de *E.coli* indica muitas vezes faltas de higiene no manuseamento durante o processo de fabrico e selecção de matérias-primas de fraca qualidade.

4.2 .Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus é um microrganismo ubíquo que pertence à família das *Micrococcaceae* e contém 26 espécies. As bactérias do género *Staphylococcus* são cocos gram (+), agrupados em aglomerados ou pares, são anaeróbios facultativos, imóveis e com catalase (+) (Eck, 1997).

A sua temperatura de crescimento está compreendida entre 6 a 46°C (temperatura óptima de 37°C) com um pH compreendido entre 4 e 9,8 (pH óptimo entre 6 e 7), podendo suportar uma concentração de NaCl até 20% (Eck, 1997).

A contaminação por *S. aureus* tem duas origens: animal e humana. Na primeira via, são as mamites a principal causa de contaminação de leite cru por *S. aureus*, enquanto que a contaminação de origem humana, a mais frequente, é transmitida através de pessoas com infecções dermo-epidérmicas ou pessoas com boa saúde, mas portadoras de *S.aureus* nas fossas nasais ou na garganta. As toxinfecções alimentares provocadas por *S aureus* são caracterizadas por vômitos, náuseas e dores abdominais, que ocorrem durante 30 min, 8 h depois da ingestão (Eck, 1997).

Um tratamento térmico de 54-60°C durante 4 a 24 minutos pode destruir uma população de 10^6 ufc/ml de *S. aureus*. Pelo contrário, as suas enterotoxinas apresentam uma grande resistência ao calor e não são destruídas durante a pasteurização. Assim, caso os *S. aureus* se encontrem no leite após a pasteurização, pode ser devido a um número inicial muito elevado desta bactéria, devido a uma pasteurização mal realizada ou ainda devido a uma contaminação pós-pasteurização.

Segundo o regulamento (CE) 1441/2007 de 5 de Dezembro de 2007, considera-se um nível satisfatório para valores de *S. aureus* $\leq 10^4$ ufc/g, admissível entre $10^4 - 10^5$ ufc/g e não satisfatório $\geq 10^5$ ufc/g. A presença de *S. aureus* indica muitas vezes faltas de higiene no manuseamento durante o processo de fabrico e selecção de matérias-primas de fraca qualidade. Se se detectarem valores $> 10^5$ ufc/g, o lote de queijo deve ser testado para detecção de enterotoxinas estafilocócicas.

4.3.Salmonella spp

A *Salmonella* pertence à família das *Enterobacteriaceae*. São organismos gram (+), móveis, anaeróbios facultativos que se podem multiplicar a temperaturas entre 5 a 45°C (temperatura óptima a 37°C) e pH entre 4.5 a 9 (pH óptimo de 6.5-7.5) (Eck, 1997).

O reservatório mais importante das *Salmonellas* é o intestino dos animais, que através das suas matérias fecais, propagam-se pelo ambiente, solo e alimentos. Nos humanos podem causar gastroenterites que se caracterizam por dores abdominais, diarreias, náuseas, vômitos e febre. Os sintomas aparecem 12 a 24 h depois da ingestão do alimento e a doença dura 2-6 dias. A morte pode ocorrer em crianças, idosos e pessoas doentes (Eck, 1997).

A pasteurização é suficiente para destruir um número elevado de *Salmonellas*. Assim, segundo Eck (1997), a contaminação de queijos que sofrem pasteurização é uma contaminação pós-pasteurização. No entanto, segundo este autor, o crescimento e desenvolvimento de *salmonellas* durante o fabrico e cura do queijo é influenciado por múltiplos factores tais como, o pH que se for fraco, faz com que estas se multipliquem durante o fabrico e cura do queijo. Também a temperatura e o tempo de cura é um factor bastante importante durante para o desenvolvimento de *salmonellas* (Eck, 1997).

Segundo o regulamento (CE) 1441/2007 de 5 de Dezembro de 2007, deve estar ausente em 25g de produto pois é considerado um germe patogénico.

4.4. *Listeria monocytogenes*

É um ser ubíquo, constituído por bacilos gram (+), não esporulado, móvel com catalase (+) e oxidase (-). Este microrganismo multiplica-se a temperaturas compreendidas entre 1 a 45°C (temperatura óptima 30-37°C) e um pH entre 6 e 9 (pH óptimo 7). A *Listeria monocytogenes* é uma das 7 espécies do género *Listeria* (Eck, 1997).

A contaminação do leite cru pode fazer-se por duas vias: a via intramamária e a via extramamária. A contaminação pelo ambiente é a mais frequente e pode ocorrer através do solo, água matérias fecais, entre outros (Eck, 1997).

A *Listeria monocytogenes* é patogénica para o homem e atinge preferencialmente pessoas com sistema imunitário deficiente (grávidas, pessoas imunodeprimidas) e traduz-se por uma meningite, encefalite ou uma septicemia, sendo fatal em 50% dos casos (Eck, 1997).

A presença de *Listeria monocytogenes* no queijo é atribuída ao facto de estes serem muitas vezes fabricados com leite cru ou leite submetido a um tratamento térmico equivalente a uma pasteurização baixa, permitindo a respectiva sobrevivência

ou ainda, a contaminação pós-pasteurização (Zottola & Smith, 1991, cit. por Guerra e Bernado, 2001).

Uma pasteurização a 71-72°C durante 15 segundos é suficiente para eliminar *Listeria monocytogenes*. Logo, a sua contaminação pós-pasteurização pode ser devido ao material utilizado durante o fabrico e à manipulação por pessoas. É também importante referir que o pH é um aspecto de extrema importância durante o processo de fabrico, pois este favorece o crescimento de *Listeria monocytogenes* (Eck, 1997).

Segundo o regulamento (CE) 1441/2007 de 5 de Dezembro de 2007, deve estar ausente em 25g de produto pois é considerado um germe patogénico.

III – Material e Métodos

1. Caracterização da empresa

Este trabalho decorreu na empresa Aquimisa, Consultores Agro Industriais Lda, em Castelo Branco, onde se procedeu à recolha de dados desde 2003 a 2007 de duas queijarias, para avaliação de quatro parâmetros microbiológicos (*E.coli*, *Staphylococcus coagulase positiva*, *Salmonella* e *Listeria monocytogenes*), que são de elevada importância para a indústria alimentar. Também foram observados os procedimentos analíticos utilizados no laboratório de análises microbiológicas da empresa em questão, para determinação destes parâmetros, bem como realizadas visitas às queijarias em estudo, para assim se poder proceder a uma análise mais detalhada dos resultados observados.

A Aquimisa Castelo Branco, tem instalações próprias na Rua Ruivo Godinho, Nº 26, em Castelo Branco e é uma delegação da Aquimisa S. L., com sede em Salamanca (Espanha). É uma empresa de Consultoria Agro-Industrial e Laboratório de Análises para a prestação de Serviços de Assistência e Controlo de Qualidade a todas as Empresas Agro-Industriais, qualquer que seja a sua projecção e actividade, que estejam sensibilizadas para as Normativas estabelecidas pela U.E. e pretendam ajuda e colaboração exterior por carecerem de meios e serviços próprios. O objectivo é apoiar o sector Agro-Alimentar, ajudando-o a pôr em prática um processo de melhoria contínua, na Indústria alimentar, Hotéis, Escolas, Cattering, Restaurantes, Empresas de distribuição, Alimentação animal, Agricultura, etc. A Aquimisa tem a sua actuação nas diferentes áreas relacionadas com a Produção, Indústria e Distribuição alimentar, das quais se destacam:

- Diagnóstico de situação na indústria, implementação e acompanhamento de sistemas de Segurança Alimentar e da Qualidade: HACCP (Sistema Preventivo de Segurança Alimentar) e série ISO (Organização Internacional de Normalização).
- Implementação de Sistemas de Auto-controlo
- Assessoria e elaboração de Fichas Técnicas de produtos.
- Auditorias aos fornecedores.
- Informação sobre a legislação vigente e cumprimento da mesma.
- Assessoria na rotulagem de produtos segundo a legislação em vigor.

- Orientação para novas tecnologias de obtenção de melhor Qualidade dos produtos acabados.
- Desenvolvimento de "Fileiras".

2. Metodologia de laboratório

2.1. Método Horizontal para contagem de *Escherichia coli* presumíveis – ISO 16649 – 2: 2001

Para a determinação de *E.coli* num produto sólido, pesa-se x g do produto a analisar para um saco esterilizado e adiciona-se a 9.x ml de uma solução diluidora (neste caso, é usada água peptonada tamponada), homogeneizando-se num aparelho (Stomacher), obtendo-se assim, a suspensão inicial (10^{-1}).

A partir da suspensão inicial preparam-se as diluições decimais que se consideram necessárias. Posteriormente, procede-se à sementeira, em duplicado, transferindo-se 1ml da suspensão inicial para duas placas de Petri, repetindo-se a operação com as diluições seguintes. A seguir, adiciona-se a cada placa 15 ml do meio de cultura TBX (Tryptone-bile-glucuronic), arrefecido a 47°C e mistura-se cuidadosamente com o inóculo. Depois de completa a solidificação, as placas são invertidas e incubadas durante 18 a 24h, em estufa a 44°C. Após a incubação, contam-se as colónias de cada placa que contenham menos de 150 colónias características e menos de 300 no total. Para calcular o número N de microrganismos por g de produto, sob a forma de média ponderada a partir de duas diluições sucessivas efectua-se através da seguinte forma:

$$N = \frac{\sum a}{V(n_1 + 0,1n_2)d}$$

em que,

$\sum a$ - é a soma de todas as colónias, contadas em todas as placas de duas diluições sucessivas e que contenham, pelo menos, uma delas 15 colónias.

V – volume do inóculo colocado em cada placa, em ml.

n_1 – é o número das placas contadas na primeira diluição.

n_2 – é o número das placas contadas na segunda diluição.

d – é a diluição a partir da qual se obtiveram as primeiras contagens.

As colónias características de *E.coli* – β – glucoronidase (+) são azuis.

2.2. Contagem de *Staphylococcus coagulase positiva* – ISO 6888-2: 1999

Para a determinação de *Staphylococcus coagulase-positiva* num produto sólido, pesa-se x g do produto a analisar para um saco esterilizado e adiciona-se a 9.x ml de uma solução diluidora (neste caso, é usada água peptonada tamponada), homogeneizando-se num aparelho (Stomacher), obtendo-se assim, a suspensão inicial (10^{-1}).

A partir da suspensão inicial preparam-se as diluições decimais que se consideram necessárias. Posteriormente, procede-se à sementeira, em duplicado, transferindo-se 1ml da suspensão inicial para duas placas de Petri, repetindo-se a operação com as diluições seguintes às quais se adiciona o meio de cultura RPF (Rabbit plasma fibrinogen), arrefecido a $48 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e mistura-se cuidadosamente com inóculo. Após solidificação completa do meio, colocam-se as placas invertidas durante 48h, na estufa a 35 ou 37°C. Após as 48h de incubação, seleccionam-se as placas que não contêm um máximo de 300 colónias, com 100 colónias características, em duas diluições sucessivas, sendo necessário, que uma das placas contenha pelo menos 15 colónias. Para calcular o número N de microrganismos por g de produto, sob a forma de média ponderada a partir de duas diluições sucessivas efectua-se através da seguinte forma:

$$N = \frac{\sum C}{V(n_1 + 0,1n_2)d}$$

em que,

\sum^a - é a soma das colónias características contadas nas placas das diluições escolhidas.

V – volume do inóculo colocado em cada placa, em ml.

n_1 – é o número das placas contadas na primeira diluição.

n_2 – é o número das placas contadas na segunda diluição.

d – é a diluição a partir da qual se obtiveram as primeiras contagens.

As colónias características de *Staphylococcus coagulase positiva* são pretas, cinzentas ou mesmo brancas rodeadas de um halo de precipitação, indicando actividade de coagulase.

2.3. Pesquisa de *Salmonella* spp – ISO 6579: 2002

Para a pesquisa de *Salmonella* pesa-se 25g de um produto sólido para 225ml de água Peptonada tamponada (meio de pré-enriquecimento) e incuba-se a suspensão-mãe a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante $18\text{h} \pm 2\text{h}$.

Posteriormente, semeia-se a cultura obtida, após a incubação de $18\text{h} \pm 2\text{h}$, em dois meios líquidos de enriquecimento selectivo: 1ml de cultura para 10ml de meio de enriquecimento selectivo Muller Kauffmann (M-KTT) (com 0,2ml solução de iodo + 80 µl de novobiocina) e 0,1ml de cultura para 10ml do meio de enriquecimento selectivo Rappaport Vassiliadis Soja (RVS). Os tubos que contêm M-KTT vão incubar a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante $24\text{h} \pm 3\text{h}$ e os tubos que contêm RVS vão incubar a $41,5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante $24\text{h} \pm 3\text{h}$. Após a incubação, faz-se um isolamento à superfície em placas com os meios de cultura XLD (Xylose lysine deoxycholate agar) e Rambach e realiza-se nova incubação a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante $24\text{h} \pm 3\text{h}$. De seguida, examinam-se as placas. As colónias características do meio XLD são vermelhas com um centro negro. As colónias características do meio Rambach são vermelhas carmim.

Para a confirmação, escolhem-se 5 colónias características de cada uma das placas dos 2 meios selectivos e repicam-se para placas de agar nutritivo, incubando-se, posteriormente, a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante $24\text{h} \pm 3\text{h}$. Posteriormente, realiza-se o teste da oxidase para detectar a presença ou ausência de citocromo oxidase. A *Salmonella* é oxidase negativa. A seguir pesquisa-se a aglutinação (+), através de um teste rápido (Latex oxioid) e confirma-se a presença de *Salmonella* com um API 20 E, durante 24h a 37°C . Por fim, realiza-se a prova sereológica através de um teste rápido de soro polivalente.

