

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CÂMPUS FRANCISCO BELTRÃO
COORDENAÇÃO DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS
CURSO DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

ELIANE ZATTI DE MELLO
MAQUÉLE APARECIDA ARMACHUK

**AVALIAÇÃO DO QUEIJO COLONIAL DURANTE A MATURAÇÃO:
MODIFICAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

FRANCISCO BELTRÃO

2013

ELIANE ZATTI DE MELLO
MAQUÉLE APARECIDA ARMACHUK

**AVALIAÇÃO DO QUEIJO COLONIAL DURANTE A MATURAÇÃO:
MODIFICAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso 2, do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos – da Universidade Tecnológica do Paraná – UTFPR Câmpus Francisco Beltrão - PR, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Andréa Cátia Leal Badaró

Co-orientadora: Profa. Dra Fabiane Picinin de Castro Cislighi

Co-orientador: Prof. MSc João Francisco Marchi

FRANCISCO BELTRÃO

2013

FOLHA DE APROVAÇÃO

AVALIAÇÃO DO QUEIJO COLONIAL DURANTE A MATURAÇÃO: MODIFICAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS

Por

Eliane Zatti de Mello e Maquéle Aparecida Armachuk

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos, no Curso Superior de Tecnologia em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

BANCA AVALIADORA

Prof^a. Dra Fabiane Picinin de Castro Cislighi

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR

Prof. MSc João Francisco Marchi

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR

Prof^a. Dra. Andréa Cátia Leal Badaró

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR

(Orientador)

Prof. Dra. Cleusa Ines Weber

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR

(Coordenadora do curso)

Francisco Beltrão, setembro, 2013.

“A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso.”

AGRADECIMENTOS – Eliane

Agradeço primeiramente a Deus, por iluminar todos os dias de minha vida, me dando força para seguir em frente e colocando em meu caminho pessoas e oportunidades maravilhosas.

Aos meus pais Luzia e Neri, que sempre me incentivaram e não mediram esforços para que pudesse conquistar mais essa vitória.

A minha irmã Elizandra, pela proteção, carinho e amizade. Agradeço por estar sempre ao meu lado, pelos puxões de orelha quando preciso, e pelo exemplo de mulher determinada e vitoriosa. E agradeço também por ter colocado em nossas vidas uma pessoinha tão importante e amada, o Vitor Gabriel.

Ao meu amado esposo Fabiano, que me aguentou todo esse tempo, ouvindo minhas angústias, desabafos, choros e aplaudindo minhas conquistas. Obrigada por estar sempre ao meu lado, de dando força e não me deixando desistir. Te amo.

Agradeço a minha amiga Bianca por cada dia que passamos juntas, em todas as dificuldades que encontramos durante este caminho e as conquistas que tivemos. Finalmente chegamos ao fim dessa jornada, superando a cada dia os obstáculos que colocaram em nossa jornada. Mais agradeço principalmente pela amizade e companheirismo que criamos.

A minha colega, grande amiga, irmãzinha de coração Maquéle. Acabou! Nem parece verdade, mais conseguimos, chegamos ao final. Não foram fáceis esses dias, mas superamos, lutamos e conquistamos e agora estamos aqui juntas para comemorar mais uma etapa de nossas vidas. Agradeço pelo que vivemos durante neste período, com certeza você foi uma das pessoas que mais me ajudou quando precisei.

Agradeço a todos que de forma direta ou indiretamente fizeram parte desta etapa da minha vida. Aos colegas de trabalho, que tiveram paciência e me ajudaram sempre que precisei. Aos meus amigos e colegas de turma, que tornaram os meus dias melhores e mais divertidos, sentirei saudades, sucesso a todos vocês.

AGRADECIMENTOS – Maquéle

Agradeço primeiramente a Deus por todas as coisas boas que vivi e aprendi durante esta trajetória.

