

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA
AGRÍCOLA E DO AMBIENTE

Vitória Leite Di Domenico

**MONITORAMENTO DA QUALIDADE DO LEITE DE BÚFALA (*Bubalus bubalis*)
PRODUZIDO NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL AGRONÔMICA DA UFRGS E
DESENVOLVIMENTO DO QUEIJO COLONIAL BUBALINO**

Porto Alegre
2023

Vitoria Leite Di Domenico

**MONITORAMENTO DA QUALIDADE DO LEITE DE BÚFALA (*Bubalus bubalis*)
PRODUZIDO NA ESTAÇÃO EXPERIMENTAL AGRONÔMICA DA UFRGS E
DESENVOLVIMENTO DO QUEIJO COLONIAL BUBALINO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de mestra em Microbiologia Agrícola e do Ambiente.

Orientadora: Prof^a Dr^a Amanda de Souza da Motta

Porto Alegre

2023

CIP - Catalogação na Publicação

Di Domenico, Vitória Leite

Monitoramento da qualidade do leite de búfala (Bubalus bubalis) produzido na Estação Experimental Agronômica da UFRGS e desenvolvimento do queijo Colonial bubalino / Vitória Leite Di Domenico. -- 2023.

88 f.

Orientadora: Amanda de Souza da Motta.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Porto Alegre, BR-RS, 2023.

1. búfalo. 2. boas práticas agropecuárias. 3. queijo artesanal. 4. orégano. 5. microbiologia. I. Motta, Amanda de Souza da, orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS

Durante esta caminhada, tive ao meu lado pessoas que representam uma importante contribuição no desenvolvimento deste projeto. Primeiramente agradeço à minha **família**, por todo apoio e incentivo. Em especial, aos meus pais **Joice e André**, e aos meus irmãos **Andressa e Pedro**, que sempre me incentivaram e acreditaram na minha capacidade, servindo de alicerce para as minhas realizações. Ao meu namorado, **Samuel**, que acima de tudo é um grande amigo, sempre presente nos momentos me apoiando, agradeço por toda ajuda e incentivo. Obrigada pela compreensão e paciência durante o período do projeto. Vocês foram essenciais!

Agradeço à minha orientadora, **Prof^a. Amanda de Souza da Motta**, que me orientou nesta jornada de construção da trajetória acadêmica. Obrigada pela oportunidade e pelas contribuições dadas durante todo o processo!

Agradeço à toda equipe da **Estação Experimental Agronômica da UFRGS**, que sempre foi muito acolhedora neste lugar que se tornou minha segunda casa durante o mestrado. Em especial ao Diretor **Prof. Rafael Dionello** e à Médica Veterinária **Dr^a. Verônica Rolim**, por todo apoio e assistência prestada ao longo deste projeto.

Agradeço à **Ana Raisia Paiva do ICTA**, por ter me recebido tão bem e auxiliado na produção dos queijos, mas também pela colaboração para a análise dos ácidos graxos. Agradeço também à **equipe do LFDA/RS-MAPA**, em especial à **Louise Jank** e a **Caroline Andrade Tomaszewski**, por colaborarem nas análises de resíduos.

Agradeço ao meu grupo de trabalho, **Franciele Fernandes, Júlia Bopp, Henrique Rodrigues e Fábio Costa**, que juntamente ao **Samuel**, me acompanharam no último ano em todos os manejos, sob sol ou chuva, e sempre foram incansáveis. Juntos conseguimos crescer, ultrapassando todos os obstáculos! Agradeço também à todas amigas e amigos que me acompanharam ao longo dessa trajetória, com palavras de afeto, e compreendendo as minhas ausências.

Agradeço às meninas do laboratório (antigo 222-C, e agora 538), em especial à **Priscila Jankoski, Andreia Lermen, Nathasha Noronha e Fernanda Genehr**, que muito além de colegas, se tornaram minhas amigas. Obrigada pela troca de experiências e parceria de sempre!

Aos professores do **PPGMAA**, e a secretária **Eladir Rodrigues**, que

sempre me auxiliou quando precisei!

A **Associação Sulina de Criadores de Búfalos (ASCRIBU)** por toda parceria, e apoio. Obrigada por acreditarem no trabalho da Universidade!

Por fim, agradeço à **Universidade Federal do Rio Grande do Sul** e à **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pela concessão da bolsa.

MONITORAMENTO DA QUALIDADE DO LEITE DE BÚFALA (*Bubalus bubalis*) PRODUZIDO NA EEA-UFRGS E DESENVOLVIMENTO DO QUEIJO COLONIAL BUBALINO¹

Autora: Vitória Leite Di Domenico

Orientadora: Prof^a Dr^a Amanda de Souza da Motta

RESUMO

No Brasil e em vários países, o leite de búfala se destina à fabricação de derivados como a mozzarella, mas ainda se carece de um regulamento técnico que estabeleça padrões de identidade e qualidade para o leite bubalino. O objetivo deste estudo foi monitorar a qualidade do leite bubalino produzido na Estação Experimental Agrônômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, bem como desenvolver um queijo Colonial bubalino. Em um primeiro momento, foi realizado o monitoramento da qualidade do leite na Estação Experimental Agrônômica da UFRGS, que possibilitou a produção do queijo Colonial com leite bubalino. A partir das especiarias utilizadas na produção dos queijos, foram realizados experimentos afim de estudar o potencial antimicrobiano dos mesmos. As médias obtidas para gordura, proteína, lactose, sólidos totais, sólidos não gordurosos, acidez, densidade, índice crioscópico, contagem de células somáticas e contagem padrão em placa foram 4,84 g/100 g, 4,64 g/100 g, 5,06 g/100g, 15,26 g/100 g, 10,42 g/100g, 0,18 g ácido láctico/100 mL de leite, 1,037 g/cm³, -0,533°C, 3,5 x10⁵ cél/mL e 8,0 x10³ UFC/ml, respectivamente. Não foram identificados resíduos de antibióticos e antiparasitários, e foi observada a predominância dos ácidos graxos palmítico (C16:0) e oleico (C18:1- cis (n9)). A produção do queijo Colonial a partir do leite bubalino apresentou uma boa viabilidade, além de estar em conformidade com a legislação vigente. Através da adição do uso de especiarias, foi possível obter variações do produto, além de estudar o potencial antimicrobiano do orégano, que demonstrou a capacidade de inibir bactérias patogênicas de alimentos, como o *Staphylococcus aureus*. Portanto o leite de búfala foi identificado como uma matéria prima atrativa para a prospecção de queijo Colonial, bem como uso do orégano proporcionou não apenas uma diferenciação no produto final, mas também a conservação do mesmo.

Palavras chave: boas práticas agropecuárias, *Bubalus bubalis*, búfalo, Colonial, leite cru, microbiologia, orégano.

¹Dissertação de Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente – Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (88 p.) Março, 2023.

MONITORING THE QUALITY OF BUFFALO MILK (*Bubalus bubalis*) PRODUCED IN THE EEA-UFRGS AND DEVELOPMENT OF COLONIAL BUFFALO CHEESE¹

Author: Vitória Leite Di Domenico

Advisor: Prof^a Dr^a Amanda de Souza da Motta

ABSTRACT

In Brazil and in several countries, buffalo milk is used to manufacture derivatives such as mozzarella, but there is still a lack of a technical regulation that establishes identity and quality standards for buffalo milk. The aim of this study was to monitor the quality of buffalo milk produced at the Experimental Agronomic Station of the Federal University of Rio Grande do Sul, as well as to develop a buffalo Colonial cheese. At first, milk quality was monitored at the UFRGS Agronomic Experimental Station, which enabled the production of Colonial cheese with buffalo milk. From the spices used in cheese production, experiments were carried out to study their antimicrobial potential. The averages obtained for fat, protein, lactose, total solids, non-fat solids, acidity, density, cryoscopic index, somatic cell count and standard plate count were 4.84 g/100 g, 4.64 g/100 g, 5.06 g/100g, 15.26 g/100 g, 10.42 g/100g, 0.18 g lactic acid/100 mL, 1.037 g/cm³, -0.533°C, 3.5 x10⁵ cél/mL e 8.0 x10³ CFU/ml. Residues of antibiotics and antiparasitics were not identified, and the predominance of palmitic (C16:0) and oleic (C18:1- cis (n9)) fatty acids was observed. The production of Colonial cheese from buffalo milk showed good viability. Through the addition of spices, it was possible to obtain product variations, in addition to studying the antimicrobial potential of oregano, which demonstrated the ability to inhibit foodborne pathogenic bacteria, such as *Staphylococcus aureus*. Therefore, buffalo milk was identified as an attractive raw material for prospecting Colonial cheese, as well as the use of oregano provided not only a differentiation in the final product, but also its conservation.

Keywords: good agricultural practices, *Bubalus bubalis*, buffalo, colonial, raw milk, microbiology, oregano.

¹Master of Science Thesis in Agricultural and Environmental Microbiology – Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (88 p.) March, 2023.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	1
2.	OBJETIVOS	3
2.1	Objetivo Geral.....	3
2.2	Objetivos Específicos	3
3.	REVISÃO DA LITERATURA	4
3.1	Bubalinocultura	4
3.2	Leite bubalino	4
3.3	Fatores que influenciam na qualidade do leite bubalino	6
3.4	Produção de derivados com leite bubalino	9
3.4.1	Queijo colonial	10
3.5	Uso de especiarias na indústria de alimentos	12
4.	MATERIAL E MÉTODOS	15
4.1	Monitoramento da qualidade do leite de búfala produzido na EEA-UFRGS. 15	
4.1.1	Local de estudo e manejo do rebanho experimental	15
4.1.2	Coleta de amostras de leite bubalino.....	15
4.1.2.1	Sanidade da glândula mamária	16
4.1.2.2	Análises de leite individuais: Contagem de Células Somáticas e composição centesimal	17
4.1.2.3	Análises do leite de conjunto: Físico-químico e Contagem Padrão em Placa.....	18
4.1.2.4	Resíduos de antibióticos e antiparasitários	18
4.1.2.5	Perfil de ácidos graxos	18
4.1.3	Coleta e análise microbiológica das amostras de água.....	19
4.2	Desenvolvimento e caracterização do queijo Colonial bubalino	19
4.2.1	Produção dos queijos Coloniais bubalinos	19
4.2.2	Preparo das amostras dos queijos	22
4.2.2.1	Análises bromatológicas dos queijos artesanais tipo Colonial bubalino	22
4.2.2.2	Análises microbiológicas dos queijos coloniais bubalinos	23
4.3	Potencial antimicrobiano das especiarias.....	25
4.3.1	Culturas indicadoras	25
4.3.2	Produção dos extratos aquosos das especiarias	26
4.3.3	Teste <i>in vitro</i> com extrato aquoso das especiarias.....	26
4.3.4	Teste em matriz alimentar leite com o orégano desidratado	27