2.4. Pesquisa de *Listeria monocytogenes* – metodologia interna

Para a pesquisa de *Listeria monocytogenes*, pesa-se 25g de um produto sólido para 225ml de meio base Fraser – demi e incuba-se na estufa a 30°C durante $24\text{h} \pm 2\text{h}$. Após a incubação, transfere-se 0,1ml da cultura obtida para um tubo de ensaio com 10ml do meio de enriquecimento secundário Fraser. Depois vai incubar durante 24h a 37°C . A cultura de enriquecimento secundário é semeada à superfície do meio de isolamento selectivo Oxford (OXF) e à superfície do meio de isolamento selectivo Palcam (PAL). As placas semeadas são incubadas durante 48h a 37°C . As colónias típicas de *Listeria monocytogenes* em meio Oxford são acinzentadas com reflexos

esverdeados, rodeadas de um halo negro e em meio Palcam, são verde-acinzentadas com um halo e centro de cor preta.

Para a confirmação, seleccionam-se 5 colónias suspeitas de cada placa e realiza-se uma sementeira por picada em agar sangue. Incubam-se as placas a 37°C durante 24h \pm 2h, tendo o cuidado de inocular sempre, culturas de controlo positivo e negativo. Posteriormente, para confirmação, é realizado um API *Listeria*.

3. Análise estatística

O uso da análise estatística serve fundamentalmente para inferir qualidades das populações a partir de amostras recolhidas com critérios bem definidos. Existe uma série de testes estatísticos que podem auxiliar os investigadores nos seus estudos, fornecendo resultados científicos credíveis e aceitáveis no meio científico.

Os dados recolhidos pela empresa de controlo alimentar não são susceptíveis de ser tratados por nenhuma técnica paramétrica, uma vez que são mensurados em escala nominal (Siegel, 1956; Zar, 1999)

A estatística não-paramétrica representa um conjunto de ferramentas de uso mais apropriado em estudos onde não se conhece bem a distribuição da população e dos seus parâmetros. Esse eventual desconhecimento da população reforça o estudo e a importância da análise de estudos através dos testes não-paramétricos.

As afirmações produzidas pelas provas estatísticas não-paramétricas não dependem da forma da distribuição da população da qual se extraiu a amostra aleatória (Siegel, 1956).

As provas não-paramétricas apenas permite ao pesquisador determinar se um indivíduo possui maior ou menor quantidade de uma característica que se estuda sem, entretanto poder dizer realmente quanto mais ou quanto menos essa característica está presente. Por exemplo, ao estudar uma variável como a E.coli., pode dizer-se que a empresa M é mais ou menos higienizada que a empresa S, mas não o quanto.

Para análise e interpretação dos resultados, utilizou-se o programa de software estatístico SPSS 16.0.

IV – Resultados e Discussão

1. Relação entre microrganismos e queijarias em estudo

O que se pretende com esta análise é saber em qual das queijarias houve mais ocorrência dos microrganismos em estudo, podendo assim aferir sobre se a ocorrência dos parâmetros em análise são estatisticamente independentes das queijarias, ou se pelo contrário existe uma relação de dependência ou associação estatística entre os parâmetros microbiológicos e a queijaria em análise. Esta decisão estatística foi efectuada tendo como base o teste do qui-quadrado de Pearson (Montgomery e Runger, 1999; Zar, 1999.) O nível de significância utilizado foi $\alpha=0,05$.

1.1. *E.coli* e Queijarias

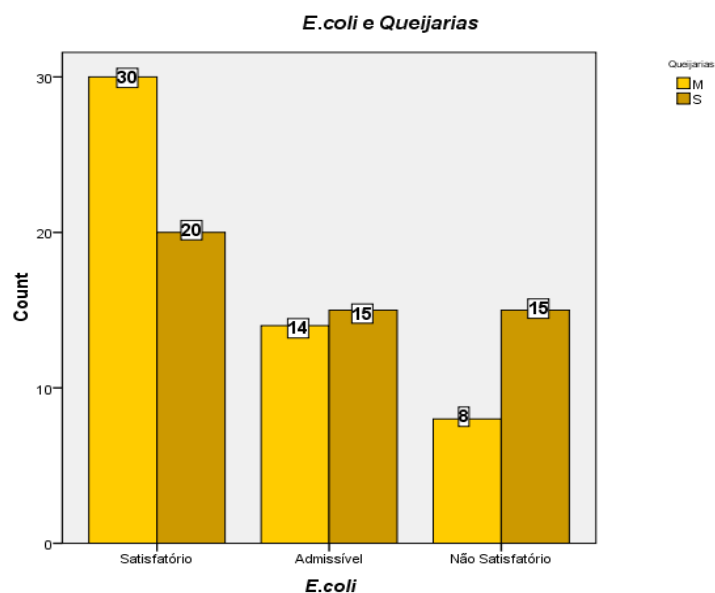


Figura 21: Números de casos Satisfatórios, Admissíveis e Não Satisfatórios nas duas queijarias referentes a *E.coli*.

Tabela 3: Teste do Qui-Quadrado para *E.coli* nas Queijarias.

Chi-Square Tests			
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	4,127 ^a	2	,127

a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 11,27.

Tabela 4: Relação de associação entre *E.coli* e Queijarias.

Symmetric Measures			
		Value	Approx. Sig.
Nominal by Nominal	Phi	,201	,127

Através da análise da figura 21 é possível verificar que durante os 5 anos em estudo, o número de casos satisfatórios para as duas queijarias é superior às outras duas categorias em análise. No entanto, é nítido que a queijaria M supera a S a nível de valores de satisfação (com 30 casos satisfatórios num total de 52 amostras para 20 na queijaria S, num total de 50 amostras), apresentando, também, um número de casos não satisfatórios bastante inferiores à queijaria S (8 amostras para 15 amostras).

Através da análise da tabela 3 o teste do Qui-Quadrado informa sobre a independência entre as variáveis (Pestana *et al*, 1998; Montgomery e Runger, 1999). Assim, para um nível de significância de $\alpha=0,127$ é possível observar que o desenvolvimento de *E.coli* não está relacionado com as queijarias em estudo.

Utilizando uma medida de associação baseada no teste do Qui-Quadrado para determinar o grau de associação (tabela 4), o valor de Phi=0,201 ($p=0,127$), permite aferir que apenas se pode atribuir que 4% da variabilidade das frequências observadas à associação entre a queijaria e *E.coli*, logo a associação entre estas é bastante fraca.

Assim, é possível concluir que a matéria-prima necessária para a elaboração dos queijos das duas queijarias provavelmente seriam portadores de *E.coli* e mesmo que esta estivesse presente em baixos índices, durante o processo de fabrico esta poderá ter-se desenvolvido devido a vários factores citados a seguir.

E.coli é indicador de inadequada manipulação, falta de higiene sendo provável o seu desenvolvimento durante o processo de fabrico.

Estes queijos (das amostras analisadas) sofrem apenas um aquecimento a temperaturas demasiado baixas (30 a 31°C), logo como *E.coli* se desenvolve a temperaturas entre 4 e 46°C este aquecimento não é suficiente para destruir esta estirpe e como a temperatura ambiente nas duas queijarias também não é controlada é normal que esta se desenvolva durante todo o processo de fabrico, caso não sejam tomadas as devidas precauções de higiene e segurança durante a manipulação.

Pelas visitas realizadas às queijarias, era de esperar mais resultados de falta de higiene na queijaria M do que na S, visto que a primeira apresentava condições menos satisfatórias a níveis de higiene e a coagem do leite é realizada de forma ineficaz, até porque, nesta queijaria (M) os restos dos resíduos são limpos com um pano na cuba onde se forma a coalhada. Naturalmente, este tipo de limpeza não é o mais seguro, pois apesar de os panos estarem perfeitamente desinfectados e livres de qualquer tipo de sujidade que possa contaminar a coalhada, nesta ficarão sempre alguns resíduos de sujidades e microrganismos que poderão desenvolver-se durante as restantes fases de fabrico.

O facto de a queijaria S apresentar uma maior percentagem de níveis não satisfatórios poderá dever-se a faltas de higiene a nível de manipulação e também a nível de contaminação durante a “prensagem” pois os queijos ficam apenas no molde sujeitos à acção do próprio peso e caso a temperatura ambiente não seja a mais favorável esta proporciona o desenvolvimento deste microrganismo. Também se pode aferir sobre o nível de higiene antes a produção. Será que a queijaria S dispõem e cumpre um plano de limpeza dos equipamentos? Se isto não acontecer poderá haver contaminações “cruzadas”, ou seja, caso fique algum vestígio de *E.coli* esta poderá contaminar os produtos a elaborar posteriormente.

Segundo o regulamento (CE) nº 1441/ 2007, de 5 de Dezembro, também a cura é um factor muito importante para o desenvolvimento *E.coli*. pois em queijos susceptíveis de permitir o crescimento de *E.coli* (como é o caso) o seu número é mais elevado durante o início da cura podendo depois diminuir caso as condições de temperatura e humidade sejam bem controladas e sejam realizadas lavagens periódicas adequadas para não permitir o desenvolvimento desta bactéria.

Mais uma vez aqui se encontra uma contrariedade em relação aos resultados obtidos, pois na queijaria M os queijos só são lavados 3 dias antes da expedição e na queijaria S são lavados com mais frequência.

1.2. *Staphylococcus* coagulase positiva e Queijarias

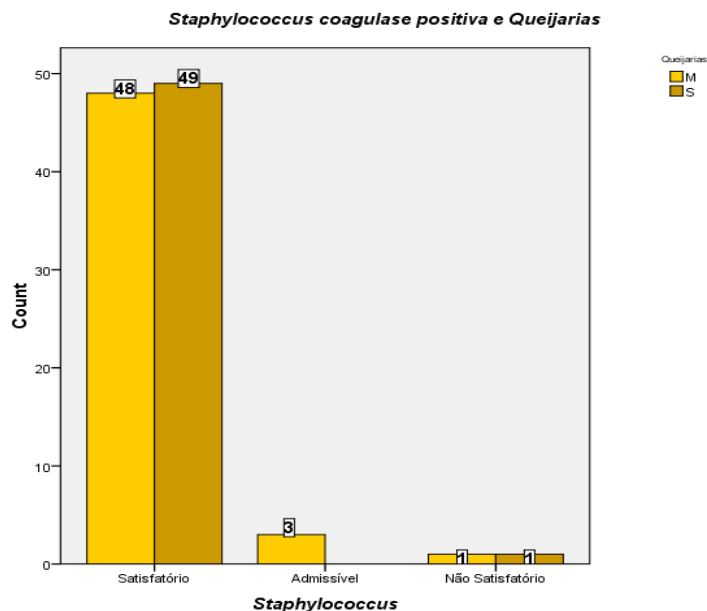


Figura 22: Números de casos Satisfatórios, Admissíveis e Não Satisfatórios nas duas queijarias referentes a *Staphylococcus* coagulase positiva.

Tabela 5: Teste do Qui-Quadrado para *Staphylococcus* nas Queijarias.

Chi-Square Tests			
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	2,972 ^a	2	,226

a. 4 cells (66,7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,98.

Tabela 6: Relação de associação entre *Staphylococcus* e Queijarias.

Symmetric Measures			
		Value	Approx. Sig.
Nominal by Nominal	Phi	,171	,226

Através da observação dos resultados da figura 22 os resultados observados em 5 anos são bastante satisfatórios, dado que apenas se encontra um caso não satisfatório em cada queijaria e apenas houve 3 casos admissíveis na queijaria M e zero na queijaria S.

Através da análise da tabela 5, para um nível de significância $\alpha=0,05$, é possível observar que o desenvolvimento de *Staphylococcus* não está relacionado com as queijarias em estudo ($\chi^2= 2,972$; $p=0,226$), muito embora esta conclusão

tenha de ser lida com muitas reservas, pois existem frequências observadas inferiores a 5 em várias células da tabela de contingência.

Utilizando uma medida de associação baseada no teste do Qui-Quadrado para determinar o grau de associação (tabela 6), o valor de $\Phi=0,171$ ($p=0,226$), permite aferir que apenas se pode atribuir que 3% da variabilidade das frequências observadas à associação entre a queijaria e *Staphylococcus*, logo a associação entre estes é bastante fraca.

Picoli *et al* (2006), refere que os estafilococos podem ser introduzidos no alimento sob várias formas, entre elas o acto de o manipulador levar as mãos à boca ou ao nariz. Outra maneira é por meio de lesões estafilocócicas presentes na pele do funcionário que trabalha directamente com o alimento. E hoje sob o ponto de vista de segurança alimentar é muito difícil ocorrer já que é obrigatório que quaisquer lesões sejam bem isoladas para não contaminarem o produto.

Segundo Loguercio *et al* (2001), quando há ocorrência de *Staphylococcus* coagulase positiva esta poderá ser devido a um tratamento térmico insuficiente, ou devido a contaminações por manipulação ou contacto do produto com superfícies contaminadas.

No entanto, apesar de esta bactéria não ter relação estatística com as queijarias em estudo ela está muitas vezes associada a contaminações de origem humana.