Aos meus pais, Jucelino e Marlene pelo apoio e por tudo que sempre fizeram por mim, pela simplicidade, amizade, carinho e por sempre me proverem de ensinamentos para a vida e para todas as questões em meus momentos mais difíceis, sem que para isso, exigissem nada em troca. Mãe você é acolhedora, e querida por todos, não sei o que faria sem o sorriso e seu apoio.

Aos meus irmãos, Jardel e Juliana, minha cunhada, Evelin, e minha sobrinhas Érika Luiza e Laura pelo carinho e pela atenção em todos os momentos, pelos sorrisos e por colocaram cada dia uma pitada de amor e esperança para que neste momento findasse essa etapa tão significativa para mim.

Aos meus eternos amigos Paulo, Raquel e Heitor, por todas as conversas e conselhos, só tenho a agradecer-los por todo apoio e amizade que dedicam a mim, agradeço a Deus por tê-los colocado em meu caminho e se tornado a peça do quebra cabeça que eu nem sabia que faltava.

Aos meus amigos Luana, Pietro, Diego, Leda, Bianca, que me apoiaram me corrigiram, me aturaram e me fizeram saber, que antes de tudo, a vida não teria graça sem vocês por perto.

E principalmente a Eliane, minha amiga, companheira, obrigada por existir e dividir comigo momentos inesquecíveis. Por você tenho profunda admiração, carinho e respeito. Muito obrigada por sempre me ajudar quando precisei e também poder te ajudar no que pude. Terá pra sempre minha eterna gratidão.

Aos meus amigos e colegas de turma, saibam que sentirei saudades, sucesso a todos vocês.

Neste momento torna-se difícil lembrar-me de todos os amigos e colegas que participaram comigo dessa jornada, mas de uma maneira muito sincera, agradeço a todos que de uma forma ou de outra colaboraram.

AGRADECIMENTOS – Eliane e Maquéle

Agrademos a nossa orientadora, professora Andréa, por acreditar e incentivar, nos ajudando durante toda a nossa pesquisa, fazendo parte das nossas vidas nos momentos bons e ruins, disposta a nos ajudar sem medir esforços. Agradecemos por toda a dedicação e carinho que teve conosco. Com certeza ficará marcada em nossa vida como um exemplo de profissional e de mulher.

Agrademos aos nossos co-orientadores, professora Fabiane Picinin de Castro Cislighi e professor João Francisco Marchi, que nos auxiliaram e nos durante a realização desta pesquisa.

Agrademos de forma geral a todos que possibilitaram a realização deste projeto, a universidade, aos técnicos de laboratório, ao laticínio que cedeu as amostras para o estudo. Enfim, a todos que direta ou indiretamente nos ajudaram durante este período.

Depois de um tempo você aprende, aprende que realmente pode suportar... Que realmente é forte e que pode ir muito mais longe... E que realmente a vida tem valor e que você tem valor diante da vida! (William Shakespeare).

RESUMO

MELLO, Eliane Z.; ARMACHUK, Maquéle A. **Avaliação das mudanças ocorridas no Queijo Colonial durante a maturação: modificações físico-químicas e microbiológicas**. 2013. 79 f. Trabalho de conclusão de curso (Curso Superior em Tecnologia em Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Francisco Beltrão, 2013.