4.4	Análise estatística.....	28
5.	RESULTADOS	30
5.1	Monitoramento da qualidade do leite de búfala (<i>Bubalus bubalis</i>) produzido na Estação Experimental Agronômica da UFRGS	30
5.1.1	Rebanho bubalino.....	30
5.1.2	Sanidade da glândula mamária	30
5.1.3	Análises de leite individuais: Contagem de Células Somáticas e composição centesimal	32
5.1.4	Análises do leite de conjunto: Físico-químico e Contagem Padrão em Placa.....	36
5.1.5	Resíduos de antimicrobianos e antiparasitários	36
5.1.6	Perfil de ácidos graxos	36
5.1.7	Análise microbiológica das amostras de água.....	39
5.2	Desenvolvimento e caracterização do queijo Colonial bubalino	40
5.2.1	Produção dos queijos Coloniais bubalinos	40
5.2.2	Análises bromatológicas dos queijos Coloniais bubalinos.....	42
5.2.3	Análises microbiológicas dos queijos Coloniais bubalinos	42
5.3	Potencial antimicrobiano das especiarias.....	43
5.3.1	Teste <i>in vitro</i> com extrato aquoso das especiarias.....	43
5.3.2	Teste em matriz alimentar leite com orégano desidratado	45
6.	DISCUSSÃO	48
7.	CONCLUSÕES	59
8.	REFERÊNCIAS	60
9.	APÊNDICES	69
9.1	Manual de Boas Práticas Agropecuárias.....	69
9.2	Submissão do Artigo.....	71
10.	ANEXOS	74
10.1	Carta de aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA).....	74
10.2	Aplicativo de gestão de bubalinos	75

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Valores médios da composição do leite de búfala na literatura.....	5
Tabela 2. Legislação para leite cru bovino e bubalino.....	6
Tabela 3. Tratamentos com extrato aquoso das especiarias utilizados nos testes in vitro.....	27
Tabela 4. Tratamentos e condições de incubação das amostras de leite de búfala para o teste em matriz alimentar.....	28
Tabela 5. Resultados do teste da caneca de fundo preto e do California Mastitis Test (CMT) realizados como parte do protocolo para manejo da saúde da glândula mamária.....	31
Tabela 6. Médias mensais das análises individuais para CCS, composição centesimal e produção de leite bubalino na EEA/UFRGS.....	33
Tabela 7. Média individual das búfalas A, B, C, D e E durante a lactação para CCS, composição centesimal e produção de leite na EEA/UFRGS.....	35
Tabela 8. Médias mensais dos resultados físico-químicos e de CPP do leite bubalino de conjunto produzido na EEA/UFRGS.....	36
Tabela 9. Ácidos graxos livres (AGL) do leite de bubalino produzido de conjunto na EEA-UFRGS.....	37
Tabela 10. Resultado das análises de água realizadas no Tambo da EEA-UFRGS.....	39
Tabela 11. Análises bromatológicas dos queijos coloniais bubalinos.....	42
Tabela 12. Contagens microbiológicas dos queijos coloniais bubalinos.....	42
Tabela 13. Média e desvio padrão dos halos de inibição obtidos através dos testes in vitro com extrato aquoso das especiarias nos microrganismos indicadores e microrganismos isolados a partir de amostras de queijo artesanal no Rio Grande do Sul em 10^6 UFC/mL.....	44
Tabela 14. Média das contagens de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 para o teste do orégano na matriz alimentar leite incubado em temperatura ambiente e sob refrigeração por 48 horas.....	46

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Fluxograma de produção dos queijos coloniais bubalinos.....	20
Figura 2. Pingo, ou fermento lácteo natural, liofilizado.....	21
Figura 3. Leite bubalino durante o processo de coagulação.....	21
Figura 4A. Corte da massa após a coagulação.....	21
Figura 4B. Processo de dessoragem após o corte da massa.....	21
Figura 5A. Queijo Colonial bubalino (CB) durante a salga a seco.....	41
Figura 5B. Queijo Colonial bubalino (CB) após 28 dia de maturação.....	41
Figura 6A. Queijo Colonial bubalino com tomate seco (CTS) após produção.....	41
Figura 6B. Queijo Colonial com tomate seco (CTS) após 28 dia de maturação.....	41
Figura 7A. Queijo Colonial bubalino com orégano e pimenta calabresa (COP) após produção.....	41
Figura 7B. Queijo Colonial com orégano e pimenta calabresa (COP) após 28 dia de maturação.....	41
Figura 8. Curva de crescimento do <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 em matriz alimentar leite nos tratamentos com adição de orégano 0,25% e controles sem orégano em duas temperaturas de incubação por um período de 48 horas.....	47

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CB	Queijo Colonial bubalino
CBT	Contagem Bacteriana Total
CCS	Contagem de Células Somáticas
CMT	California Matitis Test
COP	Queijo Colonial bubalino com orégano e pimenta calabresa
CTS	Queijo Colonial bubalino com tomate seco
EEA	Estação Experimental Agronômica
g	Grama
ICBS	Instituto de Ciências Básicas da Saúde
ICTA	Instituto de Ciência e Tecnologia dos Alimentos
L	Litro
mL	Mililitro
mm	Milímetro
MS	Matéria seca
RTIQ	Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade
SNG	Sólidos não gordurosos
ST	Sólidos totais
UA	Unidade Animal
UFC	Unidades formadoras de colônias
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul

1. INTRODUÇÃO

A exploração leiteira dos bubalinos é uma atividade que tem crescido nos últimos anos e atualmente é o segundo mais produzido no mundo, ficando atrás apenas do leite bovino. Isto ocorre principalmente devido às características físico-químicas apresentadas pelo leite, que possui teores de gordura, proteína e sólidos totais maiores quando comparado ao leite bovino. Apesar de apresentar mais gordura, a concentração total de colesterol do leite bubalino é inferior a encontrada no leite das vacas bovinas, além de possuir valores elevados de ácidos graxos de cadeia longa, como o ácido linoleico conjugado (CLA), conhecido como Ômega 3, que atua contra a obesidade e possui efeito anti-inflamatório.

Entretanto, a qualidade do leite cru de búfala pode variar devido a alguns fatores ambientais que influenciam cada um de seus componentes, como por exemplo a nutrição animal, o estágio da lactação e a estação do ano; sendo que os teores de gordura, proteína e sólidos totais são os mais susceptíveis a influência desses fatores. Além disso, ainda pode estar exposto a fontes de contaminação microbiológica provenientes do ambiente produtivo, através de fatores como o manejo, a higiene da ordenha, e a qualidade da água, que contribuem de modo importante para as condições microbiológicas do leite como produto. Dessa forma, torna-se importante a adequação do manejo de ordenha às Boas Práticas Agropecuárias (BPA), que são processos que devem ocorrer em todas as etapas da produção para assegurar a inocuidade do leite e de seus derivados.

Pelas características apresentadas, o leite de búfala torna-se uma matéria prima de qualidade para a elaboração de queijos e outros derivados. Todas as suas propriedades refletem nos produtos derivados, que além de possuírem inúmeros benefícios para a saúde, ainda demonstram um rendimento quase 50% superior ao do leite bovino. No Brasil, o leite de búfala destina-se principalmente ao mercado de derivados como a mozzarella, entretanto, prospectar o desenvolvimento de outros produtos como um queijo Colonial com leite bubalino, poderá ser uma alternativa importante, considerando o atual cenário de desenvolvimento de produtos artesanais e seu respaldo legal. O queijo Colonial, produzido pela coagulação e fermentação do leite bovino, tem na sua origem relação com a colonização italiana no Estado do Rio Grande do Sul, sendo considerado um patrimônio das comunidades que o produzem. A importância regional do queijo Colonial, associada às características apresentadas pelo leite bubalino, indicam um mercado em potencial a ser explorado.

Assim, este estudo foi motivado pela busca da consolidação do rebanho bubalino leiteiro da Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (EEA-UFRGS), através do monitoramento dos padrões de identidade e qualidade do leite bubalino produzido durante a implantação do sistema de produção, possibilitando o estabelecimento de um controle mais profícuo, com perspectiva de expansão do rebanho experimental e desenvolvimento de produtos derivados em pesquisas futuras.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Os objetivos deste estudo foram monitorar a qualidade do leite bubalino produzido na Estação Experimental da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (EEA-UFRGS), bem como desenvolver e caracterizar um queijo Colonial a partir do leite bubalino.

2.2 Objetivos Específicos

- 2.2.1** Realizar o manejo da sanidade da ordenha e da glândula mamária;
- 2.2.2** Estudar a qualidade do leite bubalino produzido na EEA-UFRGS;
- 2.2.3** Desenvolver e caracterizar um queijo Colonial a partir do leite bubalino;
- 2.2.4** Estudar o potencial antimicrobiano de especiarias utilizadas na produção do queijo frente a bactérias patogênicas de alimentos.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Bubalinocultura

Os búfalos são animais da família Bovidae, subfamília Bovinae e espécie *Bubalus bubalis*, que vêm sendo utilizados como recurso animal de grande importância em muitos países da Ásia, Europa e na América Latina (Perera, 2011), sendo o Brasil um dos maiores centros de criação de bubalinos fora da Ásia (Neto et al., 2020). No ano de 2020, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2020), o efetivo de bubalinos contabilizados no Brasil foi de 1.502.482 cabeças no Brasil e 48.883 cabeças no Rio Grande do Sul.

A criação de búfalos foi difundida mundialmente, devido à superioridade econômica que pode apresentar em relação a outros ruminantes domésticos, principalmente no que diz respeito à rusticidade e adaptação às várias condições climáticas e manejo (Lourenço Junior, 2005). Segundo Mirmahmoudi e Prakash (2012) a importância econômica na exploração desses animais reside também, nas vantagens proporcionadas quanto à fertilidade, longevidade, eficiência de conversão alimentar e aptidão para a produção de leite, carne e trabalho. O búfalo é considerado um animal de dupla aptidão, pois possui capacidade de produzir leite e carne, e se apresenta como uma importante fonte alternativa de produção de alimentos para suprir as demandas dos países em desenvolvimento (Sales, 1995), por aproveitarem melhor as forrageiras de reduzido valor nutritivo, em áreas de difícil utilização por outras espécies e pela agricultura, como áreas inundadas ou de relevo acidentado (Ohly & Hund, 1996).