1.3. *Salmonella* e Queijarias

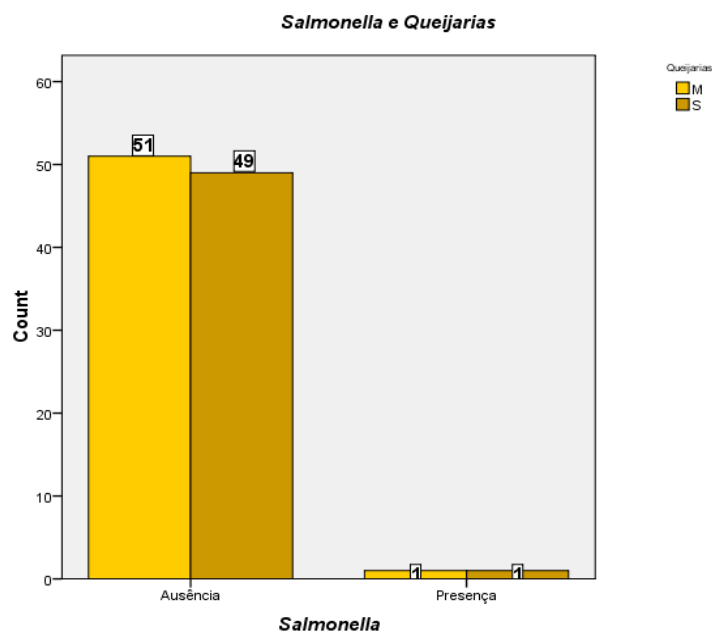


Figura 23: Números de ausência e presença de *Salmonella* nas duas queijarias.

Tabela 7: Teste do Qui-Quadrado para *Salmonella* nas Queijarias.

Chi-Square Tests			
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	,001 ^a	1	,978

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,98

Tabela 8: Relação de associação entre *Salmonella* e Queijarias.

Symmetric Measures			
		Value	Approx. Sig.
Nominal by Nominal	Phi	,003	,978

Após a análise dos resultados observados na figura 23 verifica-se que a ausência de *Salmonella* nas duas queijarias é bem evidente, apenas havendo um caso em 5 anos em cada uma delas.

Através da análise da tabela 7, para um nível de significância de $\alpha=0,978$ é possível observar que o desenvolvimento de *Salmonella* não está relacionado com as queijarias em estudo, muito embora esta conclusão tenha de ser lida com muitas

reservas, pois existem frequências observadas inferiores a 5 em várias células da tabela de contingência.

Utilizando uma medida de associação baseada no teste do Qui-Quadrado para determinar o grau de associação (tabela 8), o valor de $\Phi=0,003$ ($p=0,978$), permite aferir que a variabilidade das frequências observadas da associação entre as queijarias e *Salmonella* é extremamente fraca.

Segundo Tortora et al (2000), (cit. por Grandi et al, 2007), a contaminação por *Salmonella* pode estar relacionada com uma inadequada pasteurização (neste caso, ocorre apenas um aquecimento) e também pode ocorrer devido a uma má manipulação ou utilização de água não potável durante o processo de fabrico.

A presença desta estirpe numa amostra indica a rejeição do lote de queijos à qual esta pertence.

1.4. *Listeria monocytogenes* e Queijarias

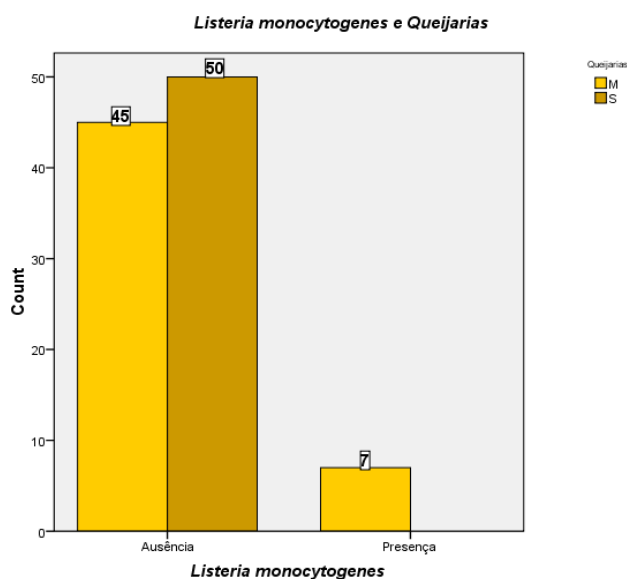


Figura 24: Números de ausência e presença de *Listeria monocytogenes* nas duas queijarias.

Tabela 9: Teste do Qui-Quadrado para *Listeria monocytogenes* nas Queijarias.

Chi-Square Tests			
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	7,227 ^a	1	,007

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3,43

b. Computed only for a 2x2 table

Tabela 10: Relação de associação entre *Listeria monocytogenes* e Queijarias.

Symmetric Measures			
		Value	Approx. Sig.
Nominal by Nominal	Phi	-,266	,007

Pela análise da figura 24 é possível verificar que durante os 5 anos apenas ocorreu presença de *Listeria monocytogenes* na queijaria M, que provavelmente poderá ter ocorrido devido à utilização de prateleiras de madeira nas câmaras de cura.

Através da análise da tabela 9, para um nível de significância de $\alpha=0,05$, é possível observar que o desenvolvimento de *Listeria* está relacionado com as queijarias em estudo ($\chi^2=7,227$; $p=0,007$), muito embora esta conclusão tenha de ser lida com muitas reservas, pois existem frequências observadas inferiores a 5 em duas das células da tabela de contingência.

Utilizando uma medida de associação baseada no teste do Qui-Quadrado para determinar o grau de associação (tabela 10), o valor de Phi= 0,226 ($p= 0,007$), permite aferir que a variabilidade das frequências observadas da associação entre as queijarias e *Listeria* é muito fraca, embora seja significativa já que $p=0,007 < \alpha=0,05$.

Segundo Noronha *et al* (2005), a utilização de tábuas de madeira tem os seus inconvenientes, sendo o mais grave o desenvolvimento de uma bactéria (*Listeria*) que se pode alojar na madeira devido à sua porosidade. Daí, caso sejam utilizadas tábuas em madeira, seja importante a utilização de diferentes tábuas para diferentes lotes evitando assim a contaminação de lotes diferentes. Após a utilização, estas devem ser bem desinfetadas e secas antes de serem utilizadas novamente.

Listeria monocytogenes, é capaz de crescer a baixas temperaturas pelo que as contaminações nas câmaras de cura são muito prováveis.

Isto era de esperar já que na empresa M, além de se utilizarem as tábuas de madeira nas câmaras de cura, também não se efectuam lavagens periódicas e mudanças de panos adequadamente, logo o ambiente é propício ao desenvolvimento desta bactéria.

A presença desta estirpe numa amostra indica a rejeição do lote de queijos à qual esta pertence.

2. Relação entre Microrganismos, Tempo e Queijarias

Para esta análise escolheu-se um período de tempo mais frio (Outubro a Abril) e tempo mais quente (Maio a Setembro), de forma a poder-se tirar conclusões sobre se a ocorrência dos parâmetros em análise são estatisticamente independentes do tempo, ou se pelo contrário existe uma relação de dependência. Esta decisão estatística foi efectuada tendo como base o teste do qui-quadrado de Pearson (Montgomery e Runger, 1999; Zar, 1999.) O nível de significância utilizado foi $\alpha=0,05$.

2.1. *E. coli*, Tempo e Queijarias

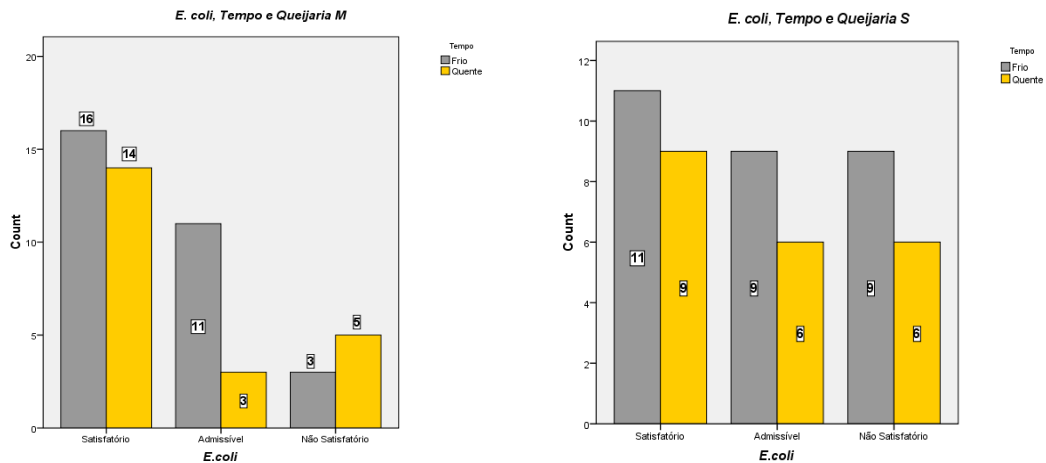


Figura 25: Níveis de casos Satisfatórios, Admissíveis e Não Satisfatórios nas duas queijarias relacionados com o tempo referentes a *E. coli*.

Tabela 11: Teste do Qui-Quadrado para *E. coli* nas duas Queijarias relacionado com o tempo.

Chi-Square Tests				
Queijaria		Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
M	Pearson Chi-Square	4,070 ^a	2	,131
S	Pearson Chi-Square	,123 ^b	2	,940

a. 2 cells (33,3%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3,38.

b. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 6,30.

Tabela 12: Relação de associação entre *E. coli* e Queijarias relacionados com o tempo.

Symmetric Measures				
Queijaria			Value	Approx. Sig.
M	Nominal by Nominal	Phi	,280	,131
S	Nominal by Nominal	Phi	,050	,940

Pela análise da figura 25 é possível observar que a presença de *E.coli* em níveis não satisfatórios ocorre mais na época de Maio a Setembro (época quente) na queijaria M do que na época de Outubro a Abril (época fria), acontecendo o contrário na queijaria S. Caso que seria de esperar, já que segundo as informações recolhidas, a maior parte dos fornecedores de leite desta queijaria têm produções extensivas e muitas vezes o leite é rejeitado devido a faltas de higiene. No Verão é normalmente quando o leite está em pior condições, na mesma queijaria e, como as condições de coagem não são as mais adequadas, como referido anteriormente, isso também não ajuda na inibição desta bactéria. O facto de a temperatura da fábrica também ser a temperatura ambiente, proporciona um desenvolvimento favorável a *E.coli*, principalmente em épocas quentes.

O facto de a S apresentar mais valores negativos na época fria pode dever-se a faltas de higiene durante o manuseamento do produto.

Através da análise da tabela 11, $\chi^2=4,070$ ($p=0,131$) em relação à queijaria M e $\chi^2=0,123$ ($p=0,940$) na queijaria S, é possível observar que o desenvolvimento de *E.coli* não está relacionado com o tempo e as queijarias em estudo, muito embora esta conclusão tenha de ser lida com muitas reservas, pois existem frequências observadas inferiores a 5 em duas das células da tabela de contingência para a queijaria M.

Utilizando uma medida de associação baseada no teste do Qui-Quadrado para determinar o grau de associação da tabela 12, o valor de $\Phi=0,280$ ($p=0,131$) (na queijaria M) e $\Phi=0,050$ ($p=0,940$) na queijaria S, permite aferir que a variabilidade das frequências observadas à associação entre as queijarias, tempo e *E.coli*, não é significativa em qualquer das queijeiras.

Agora algumas questões poderão ser colocadas: será que durante estes 5 anos as temperaturas variaram muito, e os meses escolhidos para as épocas fria e quente não foram os mais adequados?! Ou será que houve uma mudança de produtores?! Provavelmente houve! Certamente que também houve alturas em que a higiene destas queijarias foi melhorada! Há uma série de suposições que se podem fazer e com isto uma série de estudos futuros que poderão advir deste trabalho.

2.2. *Staphylococcus*, Tempo e Queijarias

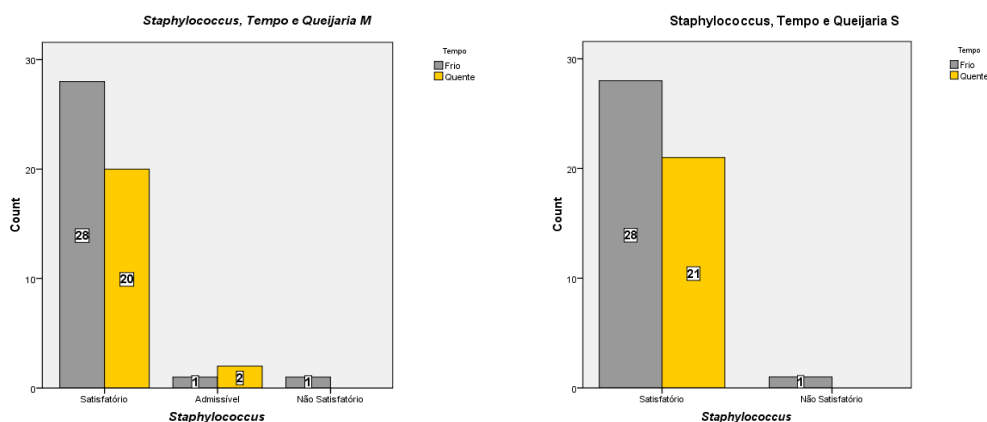


Figura 26: Números de casos Satisfatórios, Admissíveis e Não Satisfatórios nas duas queijarias relacionados com o tempo referentes a *Staphylococcus*.

Tabela 13: Teste do Qui-Quadrado para *Staphylococcus* nas duas Queijarias relacionado com o tempo.

Chi-Square Tests				
Queijaria		Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
M	Pearson Chi-Square	1,471 ^a	2	,479
S	Pearson Chi-Square	,739 ^b	1	,390

a. 4 cells (66,7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,42.

b. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,42.

c. Computed only for a 2x2 table

Tabela 14: Relação de associação entre *Staphylococcus* e Queijarias relacionados com o tempo.

Symmetric Measures				
Queijaria			Value	Approx. Sig.
M	Nominal by Nominal	Phi	,168	,479
S	Nominal by Nominal	Phi	-,122	,390

Após a análise da figura 26 apenas existe um caso não satisfatório encontrado nas duas queijarias, na época mais fria.