3.2 Leite bubalino

A exploração leiteira dos bubalinos é uma atividade que tem crescido no mundo nos últimos anos e entre 2010 e 2020 esse crescimento foi de aproximadamente 45% (FAO, 2021). Isto ocorreu principalmente às características apresentadas pelo leite, que possui níveis elevados de proteína, gordura e minerais quando comparado ao leite da vaca bovina (Zanela, 2011; Pignata et al., 2014; Godinho et al., 2020), conforme descrito na Tabela 1. No Rio Grande do Sul, em um estudo realizado por Godinho et al. (2020), foi possível realizar um mapeamento de 100% dos produtores de leite bubalino no Estado, estabelecendo os padrões de identidade e qualidade do leite produzido.

Tabela 1. Valores médios da composição do leite de búfala na literatura

Autor	Estado	Gordura (g/100 g)	Proteína (g/100 g)	Lactose (g/100 g)	Sólidos Totais (g/100 g)
Amaral et al. (2004)	Minas Gerais	6,83	4,19	4,93	17,19
Godinho et al. (2020)	Rio Grande do Sul	5,5	4,06	5,07	15,5

O Brasil concentra o maior rebanho de búfalos do Ocidente, o que mostra um grande potencial de mercado e atualmente, aproximadamente 30% das criações são destinadas à produção de leite (ABCB, 2021). O leite bubalino é o segundo mais produzido no mundo, ficando atrás apenas do leite bovino, e em 2019 representava aproximadamente 15% da produção mundial de leite (FAO, 2021). De acordo com a OECD/FAO (2021), uma colaboração entre a Organização para o Desenvolvimento da Cooperação Econômica (OECD) e a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), essa produção deve aumentar 1.7% ao ano na próxima década para atender ao aumento do consumo mundial de produtos lácteos, impulsionado pelo aumento da população e da renda em países em desenvolvimento.

Apesar de ser mais calórico, a concentração total de colesterol por 100 gramas de lipídeos no leite de búfala é inferior a encontrada no leite das vacas bovinas (275 mg versus 330 mg por 100 g de gordura) (Franciscis & Di Palo, 1994). Os resultados apresentados por Verruma & Salgado (1994) indicaram valores elevados de ácidos graxos de cadeia longa, como o ácido linoleico conjugado (CLA), popularmente conhecido como Ômega 3, que atua contra a obesidade, possui efeito anti-inflamatório e diminui os níveis de triglicerídeos do sangue. Em um estudo comparativo realizado por Pignata et al. (2014), foram constatados resultados semelhantes com menores teores de colesterol e menor razão entre os ácidos graxos Ômega 6/Ômega 3 em relação ao leite de bovino.

As proteínas do leite são divididas em caseínas e proteínas do soro (albumina, globulinas e imunoglobulinas), sendo que as caseínas representam aproximadamente 20% do total das proteínas presentes. Um aspecto importante com relação às caseínas, é que em um estudo de caso realizado em Harvard (Sheehan & Phipatanakul, 2009), foi verificado que pessoas que possuíam alergia às proteínas do leite bovino não demonstravam as mesmas reações quando consumiam leite bubalino. Isso se deve ao fato de que o leite de búfala possui apenas a beta-caseína

A2 e não a beta-caseína A1, proteína que está ligada ao surgimento de inflamações intestinais, excesso de contrações, e responsável pelo desencadeamento de alergias no consumo de leite bovino (Mishra et al., 2009).

O leite de búfala é ainda uma importante fonte das vitaminas, como a B2 (riboflavina), A (retinol), C (ácido ascórbico) e D, cuja principal função é regular o fornecimento de cálcio e fósforo no organismo. Também rico em minerais, se destaca pelos teores de cálcio e ferro, apresentando uma relação Ca:P de 1,71, enquanto no leite bovino é de 1,31 (Franciscis & Di Palo, 1994).

No Brasil, o leite de búfala destina-se principalmente ao mercado de derivados, que está em ascensão (Ricci & Domingues, 2012) entretanto, ainda carece de um regulamento técnico que estabeleça os seus padrões de identidade e qualidade. Como o Brasil não possui legislação federal específica para o leite bubalino, deve-se atender o estabelecido na Instrução Normativa nº 76 de 26 de novembro de 2018 (Brasil, 2018b), do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), e apenas o Estado de São Paulo possui limites específicos para o leite de búfala, estabelecidos na Resolução SAA – 03 (São Paulo, 2008), ambas descritas na Tabela 2.

Tabela 2. Legislação para leite cru bovino e bubalino

Legislação	Gordura (g/100g)	Proteína (g/100g)	Lactose (g/100g)	SNG (g/100g)	ST (g/100 g)	Acidez (g ácido/100 mL)	Densidade (g/cm ³)	IC (°C)
In 76 (Brasil, 2018b)	3,0	2,9	4,3	8,4	11,4	0,14 à 0,18	1,028 à 1,034	-0,512 à -0,536
SAA-03 (São Paulo, 2008)	4,5	-	-	8,57	13,07	0,14 à 0,23	1,028 à 1,034	-0,520 à -0,570

In: instrução normativa. SAA: resolução da Secretaria de Agricultura e Abastecimento. SNG: sólidos não gordurosos. ST: sólidos totais. IC: índice crioscópico.

3.3 Fatores que influenciam na qualidade do leite bubalino

Muitos parâmetros podem ser usados para avaliar a qualidade do leite; entre elas estão características físico-químicas, nutricionais, higiênicas e sanitárias. As principais características físico-químicas geralmente consideradas como parâmetros de qualidade do leite são: proteínas, gorduras, lactose, cálcio e sólidos desengordurados. Para a avaliação sanitária é importante verificar, além da contaminação microbiológica, a presença de células somáticas (Jorge et al., 2005; Pasquini et al., 2018). Mas apesar de possuir inúmeros benefícios, a qualidade do leite

pode variar devido a diversos fatores que influenciam cada um de seus componentes, como fatores ambientais, nutrição, estágio da lactação e qualidade da ordenha.

Em um estudo desenvolvido por Amaral et al. (2004), os autores demonstraram que os níveis de gordura, proteína e sólidos totais são os mais susceptíveis à influência desses fatores. Foram reportados maiores percentuais de gordura na primavera e menores no outono e no verão; enquanto que para a proteína, há teores mais elevados no verão e os menores no inverno. As variações dos sólidos totais acompanharam as dos níveis de gordura, devido a este ser o teor que sofre maior alteração. Estes resultados estão de acordo com os reportados por Godinho et al. (2020) em um estudo realizado com os produtores bubalinos do Rio Grande do Sul, em que no verão, a média de proteína e SNG no leite bubalino produzido no Rio Grande do Sul foi de 4.27 g/100 g e 10.17 g/100 g, respectivamente, enquanto no inverno a proteína reduziu para 3.9 g/100 g e os SNG para 9.83 g/100g.

Essas variações que ocorrem na qualidade do leite referente as estações também podem ser explicadas, em parte, devido ao comportamento reprodutivo das búfalas. O fotoperíodo é o principal regulador desse comportamento, pois as búfalas são poliéstricas sazonais de dias curtos, ou seja, possuem como estímulo para a reprodução a diminuição da luminosidade (Torres-Jr, 2016). Dessa forma, com a estação de monta estabelecida nos meses de outono, há a concentração das parições nos meses de verão, com um conseqüente aumento no número de animais em início de lactação.

Os componentes do leite ainda estão sujeitos a variações nutricionais, como a relação entre volumoso e concentrado, quantidade e qualidade da fibra, e tipo de concentrado. De uma forma geral, as búfalas em lactação produzem bem quando o alimento é fornecido em quantidade suficiente para cobrir as exigências de manutenção e produção (Bernardes, 2010). Entretanto, a adequação das exigências das búfalas tem sido uma dificuldade para os produtores, devido à escassez de informações específicas, que muitas vezes são baseadas nas exigências de vacas bovinas e em algumas situações, mal atendem a manutenção durante o inverno.

Além disso, variações na contagem de células somáticas (CCS) também devem ser monitoradas com atenção, já que a mesma pode ser considerada um indicador da sanidade do rebanho. A presença de elevadas contagens no leite infere o risco de contaminação por patógenos, enquanto uma baixa CCS pode ser considerada reflexo do bom estado sanitário do rebanho (Smith, 2001). A mastite, que

provoca o aumento da contagem de células somática, pode promover também alterações na composição do leite, como a gordura, proteína e lactose. Isto ocorre porque a inflamação gera uma alteração na permeabilidade dos vasos sanguíneos, prejudicando a síntese do leite pelo tecido secretor da glândula mamária, além da ação direta dos microrganismos patogênicos e de suas enzimas (Machado et al., 2000). Devido às penalidades aplicadas pelos laticínios, redução na produção e gastos com medicamentos, a alta CCS representa, portanto, um menor retorno financeiro para o produtor (García, 2014). O limite estabelecido para a CCS em leite cru, de acordo com a Instrução Normativa nº 76 de 26 de novembro de 2018 (Brasil, 2018b), é de 500.000 cel/mL, enquanto o valor médio obtido por Godinho et al. (2020) para leite bubalino no Rio Grande do Sul foi de 95.000 cel/mL.

O leite cru pode conter ainda uma alta contaminação microbiológica proveniente do ambiente produtivo, devido a fatores como a qualidade da água e higienização de utensílios, que contribuem de modo importante para as condições microbiológicas do leite como produto e seus derivados. De acordo com Perin et al. (2012), o principal método utilizado para armazenamento de leite afim de controlar o crescimento bacteriano, é a refrigeração em uma temperatura de ideal de 4°C. Entretanto, o manejo da ordenha pode predispor o leite à contaminação por microrganismos patogênicos ou deteriorantes, e a ausência de condições ideais de refrigeração e armazenamento possibilitam o desenvolvimento de microrganismos mesófilos (entre os 20 e os 45 °C), como por exemplo, os coliformes. Além disso, há também os microrganismos psicrótrópicos que, mesmo possuindo temperatura de crescimento ótimo que varia de 20°C a 30°C, se desenvolvem bem em temperaturas iguais ou inferiores a 7°C (Perin et al., 2012).

Para se adequar a um padrão de qualidade do leite, o mesmo deve ser ordenhado e armazenado sob condições higiênicas, seguindo as Boas Práticas Agropecuárias (BPAs), pois a qualidade final dos derivados lácteos pode ser reduzida devido ao crescimento de diferentes tipos de bactérias, resultando na deterioração causada por enzimas produzidas. Como resultado da ação destas enzimas, há o amargor e rancificação do leite (Teh et al., 2011), redução da vida de prateleira, e uma consequente rejeição do produto final pelo consumidor.

Conforme o guia publicado pela FAO & IDF (2013), as Boas Práticas Agropecuárias (BPAs) tratam da implementação de procedimentos adequados em todas as etapas da produção de leite nas propriedades rurais, que devem assegurar

que o leite e os seus derivados sejam seguros e adequados para o uso a que se destinam. Através da adequação às BPAs, é possível garantir que a ordenha seja realizada em condições higiênicas, minimizando a contaminação e o crescimento de microrganismos. O limite de microrganismos para Contagem Padrão em Placas (CPP), estabelecido pela IN nº 76 (Brasil, 2018b) é de até 300.000 UFC/mL, valor acima do encontrado entre os produtores bubalinos do Estado, de 90.000 UFC/mL (Godinho et al., 2020).

3.4 Produção de derivados com leite bubalino

O mercado para os derivados do leite de búfala apresenta expansão no Brasil. Todas as propriedades anteriormente citadas, que conferem características físico-químicas e nutricionais ao leite bubalino, refletem também nos produtos derivados. Estes, além de possuírem inúmeros benefícios para a saúde, ainda possuem um rendimento elevado por apresentar teores superiores de gordura, proteína e sólidos totais (Pignata et al., 2014; Silva et al., 2020; Godinho et al., 2020). Em um estudo realizado por Bittante et al. (2022) sobre a aptidão do leite de diversas espécies de animais para a fabricação de queijo, o leite bubalino, assim como o caprino, demonstrou melhores aptidões queijeiras em comparação ao leite bovino e ovino, por apresentar melhor teor de nutrientes, propriedades de coagulação, firmeza da coalhada, e rendimento do queijo.

Além do teor de sólidos totais, o rendimento do leite em queijo também se deve ao tamanho das micelas de caseína, que são maiores que as de leite de vaca, e dessa forma a coalhada elaborada retém menos água (Ganguli, 1979). Logo, enquanto que para a fabricação de 1 kg de queijo tipo mussarela de leite bovino são necessários de 10 a 12 litros de leite, para a produção do mesmo queijo a partir do leite bubalino são necessários até 50% menos, apenas de 5 a 8 litros (Silva et al., 2003). Assim, a indústria pode atingir entre 20 e 22 kg de mussarela no processamento de 100 litros de leite bubalino (Sales et al., 2018).

No Brasil, o leite de búfala destina-se principalmente ao mercado de derivados, como a mozzarella (ou mussarela), originalmente produzida a partir do leite de búfala, e que na Itália possui Denominação de Origem Protegida (DOP), sendo altamente valorizado internacionalmente (Napolitano et al., 2021). Entretanto, a disponibilidade e o preço dos os derivados lácteos de búfalas são os principais fatores que interferem no consumo desses produtos, dificultando a sua aquisição por

potenciais consumidores (Zanela et al., 2015). Além disso, existem outros fatores que prejudicam o pleno desenvolvimento no consumo e comercialização dos derivados de leite de búfala no Brasil, principalmente devido a organização de sua cadeia produtiva (Coelho, 2019), como também a ausência de uma legislação específica na padronização desses produtos no mercado.

Dessa forma, prospectar o desenvolvimento de outros produtos como um queijo Colonial bubalino, poderá ser uma alternativa importante, considerando o atual cenário de desenvolvimento de produtos coloniais e artesanais e seu respaldo legal.

3.4.1 Queijo colonial

O queijo artesanal brasileiro é apreciado em diversas regiões do Brasil, e por mais de 200 anos, foram feitos em condições artesanais de fabricação, resultando em produtos com características únicas (Penna et al., 2021). O queijo Colonial, que é um tipo de queijo artesanal, teve sua origem na colonização italiana no Estado do Rio Grande do Sul, em que as propriedades eram praticamente autossuficientes (Dorigon e Renk, 2011). O leite utilizado para a fazer o queijo Colonial era produzido pela família, e o gado era alimentado a pasto, mas também suplementados com subprodutos das atividades agrícolas. Logo, nesse sistema de produção, o queijo Colonial era destinado ao autoconsumo (Ambrosini, 2022).

A denominação queijo Colonial somente foi empregada a partir do momento em que os produtos coloniais passaram a ser importantes no abastecimento da região metropolitana de Porto Alegre. Inicialmente, o produto era chamado de *Formaio*, palavra derivada do italiano *Formaggio*, que significa queijo. O queijo Colonial aparenta ter origem no queijo Asiago região do Vêneto, na Itália, que era feito originalmente de leite de ovelha, e depois passou a ser feito de leite não pasteurizado de vaca, apresentando um sabor suave, massa semidura, e com maturação de cerca de 20 dias (Ambrosini, 2022).

De acordo com o Relatório Socioeconômico da Cadeia Produtiva do Leite no Rio Grande do Sul, estima-se que em 2019 havia um total de 187 agroindústrias familiares legalizadas, responsáveis por uma produção de 2,7 toneladas anuais de queijo Colonial. Além destas, 30 indústrias com inspeção estadual produzindo o Queijo Colonial, que é vendido com a denominação “Queijo Tipo Colônia”; e quatro indústrias com inspeção federal, cujos produtos estão registrados como “Queijo Colonial” (Ries, 2019).

O queijo Colonial é produzido pela coagulação e fermentação do leite bovino, um processo que historicamente dependeu da presença da microbiota no leite cru. A presença de microrganismos e suas interações desempenham um papel importante na produção do queijo, que dão origem a diferentes texturas, aromas e sabores (Gonzalez-Cordova et al., 2016; Blaya, Barzideh & LaPointe, 2018). Além disso, fatores como o ambiente de produção, o clima e o tipo de alimentação do gado também influenciam significativamente as características do queijo (Licitra, 2010). Entretanto, o controle da microbiota do leite através da pasteurização, é essencial para obter um produto seguro, visto que queijos feitos com leite cru estão associados a riscos para a saúde humana pela presença de microrganismos patogênicos, como *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., entre outros (Yoon, Lee, & Choi, 2016).

Até 2019 não existia no Brasil uma definição para queijos artesanais, assim não havia um consenso entre quais os parâmetros que definiam a produção artesanal. Entretanto, em resposta às críticas que apontavam necessidade de regulamentação específica de produtos agroalimentares artesanais, nos últimos 5 anos houve a publicação de diversos regulamentos voltados ao setor da produção artesanal. Em 2018, a Lei nº 13.680, que altera a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950 (RIISPOA), trouxe pela primeira vez uma definição de produção artesanal, como sendo os “produtos alimentícios produzidos de forma artesanal, com características e métodos tradicionais ou regionais próprios, empregadas boas práticas agropecuárias e de fabricação”, bem como a identificação dos mesmos pelo selo ARTE (Brasil, 1950; 2018a). Já em 2019, o Decreto nº 9.918, que regulamentou esta Lei, trouxe a seguinte definição para produtos alimentícios de origem animal produzidos de forma artesanal: “produtos comestíveis elaborados com predominância de matérias primas de origem animal de produção própria ou de origem determinada, resultantes de técnicas predominantemente manuais adotadas por indivíduo que detenha o domínio integral do processo produtivo, submetidos ao controle do serviço de inspeção oficial, cujo produto final é individualizado, genuíno e mantém a singularidade e as características tradicionais, culturais ou regionais do produto” (Brasil, 2019b).

A definição de queijo artesanal somente foi dada pela Lei nº 13.860, de 18 de julho de 2019, que considera como queijo artesanal “aquele elaborado por métodos tradicionais, com vinculação e valorização territorial, regional ou cultural, conforme protocolo de elaboração específico estabelecido para cada tipo e variedade, e com

emprego de boas práticas agropecuárias e de fabricação” (Brasil, 2019c). Em 2022, a legislação para queijos artesanais foi atualizada através da Portaria do MAPA nº 531, de 16 de dezembro de 2022, que estabelece requisitos para concessão dos selos ARTE e Queijo Artesanal. De acordo com esta Portaria, para a concessão do selo, as matérias-primas de origem animal devem ser de produção própria ou com origem determinada, com utilização de técnicas e utensílios predominantemente manuais, e o produto final deverá manter a singularidade e as características próprias, culturais, regionais ou tradicionais do produto, além do uso de ingredientes industrializados restrito ao mínimo necessário (Brasil, 2022).

Na ausência de um Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) para o Queijo Colonial, o mesmo deve atender aos limites exigidos pela Portaria nº 146 de 07 de março de 1996, que fixa a identidade e os requisitos mínimos de qualidade que deverão apresentar os queijos (Brasil, 1996). O queijo Colonial, classificado pelo seu teor de gordura e umidade, deve atender a padrões microbiológicos de Contagem de coliformes e Contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, bem como Pesquisa de *Salmonella* spp. e Pesquisa de *Listeria monocytogenes* em 25 g de queijo. Apesar de se tratar de um produto tradicional, com alto volume de produção e demanda, ainda há carência de estudos sobre o Queijo Colonial, além da inexistência de legislação específica com padrões de produção e de caracterização de parâmetros físicos e microbiológicos.

O conceito de queijo artesanal está relacionado à pequena escala de produção, ao processamento manual e ao não uso de aditivos químicos. Assim, são considerados artesanais tanto os queijos chamados de tradicionais, relacionados à sua origem geográfica com receitas passadas de geração em geração, como aqueles queijos que surgem a partir da inovação (Roldan e Revillion, 2019). Não foram encontrados estudos que tenham desenvolvido queijo colonial com o leite de búfala, entretanto, a importância regional do queijo Colonial, associada às características apresentadas pelo leite bubalino, indicam um mercado em potencial à ser explorado.

3.5 Uso de especiarias na indústria de alimentos

As especiarias têm sido aplicadas na indústria de alimentos como agentes provedores de características, sendo utilizadas com a finalidade de realçar propriedades, como cor e sabor que podem ser perdidas durante o processamento; além de proporcionar uma diferenciação no produto final. Segundo a definição da

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (RDC nº 276 de 22 de setembro de 2005), as especiarias são produtos formados de partes de uma ou mais espécies de vegetais, utilizadas para conferir sabor ou aroma a alimentos e bebidas. Já os temperos são obtidos da mistura de especiarias e de outros ingredientes, fermentados ou não, e possuem a mesma finalidade das especiarias.

Nos últimos anos, tem havido uma grande procura dos consumidores por produtos que utilizam essências naturais, afim de substituir os aditivos sintéticos em ação antimicrobiana e antioxidante (Cutrim, 2017). Juntamente, houve uma notável modificação dos hábitos alimentares e, dentre algumas medidas adotadas, está a troca dos temperos industrializados por opções mais naturais como as ervas condimentares (Malachias et al., 2016). Além do sabor que estas especiarias conferem às preparações, ainda possuem compostos de importância farmacológica como terpenos ou óleos essenciais, compostos fenólicos e flavonoides, além de apresentarem propriedades antimicrobianas e antioxidantes. (Mendes; Rodrigues-das-Dores; Campideli, 2015).