Segundo Zottola y col., (1991), (cit. por Mas *et al*, 1993), num estudo realizado à *Control de Microorganismos Patogenos en Queso de los Ibores* diz que a maior tolerância de *S. aureus* ao sal e à baixa actividade da água, junto a pH superior a 5 durante a cura, nas produções durante o Inverno, deve permitir a sobrevivência destes microorganismos aos 60 dias de maturação, enquanto que nas produções da Primavera

deve ser o efeito do pH baixo que impede o seu desenvolvimento a partir dos 30 dias de maturação.

Através da análise da tabela 13, para um nível de significância $\alpha=0,05$, com $\chi^2=1,471$ ($p=0,479$) em relação à queijaria M e $\chi^2=0,739$ ($p=0,390$) na queijaria S é possível observar que o desenvolvimento de *Staphylococcus* não está relacionado com o tempo e as queijarias em estudo, muito embora esta conclusão tenha de ser lida com muitas reservas, pois existem frequências observadas inferiores a 5 em várias células da tabela de contingência.

Utilizando uma medida de associação baseada no teste do Qui-Quadrado para determinar o grau de associação da tabela 14, o valor de $\Phi=0,168$ ($p=0,479$) (na queijaria M) e $\Phi=0,122$ ($p=0,390$) na queijaria S, permite aferir que a variabilidade das frequências observadas à associação entre o tempo, as queijarias e *E.coli*, é muito fraca, sendo de aproximadamente, 2,8% para a queijaria M e 1,5% para a queijaria S.

2.3. *Salmonella*, Tempo e Queijarias

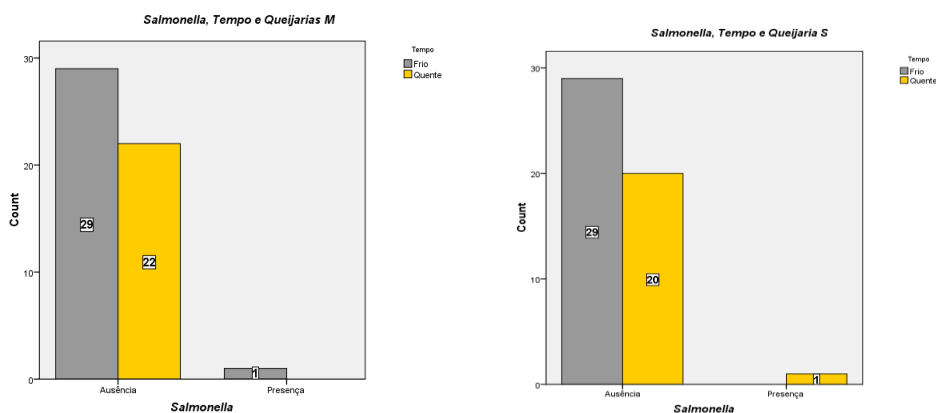


Figura 27: Números de ausência e presença de *Salmonella* nas duas queijarias relacionados com o tempo.

Tabela 15: Teste do Qui-Quadrado para *Salmonella* nas Queijarias relacionado com o tempo.

Chi-Square Tests				
Queijaria		Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
M	Pearson Chi-Square	,748 ^a	1	,387
	Continuity Correction ^b	,000	1	,999
S	Pearson Chi-Square	1,409 ^c	1	,235
	Continuity Correction ^b	,000	1	,999

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,42

b. Computed only for a 2x2 table

c. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,42

Tabela 16: Relação de associação entre *Salmonella* e Queijarias relacionado com o tempo.

Symmetric Measures				
Queijaria			Value	Appro x. Sig.
M	Nominal by Nominal	Phi	-,120	,387
S	Nominal by Nominal	Phi	,168	,235

Pela análise da figura 27 verifica-se uma presença de *Salmonella* no tempo mais frio na queijaria M e uma presença no tempo mais quente na queijaria S.

Segundo Mas et al., (1993), (cit. por Núñez y col., 1985; Medina y col., 1982), num estudo realizado à *Control de Microorganismos Patogenos en Queso de los Ibores* refere que o efeito do pH mais baixo nas produções de Primavera deve fazer com que desapareçam *Salmonellas* aos 30 dias de maturação e que todavia se detectam mais nos queijos de Inverno.

Provavelmente, esta ocorrência de *Salmonella* em cada uma das queijarias poderá ter sido devido a um descontrolo do pH. Há também que referenciar que há muito pouca informação desta bactéria ocorrida em queijos, já que raramente é encontrada em condições normais, segundo a bibliografia consultada.

Através da análise da tabela 15, para um nível de significância de $\chi^2=0,748$ ($p=0,387$) em relação à queijaria M e $\chi^2=1,409$ ($p=0,235$) é possível observar que o desenvolvimento de *Salmonella* não está relacionado com o tempo e as queijarias em estudo, muito embora esta conclusão tenha de ser lida com muitas reservas, pois as existem frequências observadas inferiores a 5 em duas das células da tabela de contingência.

Utilizando uma medida de associação baseada no teste do Qui-Quadrado para determinar o grau de associação da tabela 16, o valor de $\Phi=0,120$ ($p=0,387$) (na queijaria M) e $\Phi=0,168$ ($p=0,235$) na queijaria S, permite aferir que a variabilidade das frequências observadas que a associação entre o tempo, as queijarias e *Salmonella*, não é significativa.

2.4. *Listeria monocytogenes*, Tempo e Queijarias

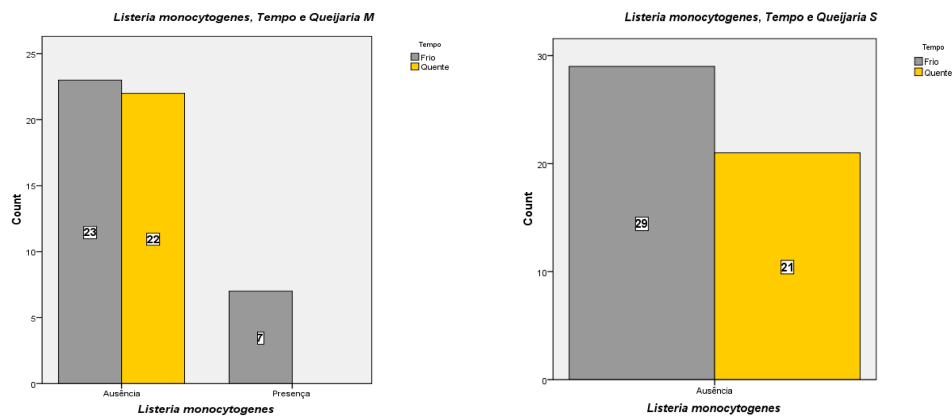


Figura 28: Números de ausência e presença de *Listeria monocytogenes* nas duas queijarias relacionados com o tempo.

Tabela 17: Teste do Qui-Quadrado para *Listeria monocytogenes* nas Queijarias relacionado com o tempo.

Chi-Square Tests				
Queijaria		Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
M	Pearson Chi-Square	5,932 ^a	1	,015
S	Pearson Chi-Square	.c		

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,96

b. Computed only for a 2x2 table

c. No statistics are computed because Listeria is a constant.

Tabela 18: Relação de associação entre *Listeria monocytogenes* e Queijarias relacionado com o tempo.

Symmetric Measures				
Queijaria			Value	Approx. Sig.
M	Nominal by Nominal	Phi	-,338	,015
S	Nominal by Nominal	Phi	.a	

a. No statistics are computed because Listeria is a constant.

Listeria monocytogenes apenas se encontra presente na queijaria M como é possível observar na figura 28.

Curioso que apenas se encontra na época de frio tal como o estudo realizado por Mas *et al* (1993), (cit. por McClure y col.,1991), no estudo realizado à *Control de Microorganismos Patogenos en Queso de los Ibore*s, que observou que enquanto nos queijos de Inverno, aos 7 dias de maturação se detectou a presença de 5 listerias em

10 queijos e aos 60 dias se detectaram em 1 de 10 queijos, nas produções de Primavera só se detectaram em 1 queijo de 10 aos 30 dias de maturação. Segundo este autor a causa deste comportamento deve estar na diferença de evolução do pH encontrada na produção de Inverno e Primavera, e à maior tolerância ao sal e à baixa actividade da água que faz com que esta se possa encontrar aos 60 dias de maturação nos queijos de Inverno.

Através da análise da tabela 17, para um nível de significância $\alpha=0,05$, em relação à queijaria M é possível observar que o desenvolvimento de *Listeria monocytogenes* e tempo está relacionado com a queijaria M ($\chi^2=5,932$; $p=0,015$), não se podendo concluir nada acerca da queijaria S, já que não houve presença desta bactéria durante os 5 anos em estudo.

Utilizando uma medida de associação baseada no teste do Qui-Quadrado para determinar o grau de associação na tabela 18, o valor de $\Phi=-0,338$ ($p=0,015$) (na queijaria M) permite aferir que a variabilidade das frequências observadas para a associação entre esta queijaria, tempo e *Listeria monocytogenes* é fraca (11%), embora seja significativa já que $p=0,015 < \alpha=0,05$.

No entanto, há que salientar uma questão: o autor referido apenas fez este estudo para uns dias de Janeiro, ao qual considerou Inverno, e alguns dias de Março e Abril, que considerou Primavera. No caso deste trabalho, os meses de Primavera referenciados pelo autor ainda estão na época que se considerou de tempo frio. Segundo vários autores a influência do pH e actividade da água durante o tempo de cura influencia muito o desenvolvimento destas bactérias. De qualquer modo, há que ter em conta que um processo de fabrico tem várias etapas, das quais como já referido são propícias ao desenvolvimento de bactérias, logo seria de esperar no caso destas queijarias, em que a temperatura ambiente e o pH em várias etapas do fabrico não são controlados, que houvesse mais desenvolvimento de bactérias na época de tempo quente do que na de tempo frio. Isto não acontece em alguns casos, como foi possível verificar. Em relação à *E.coli* e *Staphylococcus* coagulase positiva sabe-se que estes são indicadores de condições de higiene insatisfatórias devido a vários factores já referenciados, por isso a sua ocorrência em tempo frio e quente poderá explicar-se por essas razões e é claro que condições de cura inadequadas não favorecem a sua eliminação. A *Salmonella* e *Listeria* já são mais afectadas pelo pH que faz com que

estas de multipliquem durante o fabrico e cura do queijo. Também a temperatura e o tempo de cura é um factor bastante importante para o seu desenvolvimento.

3. Relação entre Microrganismos, Ano e Queijarias

O que se pretende com esta análise é saber em qual das queijarias houve mais ocorrência dos microrganismos em estudo em cada ano especificamente, podendo assim aferir sobre se a ocorrência dos parâmetros em análise são estatisticamente independentes das queijarias, ou se pelo contrário existe uma relação de dependência. Esta decisão estatística foi efectuada tendo como base o teste do qui-quadrado de Pearson (Montgomery e Runger, 1999; Zar, 1999.) O nível de significância utilizado foi $\alpha=0,05$.

3.1. *E.coli*, Ano e Queijarias

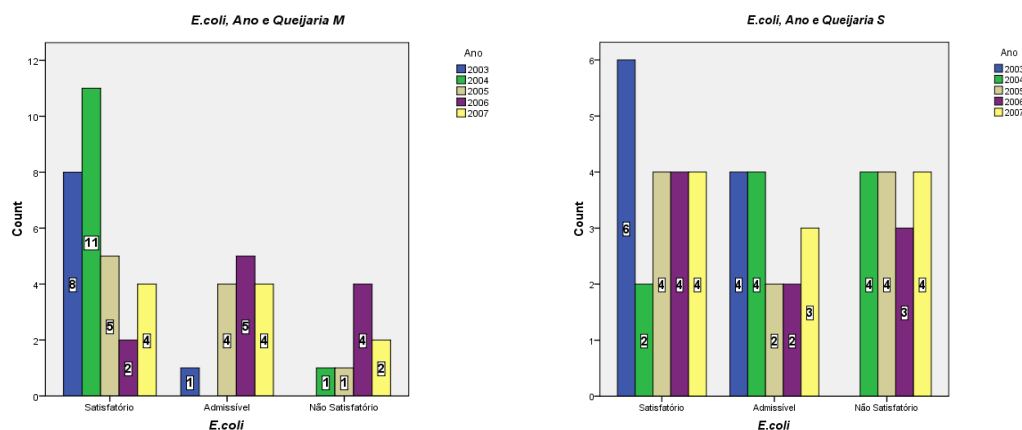


Figura 29: Níveis de casos Satisfatórios, Admissíveis e Não Satisfatórios nas duas queijarias relacionados com os anos referentes a *E.coli*.

Tabela 19: Teste do Qui-Quadrado para *E.coli* nas duas Queijarias relacionado com os anos.

Chi-Square Tests				
Queijaria		Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
M	Pearson Chi-Square	19,527 ^a	8	,012
S	Pearson Chi-Square	7,138 ^b	8	,522

a. 10 cells (66,7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1,38.

b. 15 cells (100,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,70.

Tabela 20: Relação de associação entre *E.coli* e Queijarias relacionados com os anos.

Symmetric Measures				
Queijaria			Value	Approx. Sig.
M	Nominal by Nominal	Phi	,613	,012
S	Nominal by Nominal	Phi	,378	,522

Através da análise da figura 29, é possível verificar mais uma vez que praticamente ao longo de todos os anos com exceção do ano de 2003 a queijaria S obteve mais casos não satisfatórios do que a queijaria M, por possíveis razões que já foram apontadas anteriormente.