Com isso, as indústrias têm se adaptado às exigências dos consumidores, buscando substâncias naturais que tenham o poder de substituir os conservantes químicos sintéticos (Almeida et al., 2021). A partir de especiarias e ervas que são comuns para elaboração de pratos, podem ser extraídos compostos bioativos de diversas partes das plantas como folhas, flores, sementes, raízes, cascas e tubérculos (Andreo e Jorge, 2006; Silva, Teixeira e Passos, 2012). A adição de extratos naturais tem mostrado um alto poder de inibição contra patógenos em queijos sem afetar as propriedades químicas, através de vários mecanismos. Alguns deles são o aumento da condutividade, da atividade do metabolismo celular e o efeito sobre a síntese de material genético (Rangel-Ortega et al., 2013).

O orégano, *Origanum vulgare*, que tem sido alvo de diversas pesquisas relacionadas ao seu potencial antimicrobiano, é uma erva aromática pertencente à família *Lamiaceae*, nativa da Europa e Ásia, cultivada no mundo todo, utilizada na culinária e para fins medicinais (Yi et al., 2016). Pesquisas realizadas com óleo essencial de *O. vulgare* mostram que esse óleo apresenta ação antibacteriana sobre as cepas de *E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella* spp., exibindo como componentes químicos majoritários o 4-terpineol, timol e carvacrol, indicando que essa planta apresenta potencial antimicrobiano natural (Araujo et al., 2015). De acordo com Cui et al. (2019), o potencial antimicrobiano do óleo essencial produzido a partir do orégano

se dá, principalmente através de danos à membrana celular, já que o mesmo tem a capacidade de afetar a permeabilidade da membrana.

Em pesquisa desenvolvida por Hernandez-Hernandez et al. (2014) com óleo essencial das folhas de orégano para determinar sua atividade antimicrobiana frente a bactérias patogênicas comumente encontrados em alimentos frescos, observou-se ação contra os microrganismos *Brochothrix thermosphacta*, *Pseudomonas fragi*, *Salmonella* sp. e *Micrococcus luteus*, tendo o timol e carvacrol como os principais compostos químicos, o que lhes confere propriedades antimicrobianas (Murielgalet et al., 2012). Segundo estudos de Bhargava et al. (2015), a aplicação de nanoemulsões de óleo de orégano em produtos frescos poderia ser uma estratégia eficaz no controle antimicrobiano.

No entanto, em um estudo realizado com óleo de orégano nanoemulsificado, foi observado que as formulações que apresentavam potencial antifúngico nos testes in vitro, não foram efetivas quando aplicadas nos queijos na mesma concentração (Serna e Pinho, 2015). Na aplicação de 0,002% de óleo de orégano na produção de ricota, foi observado que a adição de óleo de orégano não influenciou diretamente na composição centesimal dos queijos e apresentou um índice de aceitação relativamente alto, entretanto, com relação à análise microbiológica não houve diferença significativa quando comparado ao queijo sem adição do óleo (Hafemann et al., 2015). Já com a adição de 0,01% e 0,02% de óleo de orégano em queijo Minas frescal, observou-se uma redução da contagem microbiana para coliformes totais, mesófilos e psicrotróficos (Farias, Rezende e Pinho, 2017). Com relação à aceitação do consumidor, de acordo com Azevedo et al. (2012), a adição de 0,25% de microcápsulas de óleo de orégano em queijo quark proporcionou a maior aceitação entre as formulações, e que 0,45% é a máxima concentração para a aceitação dos consumidores.

8. REFERÊNCIAS

- ABCB. 2021. Associação Brasileira de Criadores de Búfalos. Disponível em: <https://bufalo.com.br/>. Acesso jan. 2022.
- Ahmad S, Anjum FM, Huma N, Sameen A, Zahoor T. 2013. Composition and physico-chemical characteristics of buffalo milk with particular emphasis on lipids, proteins, minerals, enzymes and vitamins. *Journal of Animal and Plant Sciences*. 1;23(Suppl 1):62-74.
- Almeida VS, Calil FC, Geromel MR, Fazio MLS. 2021. Atividade antimicrobiana de temperos árabes. *Revista Interciência – IMES Catanduva* - 1(6).
- Altun M, Yapici BM. 2022. Determination of chemical compositions and antibacterial effects of selected essential oils against human pathogenic strains. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 94(1).
- Amaral FR, Carvalho LB, Silva N, Brito JRF, Souza GN. 2004. Composição e contagem de células somáticas em leite bubalino na região do Alto São Francisco, Minas Gerais, Brasil. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 59:37-41.
- Ambrosini LB. 2022. Origem histórica e contexto atual de produção dos queijos tradicionais do Rio Grande do Sul: uma análise sob a perspectiva do terroir. *Revista Brasileira de Gastronomia, Florianópolis, SC* – 5:01-20.
- Andrade FPJ, Lima BTM, Alves TWB, Menezes MES. 2019. Fatores que propiciam o desenvolvimento de *Staphylococcus aureus* em alimentos e riscos atrelados a contaminação: uma breve revisão. *Rev. Ciênc. Méd. Biol., Salvador*, 18(1):89-93.
- ANVISA. 2005. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução –RDC nº 276, de 22 de setembro de 2005. Regulamento Técnico para Especiarias, Temperos e Molhos. Ministério da Saúde - MS.
- ANVISA. 2022. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 161, de 1 de julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. *Diário Oficial da União*, 6 jul. 2022. Seção1, p.235-238.
- AOCS. 2009. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society.
- Araujo LS, Araujo RS, Serra JL, Nascimento AR. 2015. Composição química e susceptibilidade do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) frente a cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella choleraesuis*. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*, 33(1):73-78.
- Ausani TC, Lopes GV, Costa EF, Corbellini LG, Cardoso M. 2019. Qualidade microbiológica de queijos coloniais comercializados em Porto Alegre-RS. *Semina: Ciências Agrárias*, 40(2):639–650. (<https://doi.org/10.5433/1679-0359.2019v40n2p639>)
- Azevedo VM, da Costa JMG, Domingo EC, Carneiro JDS, Pinto SM, Borges SV. 2012. Potencial de aplicação de microcápsulas de óleo essencial de orégano em queijo quark. *Rev.Inst.Latic.CândidoTostes*; 386:05-12.
- Bailone RL, Borra RC, Roça RO, Aguiar L and Harris M. 2017. Quality of refrigerated raw milk from buffalo cows (*Bubalus bubalis bubalis*) in different farms and seasons in Brazil. *Ciência Animal Brasileira*, 18:01-12.
- Balcao VM, Malcata FX. 1998. Lipase catalyzed modification of milkfat. *Biotechnology advances*. 16(2):309-41.
- Balusami C. 2015. Milk constituents of non-descript and graded murrah buffaloes in Tamil Nadu, India. *Indian Journal of Natural Sciences*, 5:2475-2479.
- Barreto F, Ribeiro C, Hoff RB and Costa TD. 2016. Determination of chloramphenicol,

- thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine in poultry, swine, bovine and fish by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography*, 1449:48-53.
- Bassbasi M, Platikanov S, Tauler R and Oussama A. 2014. FTIR-ATR determination of solid non fat (SNF) in raw milk using PLS and SVM chemometric methods. *Food Chemistry* 146:250-254.
- Bauman DE, Mcguire MA, Harvatin KJ. 2011. Mammary gland, milk biosynthesis and secretion. In: *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 2:352–358.
- Benincá T, Santos VZ, Sant'Anna V, Berreta MSR. 2022. Correlação entre dados microbiológicos e físicoquímicos com as boas práticas de fabricação de queijos coloniais produzidos no Sul do Brasil. *Cadernos de Ciência & Tecnologia, Brasília*, 39(3) (doi: 10.35977/0104-1096.cct2022.v39.27176).
- Bernardes O. 2010. Necessidades nutricionais de búfalas leiteiras. 2º Encontro Nacional de Criadores de Búfalos, Bucaramanga, Colômbia.
- Betta FD, Schittler L, Pereira MG. 2013. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de orégano sobre a flora contaminante de carne moída. VIII Simpósio de alimentos.
- Bezerra LR. 2022. Análise físico-química e sensorial de queijo de coalho adicionado com diferentes concentrações de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*). Trabalho de Conclusão de Curso. UFPB, Paraíba.
- Bhargava K, et al. 2015. Application of an oregano oil nanoemulsion to the control of foodborne bacteria on fresh lettuce. *Food Microbiology, London*, 47:69-73.
- Bittante G, Amalfitano N, Bergamaschi M, Patel N, Haddi ML, Benabid H, Pazzola M, Vacca GM, Tagliapietra F, Schiavon S. 2022. Composition and aptitude for cheese making of milk from cows, buffaloes, goats, sheep, dromedary camels, and donkeys. *Journal of Dairy Science*, 105(3):2132-2152.
- Blaya J, Barzideh Z, LaPointe G. 2018. Interaction of starter cultures and nonstarter lactic acid bacteria in the cheese environment. *Journal of Dairy Science*. (101. 10.3168/jds.2017-13345).
- Bligh EG, Dyer WJ. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canad. J. Bioch*, 37:911-17.
- Brasil. 1950. Lei nº 1.283, de 18 dezembro de 1950. Dispõe sobre a inspeção industrial e sanitária dos produtos de origem animal. Presidência da República. Casa Civil. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília.
- Brasil. 1996. Diário Oficial da União e D.O.U. Portaria nº 146 de 7 de março de 1996. Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos. Presidência da República. Casa Civil. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília.
- Brasil. 1996. Portaria nº 146 de 7 de março de 1996. Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos. Diário Oficial da União e D.O.U. Brasília.
- Brasil. 2003. Instrução Normativa SDA - 62, de 26/08/2003. Oficializar os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Secretária de Defesa Agropecuária, Ministério da Agricultura, Pecuária E Abastecimento. Brasília, DF.
- Brasil. 2006. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Métodos analíticos oficiais físicoquímicos, para controle de leite e produtos lácteos. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diário Oficial da União, Brasília, p. 8.
- Brasil. 2011. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Depressão do Ponto de Congelamento do Leite Fluido. MET POA (Métodos de Ensaio Produtos de