Em relação à análise estatística, através da observação da tabela 19, para um nível de significância de $\alpha=0,05$ é possível observar que o desenvolvimento de *E.coli* está relacionado com a queijaria M ($\chi^2=19,527$; $p=0,012$), mas não está relacionado com a queijaria S ($\chi^2=7,138$; $p=0,522$), muito embora esta conclusão tenha de ser lida com muitas reservas, pois existem frequências observadas inferiores a 5 em várias células da tabela de contingência.

Utilizando uma medida de associação baseada no teste do Qui-Quadrado para determinar o grau de associação da tabela 20, o valor de $\Phi=0,613$ ($p=0,012$) (na queijaria M) e $\Phi=0,378$ ($p=0,522$) na queijaria S, permite aferir que a variabilidade das frequências observadas da associação entre as queijarias e *E.coli*, não é significativa na queijaria S, embora seja significativa na queijaria M ($p=0,012 < \alpha=0,05$).

3.2. *Staphylococcus*, Ano e Queijaria

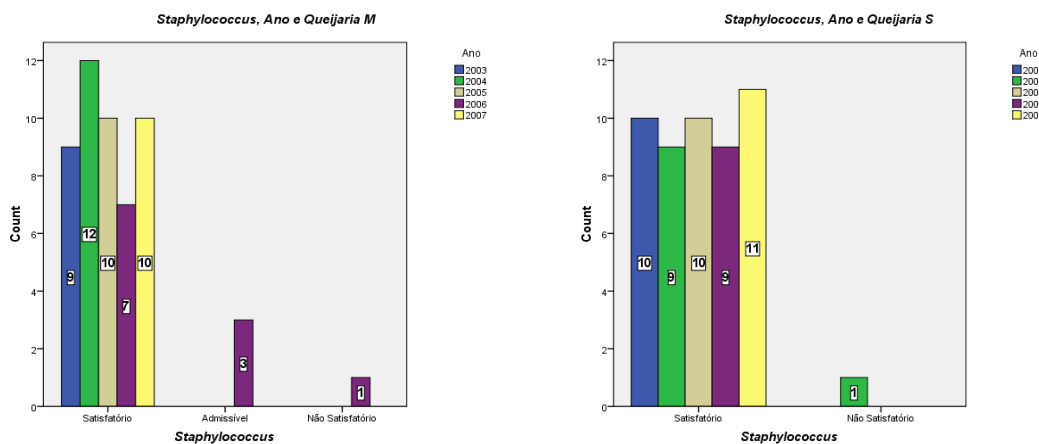


Figura 30: Números de casos Satisfatórios, Admissíveis e Não Satisfatórios nas duas queijarias relacionados com os anos referentes a *Staphylococcus*.

Tabela 21: Teste do Qui-Quadrado para *Staphylococcus* nas duas Queijarias relacionado com os anos.

Chi-Square Tests				
Queijaria		Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
M	Pearson Chi-Square	16,152 ^a	8	,040
S	Pearson Chi-Square	4,082 ^b	4	,395

a. 10 cells (66,7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,17.

b. 5 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,18.

Tabela 22: Relação de associação entre *Staphylococcus* e Queijarias relacionados com os anos.

Symmetric Measures				
Queijaria			Value	Approx. Sig.
M	Nominal by Nominal	Phi	,557	,040
S	Nominal by Nominal	Phi	,286	,395

Em relação ao *Staphylococcus* pouco há mais a acrescentar visto que este também é um indicador de condições higiênico-sanitárias deficientes onde o caso não satisfatório (figura 30) ocorrido na queijaria S foi em 2004, e o caso da queijaria M em 2006, tendo esta última alguns casos em níveis admissíveis, curiosamente todos registados nesse ano. Provavelmente, algum manipulador portador dessa bactéria poderá ter contaminado, mas isto são suposições e nada se sabe acerca desta ocorrência.

Em relação à análise estatística, através da observação da tabela 21, para um nível de significância de $\alpha=0,05$ em relação à queijaria M ($\chi^2=16,152$; $p=0,040$) é possível observar que o desenvolvimento de *Staphylococcus* está relacionado com a queijaria M mas não está relacionado com a queijaria S ($\chi^2=4,082$; $p=0,395$), muito embora esta conclusão tenha de ser lida com muitas reservas, pois existem frequências observadas inferiores a 5 em várias células da tabela de contingência.

Utilizando uma medida de associação baseada no teste do Qui-Quadrado para determinar o grau de associação da tabela 22, o valor de $\Phi=0,557$ ($p=0,040$) (na queijaria M) e $\Phi=0,286$ ($p=0,395$) na queijaria S, permite aferir sobre a variabilidade das frequências observadas que a associação entre as queijarias e *Staphylococcus* é fraca, embora seja significativa na queijaria M ($p=0,012 < \alpha=0,05$).

3.3. *Salmonella*, Ano e Queijaria

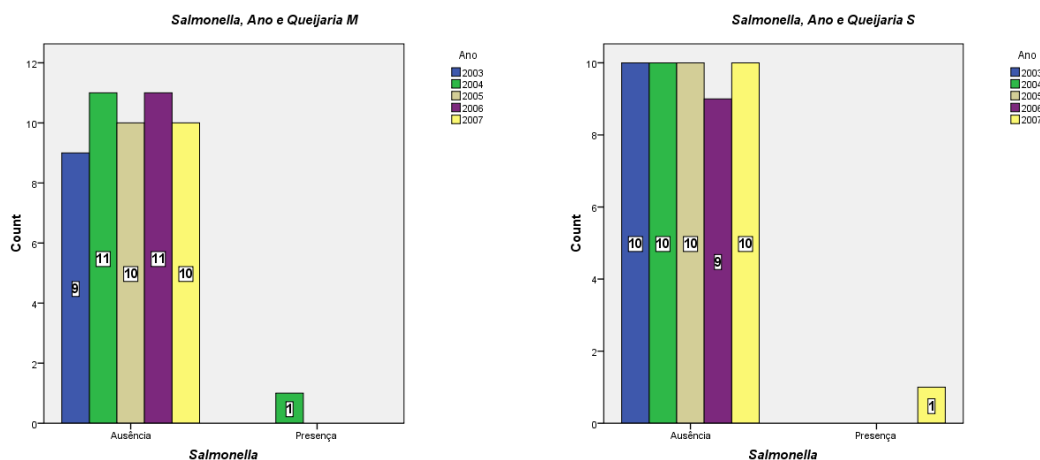


Figura 31: Números de ausência e presença de *Salmonella* nas duas queijarias relacionados com os anos.

Tabela 23: Teste do Qui-Quadrado para *Salmonella* nas Queijarias relacionado com os anos.

Chi-Square Tests				
Queijaria		Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
M	Pearson Chi-Square	3,399 ^a	4	,493
S	Pearson Chi-Square	3,618 ^b	4	,460

a. 5 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,17.

b. 5 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,18.

Tabela 24: Relação de associação entre *Salmonella* e Queijarias relacionado com os anos.

Symmetric Measures				
Queijaria			Value	Approx. Sig.
M	Nominal by Nominal	Phi	,256	,493
S	Nominal by Nominal	Phi	,269	,460

Em relação à *Salmonella*, é possível observar (figura 31) uma presença em 2004 na queijaria M e uma em 2007 na queijaria S. Como foi salientado atrás, várias são as causas desta ocorrência.

Em relação à análise estatística, através da observação da tabela 23, com $\chi^2=3,399$, $p=0,493$ em relação à queijaria M e $\chi^2=3,618$, $p=0,460$ em relação à queijaria S, é possível observar que o desenvolvimento de *Salmonella* não está relacionado com as queijarias, muito embora esta conclusão tenha de ser lida com

muitas reservas, pois existem frequências observadas inferiores a 5 em várias células da tabela de contingência.

Utilizando uma medida de associação baseada no teste do Qui-Quadrado para determinar o grau de associação da tabela 24, o valor de $\Phi=0,256$ ($p=0,493$) (na queijaria M) e $\Phi=0,269$ ($p=0,460$), permite aferir que a variabilidade das frequências observadas que a associação entre as queijarias e *Salmonella* não é significativa.

3.4. *Listeria monocytogenes*, Ano e Queijaria

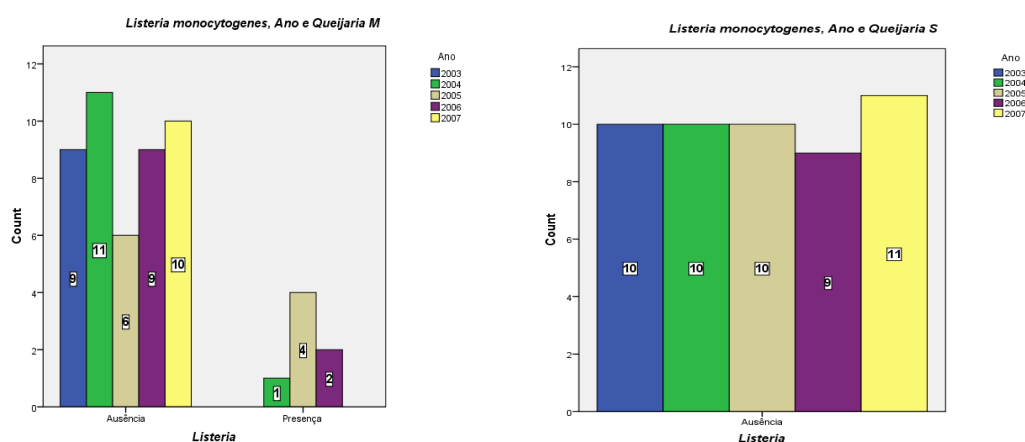


Figura 32: Números de ausência e presença de *Listeria monocytogenes* nas duas queijarias relacionados com os anos.

Tabela 25: Teste do Qui-Quadrado para *Listeria monocytogenes* nas Queijarias relacionado com os anos.

Chi-Square Tests				
Queijaria		Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
M	Pearson Chi-Square	9,483 ^a	4	,050
S	Pearson Chi-Square	.		

a. 5 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1,21.

b. No statistics are computed because Listeria is a constant.

Tabela 26: Relação de associação entre *Listeria monocytogenes* e Queijarias relacionado com os anos.

Symmetric Measures				
Queijaria			Value	Approx. Sig.
M	Nominal by Nominal	Phi	,427	,050
S	Nominal by Nominal	Phi	.	

a. No statistics are computed because Listeria is a constant.

A presença de *Listeria* apenas ocorre na queijaria M (figura 32), e nesta o caso de desenvolvimento desta bactéria certamente deve ser durante a cura onde as prateleiras de madeira e as poucas lavagens ocorridas só favorecem o seu crescimento. Seria importante do ponto de vista da segurança alimentar, serem retiradas estas prateleiras e a queijaria ter consciência de que é obrigatório fazer lavagens periódicas durante a cura.

Em relação à análise estatística, através da observação da tabela 25, para um nível de significância de $p=0,05$ em relação à queijaria M é possível observar que o desenvolvimento de *Listeria monocytogenes* está relacionado com as queijarias ($\chi^2=9,483$; $p=0,05$), muito embora esta conclusão tenha de ser lida com muitas reservas, pois existem frequências observadas inferiores a 5 em várias células da tabela de contingência.

Utilizando uma medida de associação baseada no teste do Qui-Quadrado para determinar o grau de associação da tabela 26, o valor de $\Phi=0,427$ ($p=0,050$) (na queijaria M), permite aferir sobre a variabilidade das frequências observadas que a associação entre as queijarias e *Listeria monocytogenes* não é estatisticamente significativa.

V – Considerações Finais

Após a realização deste trabalho foi possível verificar que ainda muito há a fazer a nível de segurança alimentar. Apesar dos esforços realizados pelas empresas de consultoria em aconselhar e tentar implementar os planos mais adequados para cada unidade de produção, isso ainda é muito difícil quando, do outro lado, muitas vezes, não é bem recebido, ou seja, para muitos fabricantes isso não vem acrescentar uma melhoria à produção mas sim mais uma despesa, “uma carga de trabalhos”, o que leva a que muitas vezes aconteçam situações como as dos resultados obtidos.

É realmente inconcebível como é que, nos dias de hoje, ainda é possível entrar numa unidade de produção e estas terem portas e janelas abertas, com insectos a voar pela fábrica. Por exemplo, falando da queijaria M que obteve alguns resultados de *Listeria monocytogenes*, quando se observaram os queijos nas câmaras de cura com falta de lavagem, a resposta obtida foi que havia falta de trabalhadores e não havia dinheiro para pagar a mais... E será que o prejuízo não é maior para eles pelo facto de não poderem por à venda o lote pertencente aos queijos em análise? Será que realmente são cumpridas todas as normas de rastreabilidade? E não andam os consumidores a consumir produtos contaminados?

Pelos vistos, também não se pode confiar muito na higiene dos produtos que consumidos. Aliás, pensando bem, o manipulador pode estar na hora do fabrico, por exemplo, a levar as mãos à boca ou ao nariz. Se se perguntar, eles dizem que cumprem as regras todas, mas na prática infelizmente isso não acontece.

Se dizem que há muita fiscalização, pelos vistos ainda há pouca, deveria haver muito mais e periodicamente, porque se não vai-se continuar a não saber o que se consome.

Assim, seria importante que fossem revistas as boas práticas de fabrico destas unidades de produção, fazer vistorias com mais frequência, tentar consciencializar as pessoas da gravidade das situações de contaminação que podem causar num produto. Uma coisa essencial era o uso de um protector que permitisse aos trabalhadores, quando falam, evitar a contaminação durante a manipulação dos alimentos. Retirar as tábuas de madeira era bastante aconselhável, o nível de controlo da temperatura ambiente seria essencial e o controlo do pH do leite durante a coagulação poderiam inibir o desenvolvimento de muitos microrganismos. Ou seja, muitos pontos críticos de controlo ainda têm que ser bem verificados e controlados.

A nível das empresas de consultoria, seria também interessante criar uma rastreabilidade nas análises de produtos transformados para assim, sempre que possível, verificar de onde poderão ter vindo determinadas bactérias, porque, apesar de algumas estarem em pouco número, se não forem tomadas as devidas precauções poderão causar graves prejuízos no processo de fabrico.

Este trabalho permitiu assim uma investigação a nível de controlo alimentar, mais especificamente em queijarias, mas pensa-se que mais estudos destes deveriam ser realizados, até para outros produtos, para se poder analisar tanto a evolução das unidades de produção como para poder dar uma imagem às empresas de consultoria daquilo que está ou não a ser cumprido a nível de segurança alimentar.

Para terminar, seria também importante fazer análises todos os meses, mas a todos os lotes de fabrico, porque o que é que interessa fazer análises a um só lote se os outros podem estar contaminados? Aliás, deveria ser obrigatório guardar em cada unidade de produção um queijo de cada lote durante um certo período de tempo, porque caso acontecesse alguma coisa poderia chegar-se a conclusões mais evidentes.

Espera-se que este trabalho permita dar novas ideias para estudos futuros e assim poder fazer-se um estudo mais aprofundado e mais detalhado de algumas questões citadas durante a sua elaboração.

VI - Bibliografia

Bibliografia Citada

- Eck, André e Gillis, J. C. 1997. *Le fromage*. 3^e édition. Lavoisier, Tec. & Doc., Paris.
- Grandi, Aline Z. e D. A. Rossi. 2007. *Qualidade microbiológica do queijo Minas Frecal comercializado na cidade de Uberlândia – MG*. Disponível em: <http://www.horizontecientifico.propp.ufu.br/include/getdoc.php?id=229&article=86&mode=pdf>. Data de consulta: 25/05/2008.
- Guerra, M. M. M. e F. M. A. Bernardo. 2001. *Caracterização de efeitos inibidores de Listeria monocytogenes Scott A, produzidos pela microflora de maturação de queijos do Alentejo*. RPCV. 96 (538) 65-69.
- Loguercio, Andrea P. e J. A. G. Aleixo. 2001. *Microbiologia de queijo tipo minas frechal produzido artesanalmente*. Ciência Rural, Santa Maria, v. 31, n.6, p. 1063-1067. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782001000600024. Data de consulta: 27/05/2008.
- Martins, António P. L. e M. M. Vasconcelos. 2002. *Tecnologia e caracterização dos queijos tradicionais portugueses*. I Jornadas do CNL. Trancoso. Disponível em: http://www.iniap.min-agricultura.pt/ficheiros_public/NTLD-DTPA%206.20-2002%20CNLTrancoso2002.pdf. Data de consulta: 20/05/2008.
- Mas, M. e G. Crespo. 1993. *Control de microorganismos patogenos en queso de los Ibóres*. Alimentaria, 240:41-44.
- Montgomery, Douglas C. e Runger, George C. 1999. *Applied Statistics and Probability for Engineers*. Second Edition. John Wiley & Sons, Inc. New York.
- Noronha, J.F., Santos, C. Malta, M.C., Azevedo, H.P.C. Henriques, C.S.F., Madanelo, J.P.H.L., Cabral, A.C., Cabral de Almeida, J.L., Oliveira, M.J.D.A, Amaral, M.S., Rodrigues, R.M.C., Sampaio, F.F.A., Branco, J.F., Melo A.C e Guerra, J., 2006. *Boas práticas de fabrico em queijarias tradicionais*. Escola Superior Agrária de Coimbra, Coimbra. Disponível em: http://www.esac.pt/noronha/CV/livros/Manual%20queijarias_%20final.pdf. Data de consulta: 05/05/2008.
- Peixeiro, Maria R. A. 2005. *Optimização do processo de coagulação do leite de ovelha com extracto de cardo (Cynara Cardunculus L.) e influência nas características do queijo de Azeitão*. Relatório do trabalho de fim de curso de Engenharia Alimentar. Universidade Técnica de Lisboa, Instituto Superior de

- Agronomia, Lisboa. Disponível em: http://www.iniap.min-agricultura.pt/ficheiros_public/TFBernardoCompleto.pdf. Data de consulta: 22/05/2008.
- Pestana, Maria H. e J. N. 1998. *Gageiro. Análise de dados para ciências sociais: a complementaridade do SPSS*. Edições sílabo, Lisboa.
- Picoli, S. U., M. C. Bessa, S. M. F. Castagna, Q. P. T. Gottardi, V. Schmidt e M. Cardoso. 2006. *Quantificação de coliformes, Staphylococcus aureus e mesofilos presentes em diferentes etapas da produção de queijo frescal de leite de cabra em laticínios*. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, 26(1): 64-69. Jan-mar. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612006000100011&lng=en&nrm=iso. Data de consulta: 16/05/2008.
- Pintado, Manuela. 2003. *Segurança alimentar em queijos tradicionais*. AESBUC/UCP, Porto. Disponível em: http://www.esac.pt/noronha/manuais/seguranca_alimentar_queijos.pdf. Data de consulta: 01/06/2008.
- Robinson, R. K. 1987. *Microbiologia lactologica: Microbiología de los productos lácteos*, vol. II. Editorial Acribia, S. A., Zaragoza.
- Sanchez, Marisa A. P. 2004. *Influência da matéria-prima no fabrico de queijo de cabra*. Relatório do trabalho de fim de curso de Engenharia Alimentar. Universidade Técnica de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa. Disponível em: http://www.iniap.min-agricultura.pt/ficheiros_public/NTLD-DTPA%206.51-1-2004%202.pdf. Data de consulta: 20/05/2008.
- Scott, R. 1991. *Fabricación de queso*. Editorial Acribia, S. A. Zaragoza.
- Siegel, Sidney. 1956. *Estatística não-paramétrica para as ciências do comportamento*. Macgraw-hill Ltda, São Paulo.
- Zar, Jerrold H. 1999. *Biostatistical Analysis*. Fourth Edition. Prentice Hall, New Jersey.

Bibliografia consultada

- Amárita, Félix. 2007. *Detección de listeria y salmonella en alimentos. Metodologías actuales y tendencias futuras*. Alimentaria, 384: 76-83.
- Bell, Chris and A. Kyriakides. 1998. *Listeria: A practical approach to the organism and its control in foods*. Published by Blackie Academic & Professional, London.
- Cabezas, L., M. L. Palop, A. I. Briones, A. García Ruíz. 1994. *Estudio de la flora microbiana y su relacion com la actividad del agua de diversos quesos*

- comerciales acogidos a la denominacion de origen Manchego*. Alimentaria, 250: 43: 45.
- Calpe, C. M. 1996. *Calidad microbiológica de quesos: importância de una buena manipulacion*. Alimentaria, 270: 69: 72.
- Campos, M. L. 1992. *O binómio higiene/tecnologia do leite e laticínios em saúde pública*. Veterinária Técnica, ano 2, 5: 28-31.
- Centeno, J. A., A. Cepeda, J. L. Rodríguez-Otero e F. Docampo. 1995. *Estudio Higio-Sanitario del queso de Arzua*. Alimentaria, 263: 91-96.
- Frazier, William C. 1976. Microbiologia de los alimentos. Editorial Acribia, Zaragoza.
- Frazier, William C., D. C. Westhoff. 1988. *Food Microbiology, public health & spoilage aspects*. Fourth edition, MacGraw Hill, New York.
- García, B. M. 1996. Factores que influncian la supervivencia y la multiplicacion de los microorganismos en los alimentos. Alimentaria. 274: 19:25.
- Martins, Manuel V. F. e F. M. Carreiro. 1996. *Contribuição para o estudo da qualidade do leite cru e queijos da sub-região demarcada de Castelo Branco*. Veterinária Técnica, ano 6, 3: 30-35.
- Olarte, C., S. Sanz, A. R. Gutiérrez e P. Torre. 1997. *Control higiénico-sanitario del queso de cameros y deteccion de puntos de contaminación microbiana en superficies y equipos*. Alimentaria, 285: 41-44.
- Quinto, E. J., C. M. Franco, C. Fente, B. Vázquez e A. Cepeda. 2001. *Evaluación del estado higiénico-sanitario del queso del Cebreiro*. Alimentaria, 323: 83:86.
- Sampayo, C. A. F., B. I Vázquez Belda, C. M. Franco Abuin, E. J. Quinto Fernández, J. L. Rodríguez Otero e Cepeda Saez. 1995. *Metodos de estudio de los contaminantes fúngicos en productos lácteos. Revision bibliográfica*. Alimentaria, 263: 77-81.
- Sánchez, D., M. A. Carmona, R. Gómez e J. Fernández-Salguero. 1995. *Evolucion de algunos grupos microbianos durante la maduracion del queso de los Pedroches*. Alimentaria, 263: 87-90.
- Sánchez, E., C. Mata, M. Vioque, L. Tejada, R. Gómez e J. Fernández-Salguero. 1998. Cambios microbiológicos en quesos de oveja artesanos durante el almacenamiento en congelacion: II. Flora Lactica. Alimentaria, 296: 65-69.
- Silva, Margarida R., M. I. Vieira, J. G. Mira e S. Costa. 2000. *Importância da Listeria monocytogenes como fonte de risco alimentar*. Veterinária Técnica, ano 10, 1: 32-36.

Regulamentos e normas

ISO 11290-2: 1998. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*. Part 2: Enumeration method.

ISO 16649-2: 2001. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of β -glucuronidase-positive *Escherichia coli*. Part 2: Colony-count technique at 44°C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl β -D-glucuronide. First edition.

ISO 6579: 2002. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. Fourth edition.

ISO 6888-2: 1999. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive *staphylococci*. Part 2: Technique using rabbit plasma fibrinogen agar medium.

Portaria nº 56/96, de 22 de Fevereiro, Diário da República – I Série B, nº45.

Regulamento (CE) Nº 1441/2007 da comissão de 5 de Dezembro de 2007. Jornal Oficial da União Europeia, 7.12.2007.

Agradecimentos

Terminado este trabalho quero expressar os mais sinceros agradecimentos a todos aqueles que me apoiaram durante a sua elaboração:

Ao meu orientador, Professor Doutor Armando Mateus Ferreira, por toda a disponibilidade demonstrada e todo o incansável apoio prestado desde o primeiro dia de estágio, por todos os conhecimentos que me transmitiu e infinitas dúvidas que esclareceu, pelos conselhos e incentivos que me deu, pela preciosa ajuda na revisão do tratamento estatístico e por tudo aquilo que fez para que este trabalho decorresse sempre da melhor forma possível.

Ao meu orientador externo, Engenheiro Vítor Manuel Amaro Lopes, por me ter permitido fazer estágio na sua empresa, pela disponibilidade demonstrada, também extensível aos trabalhadores da empresa Aquimisa.

À Engenheira Maria Manuela Martins Francisco Goulão, responsável pelo Responsável do Sector de Microbiologia e Imunologia, pela simpatia e disponibilidade imediata para me explicar as noções práticas fundamentais a ter em conta nas determinações microbiológicas efectuadas.

A todos os colaboradores das queijarias M e S, pela excelente forma como me receberam e pela ajuda prestada, o que contribuiu em muito para que este trabalho fosse possível.

Aos meus pais pelo incentivo que me deram durante a realização deste trabalho.

A todos, MUITO OBRIGADA.

ANEXOS

ANEXO I

Dados recolhidos

2003

Queijaria M						
E.coli	Staphyloc	Salmonella	Listeria	Nº de Amostra	F. Recepção	Tipo
<10	10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	03_00904	19-02-2003	Mistura
<10	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	03_01734	16-03-2003	Ovelha
<10	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	03_02206	03-06-2003	Mistura
<10	110	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	03_02553	03-07-2003	Ovelha
<10	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	03_03271	29-08-2003	Mistura
<10	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	03_03424	12-09-2003	Cabra
70	10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	03_04061	31-10-2003	Mistura
<10	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	03_04289	19-11-2003	Ovelha
8300	20	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	03_04761	17-12-2003	Mistura

2004

Queijaria M						
E.coli	Staphyloc.	Salmonella	Listeria	Nº de Amostra	F. Recepção	Tipo
20000	2300	PRESENÇA	AUSÊNCIA	04_00966	18-02-2004	Mistura
210	130	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	04_01039	26-02-2004	Mistura
<10	10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	04_01534	23-03-2004	Ovelha
<10	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	04_02049	21-04-2004	Mistura
<10	10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	04_02436	18-05-2004	Ovelha
12	950	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	04_03112	30-06-2004	Cabra
150	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	04_03387	14-07-2004	Ovelha
120	70	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	04_03959	16-08-2004	Ovelha
<10	50	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	04_04440	16-09-2004	Ovelha
710	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	04_05014	20-10-2004	Mistura
430	30	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	04_05420	16-11-2004	Ovelha
660	100	AUSÊNCIA	PRESENÇA	04_05976	15-12-2004	Mistura

2005

Queijaria M						
E.coli	Staphyloc	Salmonella	Listeria	Nº de Amostra	F. Recepção	Tipo
860	30	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	05_00105	06-01-2005	Ovelha
1300	<10	AUSÊNCIA	PRESENÇA	05_01022	17-02-2005	Ovelha
840	<10	AUSÊNCIA	PRESENÇA	05_01323	03-03-2005	Ovelha
>150000	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	05_02541	26-04-2005	Mistura
5000	130	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	05_03084	11-05-2005	Ovelha
850	50	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	05_04257	30-06-2005	Mistura
2600	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	05_06088	21-09-2005	Cabra
1700	400	AUSÊNCIA	PRESENÇA	05_06530	12-10-2005	Mistura
			AUSÊNCIA	05_06823	21-10-2005	Mistura
150	<10	AUSÊNCIA	PRESENÇA	05_07178	03-11-2005	Ovelha
650	210	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	05_08548	16-12-2005	Cabra