- Origem Animal). Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília.
- Brasil. 2011. Ministério da Saúde. Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Diário Oficial da União, Brasília, Seção 1.
- Brasil. 2018a. Lei nº 13.680, de 14 de junho de 2018. Dispõe sobre o processo de fiscalização de produtos alimentícios de origem animal produzidos de forma artesanal. Presidência da República. Casa Civil. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília.
- Brasil. 2018b. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 76 de 26 de novembro de 2018. Dispõe sobre identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A. Diário Oficial da União, Brasília.
- Brasil. 2019a. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa Nº 51, de 19 de dezembro de 2019. Estabelece a lista de limites máximos de resíduos (LMR), ingestão diária aceitável (IDA) e dose de referência aguda (DRfA) para insumos farmacêuticos ativos (IFA) de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal. Diário Oficial da União, Brasília.
- Brasil. 2019b. Decreto nº 9.918, de 18 julho de 2019. Dispõe sobre o processo de fiscalização de produtos alimentícios de origem animal produzidos de forma artesanal. Presidência da República. Casa Civil. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília.
- Brasil. 2019c. Lei nº 13.860, de 18 de julho de 2019. Dispõe sobre a elaboração e a comercialização e regulamentação de queijos artesanais e queijarias produtoras desses produtos artesanais. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília.
- Brasil. 2022. Portaria MAPA nº 531, de 16 de dezembro de 2022. Estabelece requisitos para concessão dos selos ARTE e Queijo Artesanal pelos órgãos de agricultura e pecuária federal, estaduais, municipais e distrital. Presidência da República. Casa Civil. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília.
- BrCAST-EUCAST. 2022. Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos. Versão 12. Disponível em (<https://brcast.org.br/wp-content/uploads/2022/09/Tabela-pontos-de-corte-clinicos-BrCAST-12-abr-22.pdf>)
- Campagnollo FB, Gonzales-Barron U, Cadavez VAP, Sant'ana AS, Schaffner DW. 2018. Quantitative risk assessment of *Listeria monocytogenes* in traditional Minas cheeses: The cases of artisanal semi-hard and fresh soft cheeses. *Food control*, 92:370-379.
- Casaril KBPB, Bento CBP, Henning K, Pereira M, Dias VA. 2017. Qualidade microbiológica de salames e queijos coloniais produzidos e comercializados na região sudoeste do Paraná. *Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)*, 7(2):75-85.
- Castilho ACB, Stafussa AP, Rodrigues LM, Ressutte JB, Pozza MSS, Madrona GS. 2019. Artisan cheese from Paraná: characterization of its proximate composition. *Braz. J. of Develop.*, Curitiba, 5(10):21543-21567.
- CLSI. 2012. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: Approved Standard - Ninth Edition. CLSI document M07-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Coelho AS. 2019. Cenário da bubalinocultura no Brasil. Dissertação (Trabalho de

- Conclusão de Curso) – Instituto da Saúde e Produção Animal, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém-PA.
- Costa MHBFo, Lima DMJr, Rangel AHN, Silva FJS, Novaes LP, Galvão JGBJr, Silva MJM, Moreno GMB. 2014. Sazonalidade e variação na qualidade do leite de búfalas no Rio Grande do Norte. *Acta Veterinaria Brasilica*, 8:201-208.
- Costanzo N, Ceniti C, Santoro A, Clausi MT, Casalnuovo F. 2020. Foodborne pathogen assessment in raw milk cheeses. *International journal of food Science*.
- Cui H, Zhang C, Li C, Lin L. 2019. Antibacterial mechanism of oregano essential oil. *Industrial Crops and Products*, 139(1). (<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111498>)
- Domenico VL, Motta AS. 2022. Manual de Boas Práticas Agropecuárias na Ordenha: Bubalinocultura. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Dorigon C, Renk A. 2011. Técnicas e métodos tradicionais de processamento de produtos coloniais: de "miudezas de colonos pobres" aos mercados de qualidade diferenciada. *Revista de Economia Agrícola, São Paulo*, 58(1):101- 13.
- Erhardt MM, Fröder H, Oliveira WC, Ströher JA, Savergnini PR, Santos VZ, Richards NSPS. 2022. Avaliação físico-química e microbiológica de queijos artesanais a partir de leite cru e verificação de boas práticas em propriedades rurais no Vale do Taquari-RS. *Research, Society and Development*, 11. (doi: <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i13.35290>).
- FAO e IDF. 2013. Guia de boas práticas na pecuária de leite. Produção e Saúde Animal Diretrizes. 8. Roma.
- FAOSTAT. 2021. Food And Agriculture Organization Of The United Nations Statistics <<http://faostat.fao.org/>>
- Farias JLL, Rezende PLR, Pinto EG. 2017. Queijo minas frescal enriquecido com óleo de orégano. *Colloquium Agrariae*, 13:432-437 (doi: 10.5747/ca.2017.v13.nesp.000247).
- Feitosa AC, Rodrigues RM, Torres EATT, Silva JFM. 2017. *Staphylococcus aureus* em alimentos. *Revista Desafios, Tocantins*, 4(4):15- 31.
- Filho MHBC, Júnior DML, Rangel AHN, Silva FJS, Novaes LP, Júnior JGBG, Silva MJMS, Moreno GMB. 2014. Season and buffalo milk quality in Rio Grande do Norte state. *Acta Veterinaria Brasilica* 8:201–208.
- Franciscis G, Di Palo R. 1994. Buffalo milk production. In: *World Buffalo Congress*, 4(1):137-146.
- Funck GD, Hermanns G, Vicenzi R, Schmidt JT, Richards NSPS, Silva WP et al. 2015. Microbiological and physicochemical characterization of the raw milk and the colonial type cheese from the Northwestern Frontier region of Rio Grande do Sul, Brazil. *Rev Inst Adolfo Lutz*, 74(3):247-57.
- Gagliostro GA, Patiño EM, Sanchez Negrette M, Sager G, Castelli L, Antonacci LE, Raco F, Gallelo L, Rodríguez MA, Cañameras C, Zampatti ML. 2015. Perfil de ácidos graxos do leite de búfalas a pasto recebendo uma mistura de óleo de soja e linhaça na dieta. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 67:927-34.
- Ganguli VC. 1979. Tecnologia de la leche de búfala. *Revista Mundial de Zootecnia, Roma*, 30:2-10.
- García VA. 2014. Avaliação, isolamento e identificação dos principais microrganismos causadores de mastite subclínica em búfalas. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo. Pirassununga.
- Godinho FMS, Krug M, Muller A, Jank L, Tomaszewski CA, Hillesheim DR, Kinast EJ, Frazzon APG, Motta AS. 2020. Microbiological and physicochemical

- characteristics of buffalo milk used for dairy products in southern Brazil. *Journal of Dairy Research*.
- Gonçalves TG, Timm CD. 2020. Biofilm production by coagulase-negative *Staphylococcus*: a review. *Arq Inst Biol*, 87. (<https://doi.org/10.1590/1808-1657001382018>).
- González-Córdova AF, et al. 2016. Invited review: Artisanal Mexican cheeses. *Journal of Dairy Science*, 99(5):3250-3262 (doi: 10.3168/jds.2015-10103).
- Gracioli F, Lehn DN, Souza CFV. 2013. Análise comparativa de custo e rendimento da fabricação de queijo tipo camembert e queijo colonial em pequena escala. CETEC/UNIVATES. *Revista Destaques Acadêmicos*, 5(4).
- Guimarães, CC, Ferreira, TC, Oliveira, RCF, Simioni, PU, Ugrinovich, LA. Atividade antimicrobiana in vitro do extrato aquoso e do óleo essencial do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e do cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus* L.) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. *Revista Brasileira de Biociência*, 15(2):83–89.
- Hafemann SPG, Avanço GB, Scapim MRS, Antigo JL, Pozza MSS, Madrona GS. 2015. Ricota com adição de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare linneus*): avaliação físico-química, sensorial e microbiológica. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, Campina Grande, 17(3):317-323.
- Helal IM, El-Bessoumy A, Al-Bataineh E, Joseph MRP, Rajagopalan P, Chandramoorthy HC, Ahmed, SBH. 2019. Antimicrobial efficiency of essential oils from traditional medicinal plants of Asir region, Saudi Arabia, over drug resistant isolates.
- Hernandez-Hernandez E, et al. 2014. Microencapsulation, chemical characterization and antimicrobial activity of Mexican (*Lippia graveolens* H.B.K.) and european (*Origanum vulgare* L.) oregano essential oils. *The Scientific World Journal*, 2014:1-12 (doi: 10.1155/2014/641814).
- Hofi AA, Rifaat ID, Khorshid MA. 1966. Studies on some physico-chemical properties of Egyptian buffaloes and cows' milk. Freezing point. *Indian Journal of Dairy Science*. 19:113-117.
- Hühn S, Guimarães MC de F, Nascimento CNB, Carvalho LODM, Moreira ED, Lourenço Junior JB. 1982. Estudo comparativo da composição química do leite de zebuínos e bubalinos. EMBRAPA-CPATU. *Boletim de pesquisa*, 36. Belém, PA.
- IBGE. 2020. Produção da Pecuária Municipal. Rio de Janeiro: IBGE. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/rs/pesquisa/18/0>. Acesso em: 22 abr 2022.
- ISO 13366-2. 2006. Milk – Enumeration of somatic cells – Part 2: Guidance on the operation of fluoro-opto-electronic counters. International Organization for Standardization, Geneva.
- ISO 4833-1. 2013. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the enumeration of microorganisms – Part 1: Colony count at 30 degrees C by the pour plate technique. International Organization for Standardization, Geneva.
- ISO 5764. 2009. Milk — Determination of freezing point — Thermistor cryoscope method (Reference method). International Organization for Standardization, Geneva.
- ISO 9308-2. 2012. Water quality – Enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria – Part 2: Most probable number method. International Organization for Standardization, Geneva.
- ISO 9622. 2013. Milk and liquid milk products – Guidelines for the application of mid-infrared spectrometry. International Organization for Standardization, Geneva.