2006

Queijaria M						
E.coli	Staphyloc	Salmonella	Listeria	Nº de Amostra	F. Recepção	Tipo
230	620	AUSÊNCIA	PRESENÇA	06_00887	30-01-2006	Mistura
25000	380	AUSÊNCIA	PRESENÇA	06_01555	20-02-2006	Mistura
2500	>100000	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	06_02604	23-03-2006	Mistura
11000	44000	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	06_244653	22-05-2006	Mistura
8400	38000	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	06_245838	20-06-2006	Mistura
150000	9000	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	06_247803	27-07-2006	Ovelha
>150000	10000	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	06_248295	09-08-2006	Mistura
190	9000	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	06_249557	13-09-2006	Cabra
6800	19000	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	06_251346	26-10-2006	Mistura
2400	530	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	06_254740	21-11-2006	Ovelha
10000	220	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	06_254622	12-12-2006	Mistura

2007

Queijaria M						
E.coli	Staphyloc	Salmonella	Listeria	Nº de Amostra	F. Recepção	Tipo
9500	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	07_200009	10-01-2007	Ovelha
9500	6000	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	07_204103	14-02-2007	Cabra
5600	80	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	07_204431	06-03-2007	Ovelha
6200	120	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	07_205433	19-04-2007	Ovelha
19000	2500	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	07_207917	18-05-2007	Ovelha
26000	3500	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	07_208444	12-06-2007	Mistura
110	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	07_209669	05-07-2007	Ovelha
930	800	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	07_210021	14-08-2007	Mistura
500	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	07_213614	20-09-2007	Ovelha
281,818181	40	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	07_215278	19-10-2007	Ovelha

2003

Queijaria S						
E.coli	Staphyloc.	Salmonella	Listeria	Nº de Amostra	F. Recepção	Tipo
<10	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	03_00221	15-01-2003	Ovelha
1200	4600	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	03_01279	19-03-2003	Mistura
650	50	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	03_01740	16-04-2003	Mistura
70	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	03_02141	28-05-2003	Ovelha
5700	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	03_02444	18-06-2003	Ovelha
19000	28000			03_02439	18-06-2003	Ovelha
10	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	03_02600	09-07-2003	Ovelha
810	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	03_03568	24-09-2003	Mistura
8400	3700	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	03_03963	23-10-2003	Mistura
4300	10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	03_04173	07-11-2003	Ovelha
380	30	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	03_04605	10-12-2003	Ovelha

2004

Queijaria S						
E.coli	Staphyloc	Salmonella	Listeria	Nº de Amostra	F. Recepção	Tipo
6400	30	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	04_00063	06-01-2004	Mistura
>150000	>100000	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	04_00882	17-02-2004	Mistura
67000	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	04_01676	30-03-2004	Mistura
110000	100	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	04_01959	19-04-2004	Mistura
3400	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	04_02664	02-06-2004	Mistura
<10	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	04_03353	13-07-2004	Mistura
1200	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	04_04010	17-08-2004	Mistura
4600	20	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	04_04562	28-09-2004	Ovelha
18000	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	04_04979	19-10-2004	Ovelha
240	270	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	04_05919	14-12-2004	Mistura

2005

Queijaria S						
E.coli	Staphyloc.	Salmonella	Listeria	Nº de Amostra	F. Recepção	Tipo
81000	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	05_01094	22-02-2005	Mistura
4000	980	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	05_01745	29-03-2005	Mistura
>150000	10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	05_02562	26-04-2005	Mistura
>150000	120	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	05_03461	24-05-2005	Mistura
220	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	05_04199	28-06-2005	Mistura
45000	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	05_04788	20-07-2005	Mistura
270	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	05_06207	27-09-2005	Mistura
<10	80	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	05_06746	19-10-2005	Mistura
400	300	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	05_07187	04-11-2005	Ovelha
2100	140	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	05_08504	15-12-2005	Ovelha

2006

Queijaria S						
E.coli	Staphyloc.	Salmonella	Listeria	Nº de Amostra	F. Recepção	Tipo
2600	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	06_02806	29-03-2006	Mistura
610	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	06_03830	26-04-2006	Mistura
680	80	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	06_245097	31-05-2006	Mistura
<10	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	06_247119	13-07-2006	Ovelha
40000	120	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	06_247936	01-08-2006	Ovelha
83000	7200	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	06_250097	26-09-2006	Ovelha
230	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	06_251317	24-10-2006	Ovelha
91000	800	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	06_254804	27-11-2006	Ovelha
4000	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	06_254937	11-12-2006	Ovelha

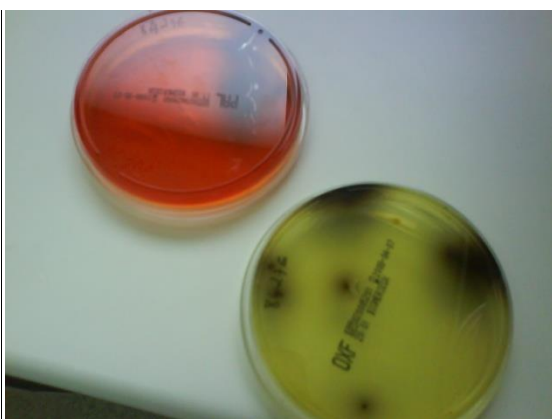
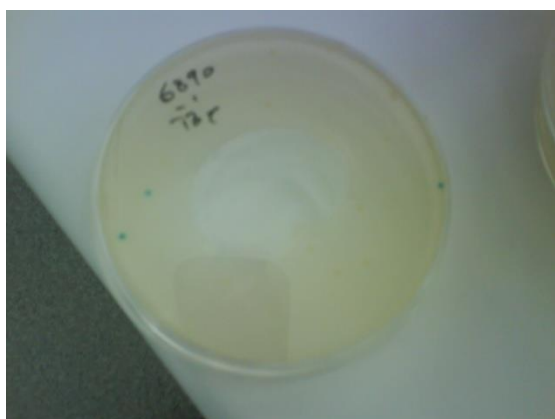
2007

Queijaria S						
E.coli	Staphyloc.	Salmonella	Listeria	Nº de Amostra	F. Recepção	Tipo
840	1500	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	07_203737	30-01-2007	Ovelha
860	260	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	07_203983	12-02-2007	Ovelha
>150000	1200	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	07_205403	16-04-2007	Ovelha
6300	30	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	07_207911	17-05-2007	Ovelha
10000	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	07_208392	04-06-2007	Ovelha
40000	400	PRESENÇA	AUSÊNCIA	07_210135	12-07-2007	Ovelha
31000	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	07_210331	28-08-2007	Ovelha
670	<10	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	07_213664	26-09-2007	Ovelha
4100	20	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	07_215084	11-10-2007	Ovelha
140	50	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	07_216034	28-11-2007	Ovelha
61000	320	AUSÊNCIA	AUSÊNCIA	07_216674	21-12-2007	Ovelha

Anexo II

Fotos de laboratório – Aquimisa





Anexo III

Análise estatística - SPSS

```
GET
  FILE='C:\Users\utilizador\Desktop\Estágio\análise
estatística\variaveisspss.sav'.
DATASET NAME DataSet1 WINDOW=FRONT.
CROSSTABS
  /TABLES=E.coli Staphylococcus Salmonella Listeria BY Queijarias
  /FORMAT=AVALUE TABLES
  /STATISTICS=CHISQ CC PHI
  /CELLS=COUNT ROW
  /COUNT ROUND CELL
  /BARCHART.
```

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
E.coli * Queijarias	102	100,0%	0	,0%	102	100,0%
Staphylococcus * Queijarias	102	100,0%	0	,0%	102	100,0%
Salmonella * Queijarias	102	100,0%	0	,0%	102	100,0%
Listeria * Queijarias	102	100,0%	0	,0%	102	100,0%

Listeria * Queijarias

Crosstab

			Queijarias		
			M	S	Total
Listeria	Ausência	Count	45	50	95
		% within Listeria	47,4%	52,6%	100,0%
	Presença	Count	7	0	7
		% within Listeria	100,0%	,0%	100,0%
	Total	Count	52	50	102
		% within Listeria	51,0%	49,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	7,227 ^a	1	,007		
Continuity Correction ^b	5,274	1	,022		
Likelihood Ratio	9,928	1	,002		
Fisher's Exact Test				,013	,007
Linear-by-Linear Association	7,156	1	,007		
N of Valid Cases	102				

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3,43.

b. Computed only for a 2x2 table

Symmetric Measures

		Value	Approx. Sig.
Nominal by Nominal	Phi	-,266	,007
	Cramer's V	,266	,007
	Contingency Coefficient	,257	,007
	N of Valid Cases	102	

***Salmonella* * Queijarias**

Crosstab

			Queijarias		
			M	S	Total
Salmonella	Ausência	Count	51	49	100
		% within Salmonella	51,0%	49,0%	100,0%
	Presença	Count	1	1	2
		% within Salmonella	50,0%	50,0%	100,0%
	Total	Count	52	50	102
		% within Salmonella	51,0%	49,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,001 ^a	1	,978		
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,001	1	,978		
Fisher's Exact Test				1,000	,743
Linear-by-Linear Association	,001	1	,978		
N of Valid Cases	102				

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,98.

b. Computed only for a 2x2 table

Symmetric Measures

		Value	Approx. Sig.
Nominal by Nominal	Phi	,003	,978
	Cramer's V	,003	,978
	Contingency Coefficient	,003	,978
	N of Valid Cases	102	

Staphylococcus * Queijarias

Crosstab

			Queijarias		
			M	S	Total
Staphylococcus	Satisfatório	Count	48	49	97
		% within Staphylococcus	49,5%	50,5%	100,0%
	Admissível	Count	3	0	3
		% within Staphylococcus	100,0%	,0%	100,0%
	Não Satisfatório	Count	1	1	2
		% within Staphylococcus	50,0%	50,0%	100,0%
	Total	Count	52	50	102
		% within Staphylococcus	51,0%	49,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	2,972 ^a	2	,226
Likelihood Ratio	4,130	2	,127
Linear-by-Linear Association	,772	1	,380
N of Valid Cases	102		

a. 4 cells (66,7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,98.

Symmetric Measures

		Value	Approx. Sig.
Nominal by Nominal	Phi	,171	,226
	Cramer's V	,171	,226
	Contingency Coefficient	,168	,226
	N of Valid Cases	102	

E.coli * Queijarias

Crosstab

			Queijarias		
			M	S	Total
E.coli	Satisfatório	Count	30	20	50
		% within E.coli	60,0%	40,0%	100,0%
	Admissível	Count	14	15	29
		% within E.coli	48,3%	51,7%	100,0%
	Não Satisfatório	Count	8	15	23
		% within E.coli	34,8%	65,2%	100,0%
	Total	Count	52	50	102
		% within E.coli	51,0%	49,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	4,127 ^a	2	,127
Likelihood Ratio	4,173	2	,124
Linear-by-Linear Association	4,081	1	,043
N of Valid Cases	102		

a. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 11,27.

Symmetric Measures

		Value	Approx. Sig.
Nominal by Nominal	Phi	,201	,127
	Cramer's V	,201	,127
	Contingency Coefficient	,197	,127
	N of Valid Cases	102	

```

CROSSTABS
  /TABLES=E.coli Staphylococcus Salmonella Listeria BY Ano BY Queijarias
  /FORMAT=AVALUE TABLES
  /STATISTICS=CHISQ CC PHI
  /CELLS=COUNT ROW
  /COUNT ROUND CELL
  /BARCHART.
  
```

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
E.coli * Ano * Queijarias	102	100,0%	0	,0%	102	100,0%
Staphylococcus * Ano * Queijarias	102	100,0%	0	,0%	102	100,0%
Salmonella * Ano * Queijarias	102	100,0%	0	,0%	102	100,0%
Listeria * Ano * Queijarias	102	100,0%	0	,0%	102	100,0%

Listeria * Ano * Queijarias

Crosstab

Queijarias				Ano					
				2003	2004	2005	2006	2007	Total
M	Listeria	Ausência	Count	9	11	6	9	10	45
			% within Listeria	20,0%	24,4%	13,3%	20,0%	22,2%	100,0%
		Presença	Count	0	1	4	2	0	7
			% within Listeria	,0%	14,3%	57,1%	28,6%	,0%	100,0%
		Total	Count	9	12	10	11	10	52
			% within Listeria	17,3%	23,1%	19,2%	21,2%	19,2%	100,0%
S	Listeria	Ausência	Count	10	10	10	9	11	50
			% within Listeria	20,0%	20,0%	20,0%	18,0%	22,0%	100,0%
		Total	Count	10	10	10	9	11	50
			% within Listeria	20,0%	20,0%	20,0%	18,0%	22,0%	100,0%

Chi-Square Tests

Queijarias		Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
M	Pearson Chi-Square	9,483 ^a	4	,050
	Likelihood Ratio	10,312	4	,035
	Linear-by-Linear Association	,064	1	,801
	N of Valid Cases	52		
S	Pearson Chi-Square	. ^b		
	N of Valid Cases	50		

a. 5 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1,21.

b. No statistics are computed because Listeria is a constant.

Symmetric Measures

Queijarias			Value	Approx. Sig.
M	Nominal by Nominal	Phi	,427	,050
		Cramer's V	,427	,050
		Contingency Coefficient	,393	,050
		N of Valid Cases	52	
S	Nominal by Nominal	Phi	. ^a	
		N of Valid Cases	50	

a. No statistics are computed because Listeria is a constant.

Salmonella * Ano * Queijarias**Crosstab**

Queijarias				Ano					
				2003	2004	2005	2006	2007	Total
M	Salmonella	Ausência	Count	9	11	10	11	10	51
			% within Salmonella	17,6%	21,6%	19,6%	21,6%	19,6%	100,0%
		Presença	Count	0	1	0	0	0	1
			% within Salmonella	,0%	100,0%	,0%	,0%	,0%	100,0%
		Total	Count	9	12	10	11	10	52
			% within Salmonella	17,3%	23,1%	19,2%	21,2%	19,2%	100,0%
S	Salmonella	Ausência	Count	10	10	10	9	10	49
			% within Salmonella	20,4%	20,4%	20,4%	18,4%	20,4%	100,0%
		Presença	Count	0	0	0	0	1	1
			% within Salmonella	,0%	,0%	,0%	,0%	100,0%	100,0%
		Total	Count	10	10	10	9	11	50
			% within Salmonella	20,0%	20,0%	20,0%	18,0%	22,0%	100,0%

Chi-Square Tests

Queijarias		Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
M	Pearson Chi-Square	3,399 ^a	4	,493
	Likelihood Ratio	2,999	4	,558
	Linear-by-Linear Association	,546	1	,460
	N of Valid Cases	52		
S	Pearson Chi-Square	3,618 ^b	4	,460
	Likelihood Ratio	3,102	4	,541
	Linear-by-Linear Association	1,903	1	,168
	N of Valid Cases	50		

a. 5 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,17.

b. 5 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,18.

Symmetric Measures

Queijarias			Value	Approx. Sig.
M	Nominal by Nominal	Phi	,256	,493
		Cramer's V	,256	,493
		Contingency Coefficient	,248	,493
		N of Valid Cases	52	
S	Nominal by Nominal	Phi	,269	,460
		Cramer's V	,269	,460
		Contingency Coefficient	,260	,460
		N of Valid Cases	50	

Staphylococcus * Ano * Queijarias

Crosstab

Queijarias				Ano					
				2003	2004	2005	2006	2007	Total
M	Staphylococcus	Satisfatório	Count	9	12	10	7	10	48
			% within Staphylococcus	18,8%	25,0%	20,8%	14,6%	20,8%	100,0%
		Admissível	Count	0	0	0	3	0	3
			% within Staphylococcus	,0%	,0%	,0%	100,0%	,0%	100,0%
		Não Satisfatório	Count	0	0	0	1	0	1
			% within Staphylococcus	,0%	,0%	,0%	100,0%	,0%	100,0%
		Total	Count	9	12	10	11	10	52
			% within Staphylococcus	17,3%	23,1%	19,2%	21,2%	19,2%	100,0%
S	Staphylococcus	Satisfatório	Count	10	9	10	9	11	49
			% within Staphylococcus	20,4%	18,4%	20,4%	18,4%	22,4%	100,0%
		Não Satisfatório	Count	0	1	0	0	0	1
			% within Staphylococcus	,0%	100,0%	,0%	,0%	,0%	100,0%
		Total	Count	10	10	10	9	11	50
			% within Staphylococcus	20,0%	20,0%	20,0%	18,0%	22,0%	100,0%

Chi-Square Tests

Queijarias		Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
M	Pearson Chi-Square	16,152 ^a	8	,040
	Likelihood Ratio	13,783	8	,088
	Linear-by-Linear Association	1,901	1	,168
	N of Valid Cases	52		
S	Pearson Chi-Square	4,082 ^b	4	,395
	Likelihood Ratio	3,302	4	,509
	Linear-by-Linear Association	,505	1	,477
	N of Valid Cases	50		

a. 10 cells (66,7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,17.

b. 5 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,18.

Symmetric Measures

Queijarias			Value	Approx. Sig.
M	Nominal by Nominal	Phi	,557	,040
		Cramer's V	,394	,040
		Contingency Coefficient	,487	,040
		N of Valid Cases	52	
S	Nominal by Nominal	Phi	,286	,395
		Cramer's V	,286	,395
		Contingency Coefficient	,275	,395
		N of Valid Cases	50	

***E.coli* * Ano * Queijarias**

Crosstab

Queijarias				Ano					
				2003	2004	2005	2006	2007	Total
M	E.coli	Satisfatório	Count	8	11	5	2	4	30
			% within E.coli	26,7%	36,7%	16,7%	6,7%	13,3%	100,0%
		Admissível	Count	1	0	4	5	4	14
			% within E.coli	7,1%	,0%	28,6%	35,7%	28,6%	100,0%
		Não Satisfatório	Count	0	1	1	4	2	8
			% within E.coli	,0%	12,5%	12,5%	50,0%	25,0%	100,0%
		Total	Count	9	12	10	11	10	52
			% within E.coli	17,3%	23,1%	19,2%	21,2%	19,2%	100,0%
		Satisfatório	Count	6	2	4	4	4	20
			% within E.coli	30,0%	10,0%	20,0%	20,0%	20,0%	100,0%
S	E.coli	Admissível	Count	4	4	2	2	3	15
			% within E.coli	26,7%	26,7%	13,3%	13,3%	20,0%	100,0%
		Não Satisfatório	Count	0	4	4	3	4	15
			% within E.coli	,0%	26,7%	26,7%	20,0%	26,7%	100,0%
		Total	Count	10	10	10	9	11	50
			% within E.coli	20,0%	20,0%	20,0%	18,0%	22,0%	100,0%

Chi-Square Tests

Queijarias		Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
M	Pearson Chi-Square	19,527 ^a	8	,012
	Likelihood Ratio	23,768	8	,003
	Linear-by-Linear Association	10,712	1	,001
	N of Valid Cases	52		
S	Pearson Chi-Square	7,138 ^b	8	,522
	Likelihood Ratio	10,156	8	,254
	Linear-by-Linear Association	1,142	1	,285
	N of Valid Cases	50		

a. 10 cells (66,7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1,38.

b. 15 cells (100,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,70.

Symmetric Measures

Queijarias			Value	Approx. Sig.
M	Nominal by Nominal	Phi	,613	,012
		Cramer's V	,433	,012
		Contingency Coefficient	,522	,012
		N of Valid Cases	52	
S	Nominal by Nominal	Phi	,378	,522
		Cramer's V	,267	,522
		Contingency Coefficient	,353	,522
		N of Valid Cases	50	

CROSSTABS

```

/TABLES=E.coli Staphylococcus Salmonella Listeria BY Tempo BY Queijarias
/FORMAT=AVALUE TABLES
/STATISTICS=CHISQ CC PHI
/CELLS=COUNT ROW
/COUNT ROUND CELL
/BARCHART.
    
```

Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
E.coli * Tempo * Queijarias	102	100,0%	0	,0%	102	100,0%
Staphylococcus * Tempo * Queijarias	102	100,0%	0	,0%	102	100,0%
Salmonella * Tempo * Queijarias	102	100,0%	0	,0%	102	100,0%
Listeria * Tempo * Queijarias	102	100,0%	0	,0%	102	100,0%

Listeria * Tempo * Queijarias

Crosstab

Queijarias				Tempo		
				Frio	Quente	Total
M	Listeria	Ausência	Count	23	22	45
			% within Listeria	51,1%	48,9%	100,0%
	Listeria	Presença	Count	7	0	7
			% within Listeria	100,0%	,0%	100,0%
	Total		Count	30	22	52
			% within Listeria	57,7%	42,3%	100,0%
S	Listeria	Ausência	Count	29	21	50
			% within Listeria	58,0%	42,0%	100,0%
	Total		Count	29	21	50
			% within Listeria	58,0%	42,0%	100,0%

Chi-Square Tests

Queijarias		Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
M	Pearson Chi-Square	5,932 ^a	1	,015	,016	,015
	Continuity Correction ^b	4,098	1	,043		
	Likelihood Ratio	8,491	1	,004		
	Fisher's Exact Test					
	Linear-by-Linear Association	5,818	1	,016		
	N of Valid Cases	52				
S	Pearson Chi-Square	.				
	N of Valid Cases	50				

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,96.

b. Computed only for a 2x2 table

c. No statistics are computed because Listeria is a constant.

Symmetric Measures

Queijarias			Value	Approx. Sig.
M	Nominal by Nominal	Phi	-,338	,015
		Cramer's V	,338	,015
		Contingency Coefficient	,320	,015
		N of Valid Cases	52	
S	Nominal by Nominal	Phi	.	
		N of Valid Cases	50	

a. No statistics are computed because Listeria is a constant.

Salmonella * Tempo * Queijarias

Crosstab

Queijarias				Tempo		
				Frio	Quente	Total
M	Salmonella	Ausência	Count	29	22	51
			% within Salmonella	56,9%	43,1%	100,0%
		Presença	Count	1	0	1
			% within Salmonella	100,0%	,0%	100,0%
		Total	Count	30	22	52
			% within Salmonella	57,7%	42,3%	100,0%
S	Salmonella	Ausência	Count	29	20	49
			% within Salmonella	59,2%	40,8%	100,0%
		Presença	Count	0	1	1
			% within Salmonella	,0%	100,0%	100,0%
		Total	Count	29	21	50
			% within Salmonella	58,0%	42,0%	100,0%

Chi-Square Tests

Queijarias		Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
M	Pearson Chi-Square	,748 ^a	1	,387	1,000	,577
	Continuity Correction ^b	,000	1	1,000		
	Likelihood Ratio	1,114	1	,291		
	Fisher's Exact Test					
	Linear-by-Linear Association	,733	1	,392		
	N of Valid Cases	52				
S	Pearson Chi-Square	1,409 ^c	1	,235	,420	,420
	Continuity Correction ^b	,027	1	,870		
	Likelihood Ratio	1,763	1	,184		
	Fisher's Exact Test					
	Linear-by-Linear Association	1,381	1	,240		
	N of Valid Cases	50				

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,42.

b. Computed only for a 2x2 table

c. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,42.

Symmetric Measures

Queijarias			Value	Approx. Sig.
M	Nominal by Nominal	Phi	-,120	,387
		Cramer's V	,120	,387
		Contingency Coefficient	,119	,387
		N of Valid Cases	52	
S	Nominal by Nominal	Phi	,168	,235
		Cramer's V	,168	,235
		Contingency Coefficient	,166	,235
		N of Valid Cases	50	

Staphylococcus * Tempo * Queijarias

Crosstab

Queijarias				Tempo		
				Frio	Quente	Total
M	Staphylococcus	Satisfatório	Count	28	20	48
			% within Staphylococcus	58,3%	41,7%	100,0%
		Admissível	Count	1	2	3
			% within Staphylococcus	33,3%	66,7%	100,0%
		Não Satisfatório	Count	1	0	1
			% within Staphylococcus	100,0%	,0%	100,0%
		Total	Count	30	22	52
			% within Staphylococcus	57,7%	42,3%	100,0%
S	Staphylococcus	Satisfatório	Count	28	21	49
			% within Staphylococcus	57,1%	42,9%	100,0%
		Não Satisfatório	Count	1	0	1
			% within Staphylococcus	100,0%	,0%	100,0%
		Total	Count	29	21	50
			% within Staphylococcus	58,0%	42,0%	100,0%

Chi-Square Tests

Queijarias		Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
M	Pearson Chi-Square	1,471 ^a	2	,479		
	Likelihood Ratio	1,830	2	,401		
	Linear-by-Linear Association	,008	1	,928		
	N of Valid Cases	52				
S	Pearson Chi-Square	,739 ^b	1	,390		
	Continuity Correction ^c	,000	1	1,000		
	Likelihood Ratio	1,104	1	,293		
	Fisher's Exact Test				1,000	,580
	Linear-by-Linear Association	,724	1	,395		
	N of Valid Cases	50				

a. 4 cells (66,7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,42.

b. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,42.

c. Computed only for a 2x2 table

Symmetric Measures

Queijarias			Value	Approx. Sig.
M	Nominal by Nominal	Phi	,168	,479
		Cramer's V	,168	,479
		Contingency Coefficient	,166	,479
		N of Valid Cases	52	
S	Nominal by Nominal	Phi	-,122	,390
		Cramer's V	,122	,390
		Contingency Coefficient	,121	,390
		N of Valid Cases	50	

***E.coli* * Tempo * Queijarias**

Crosstab

Queijarias				Tempo		
				Frio	Quente	Total
M	E.coli	Satisfatório	Count	16	14	30
			% within E.coli	53,3%	46,7%	100,0%
		Admissível	Count	11	3	14
			% within E.coli	78,6%	21,4%	100,0%
		Não Satisfatório	Count	3	5	8
			% within E.coli	37,5%	62,5%	100,0%
		Total	Count	30	22	52
			% within E.coli	57,7%	42,3%	100,0%
S	E.coli	Satisfatório	Count	11	9	20
			% within E.coli	55,0%	45,0%	100,0%
		Admissível	Count	9	6	15
			% within E.coli	60,0%	40,0%	100,0%
		Não Satisfatório	Count	9	6	15
			% within E.coli	60,0%	40,0%	100,0%
		Total	Count	29	21	50
			% within E.coli	58,0%	42,0%	100,0%

Chi-Square Tests

Queijarias		Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
M	Pearson Chi-Square	4,070 ^a	2	,131
	Likelihood Ratio	4,263	2	,119
	Linear-by-Linear Association	,013	1	,908
	N of Valid Cases	52		
S	Pearson Chi-Square	,123 ^b	2	,940
	Likelihood Ratio	,123	2	,940
	Linear-by-Linear Association	,094	1	,759
	N of Valid Cases	50		

a. 2 cells (33,3%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3,38.

b. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 6,30.

Symmetric Measures

Queijarias			Value	Approx. Sig.
M	Nominal by Nominal	Phi	,280	,131
		Cramer's V	,280	,131
		Contingency Coefficient	,269	,131
		N of Valid Cases	52	
S	Nominal by Nominal	Phi	,050	,940
		Cramer's V	,050	,940
		Contingency Coefficient	,050	,940
		N of Valid Cases	50	

Anexo IV