- Jank L, Martins MT, Arsand JB, Motta TMC, Hoff RB, Barreto F and Pizzolato TM. 2015. High-throughput method for macrolides and lincosamides antibiotics residues analysis in milk and muscle using a simple liquid-liquid extraction technique and liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry analysis (LC-MS/MS). *Talanta* 144:686-695.
- Jorge AM., Andrighetto C., Strazza MRB., De Correa Cássia R., Kasburgo DG., Piccinin A., Victória C., Domingues PF. 2005. Correlação entre o California Mastitis Test (CMT) e a contagem de células somáticas (CCS) do leite de búfalas Murrah. *Rev Bras Zootec* 34:2039-2045.
- Kalač P, Samková E. 2010. The effects of feeding various forages on fatty acid composition of bovine milk fat: a review. *Journal of Animal Science* 55: 521-537.
- Kryvtsova MV, Fedkiv OK, Hrytsyna MR, Salamon I. 2020. Anty-microbial, and anty-biofilm-forming properties of *Origanum vulgare* L. essential oils on *Staphylococcus aureus* and its antioxidant action. *Biologicni studii*, 14(2):27-38
- Legg AK, Carr AJ, Bennett RJ, Johnston KA. 2017. Chapter 26: General aspects of cheese technology, in *Cheese*. 4th Edn. eds. McSweeney, San Diego: Academic Press, 643-675.
- Licitra, G. World wide traditional cheeses: Banned for business? *Dairy Science & Technology*, 90(4):357-374 (doi: 10.1051/dst/2010016).
- Lisboa ACVC, Oliveira ME, Gomes ABC, Vieira DP, Ramos GF, Martins MFL, Ribeiro PHM, Pinto SCV. 2022. Isolation and presucific identification of positive coagulase and negative coagulase *Staphylococcus* in artisanal minas fresh cheesese marketed at fairs in Ipatinga - MG. *Brazilian Journal of Development*, 8(4):29832-29850 (<https://doi.org/10.34117/bjdv8n4-462>).
- Lourenço Junior JB. 2005. Produção de búfalos na Amazônia. In: *Simpósio do Núcleo de Estudos Em Bovinocultura*, 2.
- Luz DF, Silva TF, Marciel SF, Oliveira MVM. 2020. Incidência de *Salmonella* spp. e *Staphylococcus aureus* no leite de vacas da raça Pantaneira. *Brazilian Journal Of Animal And Environmental Research*, 3(3):973-982.
- Machado PF, Ribeiro Pereira A, Sarríes GA. 2000. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 29(6):1883-1886.
- Malachias MVB, et al. 2016. 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, Rio de Janeiro, 107(3):1-104.
- MAPA. 2019. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de Métodos Oficiais para Análise de Alimentos de Origem Animal - Método 2.12. 2ª Edição.
- MAPA. 2019. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de Métodos Oficiais para Análise de Alimentos de Origem Animal - Método 2.2. 2ª Edição.
- Mattiello CA et al. 2018. Rendimento industrial, eficiência de fabricação e características físico-químicas de queijo colonial produzido de leite com dois níveis de células somáticas. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* [online]. 70(6):1916-1924 (doi: <https://doi.org/10.1590/1678-4162-9908>).
- Medeiros ES, Barbosa SBP, Jatobá RB, Azevedo SS, Junior JWP, Saukas TN, de Albuquerque PPF, Mota RA. 2011. Perfil da contagem de células somáticas na infecção intramamária em búfalas na Região Nordeste do Brasil. *Pequisa Veterinária Brasileira*, 31:219-223.
- Mendes GM, Rodrigues-Das-Dores RG, Campideli LC. 2015. Avaliação do teor de antioxidantes, flavonoides e compostos fenólicos em preparações condimentares. *Revista Brasileira de Plantas Medicinaiis*, Botucatu-SP,

- 17(2):297-304.
- Mendes LAB. 2018. Avaliação da presença de estafilococos coagulase positiva em “queijo minas artesanal” comercializados na microrregião de Bom DespachoMG. Avaliação da Presença de Estafilococos Coagulase Positiva. Formiga-Mg, 13(1):18-26.
- Mihaylova G, Peeva T. 2007. Trans fatty acids and conjugated linoleic acid in the buffalo milk. Italian Journal of Animal Science, 6:1056–1059.
- Mirmahmoudi R, Prakash BS. 2012. The endocrine changes, the timing of ovulation and the efficacy of the Doublesynch protocol in the Murrah buffalo (*Bubalus bubalis*). Elsevier, 177:153-159.
- Mishra BP, Mukesh M, Prakash B, Sodhi M, Kapila R, Kishore A, Kataria RR, Joshi BK, Bhasin V, Rassol TJ, Bujarbaruah KM. 2009. Status of milk protein, β -casein variantes among Indian milch animals. Indian Journal of Animal Sciences, 79(7):722-725.
- Muriel-galet V, et al. 2012. Development of antimicrobial films for microbiological control of packaged salad. International Journal of Food Microbiology, 157(2):195-201 (doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.05.002).
- Napolitano F, et al. 2021. Advances and perspectives in research on buffalo milk production and mozzarella cheese. Agro Productividad, 14(6):1-9.
- Neto OJAG, Santos PAC, Almeida JR, Lima FC. 2020. Distribuição da carne de búfalos (*Bubalus bubalis*) no Município de São Luís–MA. Brazilian Journal of Animal and Environmental Research, 3(3):1141-1147.
- OECD/FAO. 2021. OECD-FAO Agricultural Outlook 2021-2030. OECD Publishing, Paris (<https://doi.org/10.1787/19428846-en>)
- Ohly JJ, Hund M. 1996. Pasture farming on the floodplains of Central Amazonia. Animal Research and Development, 43:53-79.
- Pasquini M, Osimani A, Tavoletti S, Moreno I, Clementi F, Trombetta MF. 2018. Trends in the quality and hygiene parameters of bulk Italian Mediterranean buffalo (*Bubalus bubalis*) milk: A three year study. Anim Sci J, 89:176–185.
- Penna ALB, Gigante ML e Todorov SD. 2021. Artisanal Brazilian Cheeses - History, Marketing, Technological and Microbiological Aspects. Foods, 10:1562. <https://doi.org/10.3390/foods10071562>
- Perera BMAO. 2011. Reproductive cycles of buffalo. Animal Reproduction Science, 124:194-199.
- Perin LM, Moraes PM, Almeida MV, Nero LA. 2012. Intereference of storage temperatures in the development of mesophilic, psychrotrophic, lipolytic and proteolytic microbiota of raw milk. Ciências Agrárias, Londrina, 33(1):333-342.
- Pesce A, Salzano C, Felice A, Garofalo F, Liguori S, Santo A, Palermo P, Guarino A. 2016. Monitoring the freezing point of buffalo milk. Italian Journal of Food Safety, 5:5691.
- Pignata MC, Fernandes SAA, Ferrão SPB, Faleiro AS, Conceição DG. 2014. Estudo comparativo da composição química, ácidos graxos e colesterol de leites de búfala e vaca. Revista Caatinga, Mossoró, 27(4):226 –233.
- Pombo JCP, Ribeiro ER, Pinto RL, Silva BJM. 2018. Efeito antimicrobiano e sinérgico de óleos essenciais sobre bactérias contaminantes de alimentos. Segur. Aliment. Nutr., Campinas, 25(2):108-117.
- Rangel-Ortega SC, Campos-Múzquiz LG, Charles-Rodriguez AV, Chávez-Gonzalez ML, Palomo-Ligas L, Contreras-Esquivel JC, Solanilla-Duque JF, Flores-Gallegos AC, Rodríguez-Herrera R. 2013. Biological control of pathogens in artisanal cheeses. International Dairy Journal, 140.

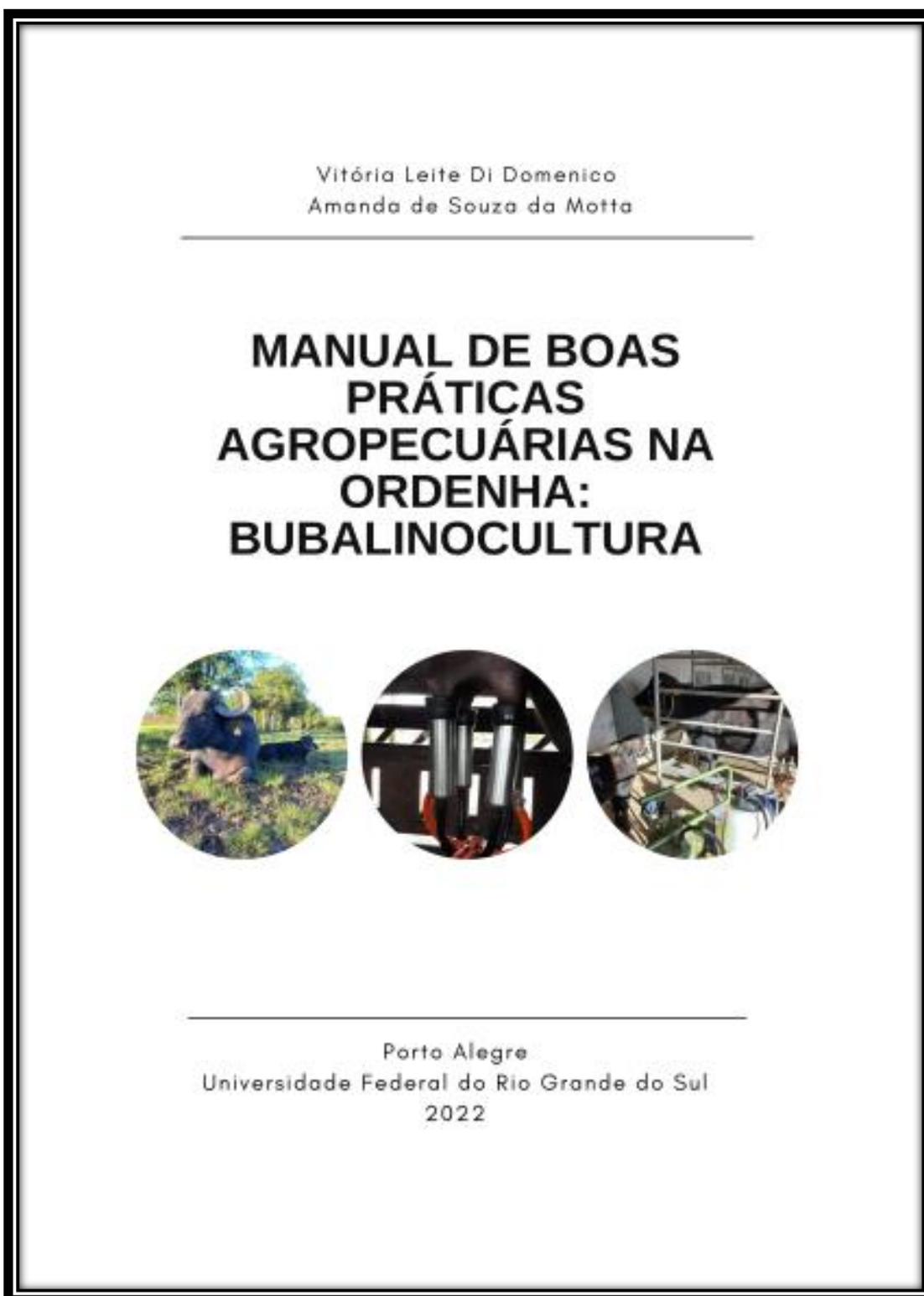
- Rekowsky BSS, Rosário AILS, Costa MP. 2021. Development of a new Brazilian semi-hard (Coalho) Buffalo cheese made with the inclusion of cow milk and functional potential. *Brazilian Journal of Development*, Curitiba, 7(10):96944-96959.
- Ricci GD, Domingues PF. 2012. O leite de búfala (The buffalo milk). *Rev Educ Contin em Med Veterinária e Zootec do CRMV-SP* 10:14–19.
- RIES. 2019. Relatório socioeconômico da cadeia produtiva do leite no Rio Grande do Sul. Porto Alegre: Emater/RSAscar.
- Roldan BB, Revillion JP. 2019. Convenções de qualidade em queijos artesanais no Brasil, Espanha e Itália. *Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, 74(2):108-122.
- Rosa JF. 2021. Controle de *Staphylococcus* coagulase negativa em massa para embutido cárneo suíno pela adição de óleo essencial de *Origanum vulgare* (orégano). Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.
- Rübensam G, Barreto F, Hoff RB, Kist TL and Pizzolato TM. 2011. A liquid-liquid extraction procedure followed by a low temperature purification step for the analysis of macrocyclic lactones in milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and fluorescence detection. *Analytica Chimica Acta*, 705:24–29.
- Sales DC, Rangel AHN, Urbano SA, Tonhati H, Galvão Júnior JGB, Guilhermino MM, Aguiar EM, Bezerra M de F. 2018. Buffalo milk composition, processing factors, whey constituents recovery and yield in manufacturing Mozzarella cheese. *Food Sci Technol* 38:328–334.
- Sales J. 1995. Nutritional quality of meat from some alternative species. *World Review of Animal Production*, 30(1-2):48-55.
- Santos CHS, Piccoli RH, Tebaldi VMR. 2017. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais e compostos isolados frente aos agentes patogênicos de origem clínica e alimentar. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 76:1–8.
- São Paulo (Estado). 2008. Resolução SAA nº 03 de 10 de janeiro de 2008: Normas técnicas sobre as condições higiênico-sanitárias mínimas necessárias para aprovação, funcionamento e reaparelhamento dos estabelecimentos destinados a leite e produtos lácteos. Secretaria de Agricultura e Abastecimento, São Paulo.
- Serna CMB, Dacanal GC, Fernandes AM, Pinho SC. 2018. Antifungal activity of nanoemulsions encapsulating oregano (*Origanum vulgare*) essential oil: *in vitro* study and application in Minas Padrão cheese. *Braz J Microbiol*, 49(4):929–35 (<https://doi.org/10.1016/j.bjm.2018.05.004>).
- Sheehan WJ, Phipatanakul W. 2009. Tolerance to water buffalo milk in a child with cow milk allergy. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 102(4):349.
- Silva ATF, da Silva JG, Aragão BB, Peixoto RM, Mota RA. 2020. Occurrence of β lactam-resistant *Staphylococcus aureus* in milk from primiparous dairy cows in the northeastern region of Brazil. *Trop Anim Health Prod*, 52:2303–2307.
- Silva CSB. 2013. Produção de fermento láctico endógeno para produção de queijo coalho com características do sertão alagoano. Dissertação (Mestrado em Nutrição) - Faculdade de Nutrição, Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Universidade Federal de Alagoas, Maceió.
- Silva DJ, Queiroz AC. 2009. Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos). 3.ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 235.
- Silva MST, Lourenço Jr JB, Miranda HA, Erchesen R, Fonseca RFSR, Melo JA, Costa JM. 2003. Programa de incentivo a criação de búfalos por pequenos produtores – PRONAF. Belém, PA: CPATU.
- Silva SR, Teixeira DMA, Passos AAC. 2012. Influência de óleos essenciais na inibição

- do desenvolvimento microbiano em alimentos. In: Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação (CONNEPI), 7.
- Silva TM. 2010. Aplicação de quitosana e óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare L.*) na inibição de *Staphylococcus aureus* em hambúrguer. Vitória de santo Antão: Universidade Federal de Pernambuco (Trabalho de Conclusão de Curso).
- Smith KL, Hillerton E, Harmon RJ. 2001. Guidelines on Normal and Abnormal Raw Milk Based on Somatic Cell Counts and Signs of Clinical Mastitis. National Mastitis Council, Madison.
- Tavares AB et al. 2019. Queijo artesanal produzido no sul do rio grande do sul: avaliação físico-química, microbiológica e suscetibilidade a antimicrobianos de isolados de staphylococcus coagulase positiva. Ciência Animal Brasileira, 20 (<https://doi.org/10.1590/1089-6891v20e-47184>).
- Teh KH, Flint S, Palmer J, Lindsay D, Andrewes P, Bremer P. 2011. Thermo-resistant enzyme-producing bacteria isolated from the internal surfaces of raw milk tankers. International Dairy Journal, 21(10):742–747.
- Tesser IC, Fariña LO, Kottwitz LBM, Sosa DEF, Pramiu DC. 2016. Fabricação artesanal de queijo Colonial analisada sob os critérios da Instrução Normativa nº 30/2013 (municípios do território da Cantuquiriguaçu, Paraná, Brasil). Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, 71(4):206-218.
- Thakur S, Singh M, Aseri GK, Verma A, Khan SS. 2018. Isolation and characterization of mastitis pathogens and milk composition changes in Murrah buffaloes (*Bubalus bubalis*) during winter season. Indian Journal of Animal Research, 52(2) 2018:276-280.
- Torres-Júnior JRS, Ribeiro DLS, Pereira HG, França IG. 2016. Sazonalidade reprodutiva de bubalinos (*Bubalus bubalis*) em regiões equatorial e temperada. Rev. Bras. Reprod. Anim., Belo Horizonte, 40(4):142-147.
- Tripaldi C, Palocci G, Miarelli M, Catta M, Orlandini S, Amatiste S, Bernardini R, Castillo G. 2010. Effects of mastitis on buffalo milk quality. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 23:1319–1324.
- Verruma MR, Salgado JM. 1994. Análise química do leite de búfala em comparação ao leite de vaca. Sci. agric., Piracicaba, 51(1):131-137.
- Vivian PG, Mello G, Porto R, Timm CD, Gandra EA, Freitag RA. 2020. Atividade antibacteriana de óleos essenciais de *Origanum vulgare* (orégano) e *Ocimum basilicum* (manjeriço) e sua aplicação em massa para embutido carne. Brazilian Journal of Development, 6(8):62143-62156.
- Yi Z, Quan H, Jun W, Jian P, Wei H. 2016. Oregano essential oil improves intestinal morphology and expression of tight junction proteins associated with modulation of selected intestinal bacteria and immune status in a pig model. Biomed Res, 1–11. (<https://doi.org/10.1155/2016/5436738>).
- Yoon Y, Lee S, Choi KH. 2016. Microbial benefits and risks of raw milk cheese. Food Control, 63:201-215 (<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.11.013>).
- Zanela MB, Kolling GJ, Nörnberg JL, Ribeiro MER. 2015. Perfil de ácidos graxos no leite de búfala da raça Murrah. Circ Técnica Embrapa 164:1-4.
- Zanela MB, Kolling GJ, Vazquez Fernandez VN, Ribeiro MER, Canellas LC, Lopes FPN, Pereira KP. 2011. Composição química do leite de búfala. Embrapa Clima Temperado. Conferencia Internacional sobre Leche Inestable. Colonia: Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria de Uruguay, 65.

9. APÊNDICES

9.1 Manual de Boas Práticas Agropecuárias

APÊNDICE 1A. “Manual de Boas Práticas Agropecuárias na Ordenha: Bubalinos” publicado no site da ABCB e no Lume UFRGS



APÊNDICE 1B. Ficha catalográfica do Manual de Boas Práticas Agropecuárias na Ordenha: BubalinosDados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

D536m Di Domenico, Vitória Leite

Manual de boas práticas agropecuárias na ordenha : bubalinocultura / Vitória Leite Di Domenico, Amanda de Souza da Motta. – Porto Alegre : Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2022.

1 arquivo PDF (28 f.) : il. color.

ISBN 978-65-5973-168-8.

1. Ordenha. 2. Bubalina. 3. Boas práticas agropecuárias. I. Motta, Amanda de Souza da. II. Título.

CDU 636.293.2

Biblioteca do ICBS-UFRGS

10. ANEXOS

10.1 Carta de aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA)

ANEXO 1. Carta de Aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais da UFRGS

 <p>UFRGS UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL</p>	<p>PRÓ-REITORIA DE PESQUISA Comissão De Ética No Uso De Animais</p>	 <p>CEUA COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS</p>
CARTA DE APROVAÇÃO		
Comissão De Ética No Uso De Animais analisou o projeto:		
Número: 40325		
Título: Fêmeas bubalinas da raça Mediterrâneo x Murrah mantidos em Campo Nativo e MG 12 Paredão na região da Depressão Central do Rio Grande do Sul		
Vigência: 10/03/2021 à 10/03/2023		
Pesquisadores:		
Equipe UFRGS:		
Diogo Magnabosco - coordenador desde 10/03/2021 VITÓRIA LEITE DI DOMENICO - desde 05/04/2021 CINDY ANNE KLAUSBERGER XIMENES - desde 19/04/2021 CARLOS NABINGER - pesquisador desde 10/03/2021 THALES RENATO OCHOTORENA DE FREITAS - pesquisador desde 10/03/2021 VIVIAN FISCHER - pesquisador desde 10/03/2021 AMANDA DE SOUZA DA MOTTA - pesquisador desde 10/03/2021 Daniele Zago - pesquisador desde 10/03/2021 MARCELO PORTO NICOLA - Agrônomo desde 10/03/2021 Veronica Machado Rolim - Médico Veterinário desde 10/03/2021 BRUNA VALENZUELA GARCIA - Zootecnista desde 10/03/2021 LAURA SCOLMEISTER FANEZE - Agrônomo desde 10/03/2021 RAPHAELLA DUARTE GIMNECKI - Zootecnista desde 10/03/2021		
Equipe Externa:		
Elisa Cristina Modesto - pesquisador desde 10/03/2021		
<p><i>Comissão De Ética No Uso De Animais aprovou o mesmo, em reunião remota realizada em 14/06/2021, em seus aspectos éticos e metodológicos, para a utilização de 16 búfalas fêmeas adultas e multiparas onde 12 serão provenientes da Estação Experimental Agronômica da UFRGS e 4 da ASCRIBU Associação Sulina de Criadores de Búfalos – CNPJ – 89.554.240/0001-41, de acordo com os preceitos das Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08 de novembro de 2008, o Decreto 6899 de 15 de julho de 2009, e as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), que disciplinam a produção, manutenção e/ou utilização de animais do filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) em atividade de ensino ou pesquisa.</i></p>		
Porto Alegre, Quinta-Feira, 8 de Junho de 2021		
 ALEXANDRE TAVARES DUARTE DE OLIVEIRA		