O queijo colonial, por ser fabricado com leite cru, pode conter uma grande quantidade de microrganismos indesejáveis, responsáveis pela deterioração e servem como indicadores de más condições higiênicas, manipulação inadequada, e uso de utensílios e equipamentos contaminados e mal higienizados. Desta forma, a maturação se torna um processo importante no controle microbiano. Por ser um produto típico na região sul do país, os queijos coloniais apresentam um consumo elevado pela população e representam o sustento de vários produtores da região. Este trabalho teve como objetivo avaliar as mudanças ocorridas no queijo colonial produzido em uma pequena queijaria do município de Francisco Beltrão – PR, através de avaliações físico-químicas e microbiológicas durante a maturação deste produto. Este tipo de queijo não possui um padrão específico de fabricação, portanto, neste trabalho foi apresentado o fluxograma de produção do queijo colonial, que foi submetido à análise. O leite utilizado para a fabricação do lote de queijos analisados também foi submetido às análises físico-químicas e microbiológicas. No período de junho a agosto de 2013, durante 8 semanas, foram coletadas amostras do mesmo lote de queijo semanalmente diretamente da queijaria, que foram submetidas às análises de umidade, pH, acidez, pesquisa de *Salmonella*, Coliformes a 35 °C e a 45 °C e *Staphylococcus aureus* coagulase positiva. Os resultados para as análises físico-químicas da matéria-prima apresentarem valores em acordo com o fixado pela legislação, e as análises microbiológicas de *Salmonella*, *S. aureus*, CBT e coliformes a 45 °C atenderam aos padrões microbiológicos para leite cru refrigerando, estando apenas coliformes a 35 °C em contagens elevadas. Quanto as análises físico-químicas do queijo, os valores médios encontrados para pH foi de 5,4, acidez em ácido láctico de 0,72 a 2,0 % e umidade de 42 % (m/v), sendo classificado como queijo de média umidade. As análises microbiológicas de coliformes a 45 °C e a 35 °C atenderam aos padrões a partir da quarta semana de maturação, *Salmonella* apresentou ausência em 25 g em todas as amostras e *S. aureus* apresentou contagens acima do estabelecido pela legislação na última semana. De maneira geral as contaminações podem ser evitadas com controle na câmara de maturação e cuidados com contaminações cruzadas.

Palavras Chaves: Queijo Colonial. Maturação. Alterações físico-químicas. Alterações microbiológicas.

ABSTRACT

MELLO, Eliane Z.; ARMACHUK, Maquéle A. **Evaluation of changes in the Colonial Cheese during the maturation: changes physicochemical and microbiological.** 2013. 79 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior em Tecnologia em Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Francisco Beltrão, 2013.

The colonial cheese, being made from raw milk, may contain a large amount of undesirable microorganisms responsible for spoilage and serve as indicators of poor hygiene conditions, improper handling and use of utensils and equipment contaminated and poorly sanitized. Thus, the maturation process becomes important in controlling microbial growth. Being a typical product in the southern region of the country, the colonial cheeses have a high consumption by the population and represent the livelihood of many farmers in the region. This study aimed to evaluate changes in colonial cheese produced in a small cheese factory in the municipality of Francisco Beltrão - PR through Physical, chemical and microbiological characteristics during maturation of this product. This type of cheese does not have a specific pattern of manufacturing, so in this paper was presented the flowchart colonial cheese production, which was submitted for analysis. The milk used to manufacture batch of cheese analyzed was also subjected to physico-chemical and microbiological. In the period June to August 2013, 8 weeks, samples were taken from the same lot of cheese weekly directly from the dairy, which were subjected to analyzes of moisture, pH, acidity, Salmonella, Coliforms at 35 ° C and 45 ° C and coagulase positive Staphylococcus aureus. The results for physical and chemical analysis of raw materials showed values in accordance with the prescribed by law, and microbiological testing of Salmonella, S. aureus, CBT and coliforms at 45 ° C met the microbiological standards for raw milk cooling, being only coliforms at 35 ° C in high scores. As the physical and chemical analysis of cheese, the mean values for pH was 5.4, acidity in lactic acid from 0.72 to 2.0 % and 42% moisture (w / v), being classified as cheese average moisture. Microbiological analyzes of coliforms at 45 ° C and 35 ° C met the standards from the fourth week of maturation, showed no Salmonella in 25 g in all samples and S. aureus showed counts above established by the legislation last week. In general contamination can be prevented by controlling the maturation chamber and care with cross contamination.

Keywords: Colonial cheese. Maturation. Physical and chemical changes. Microbiological changes.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	Erro! Indicador não definido.
2 OBJETIVOS	11
2.1 Objetivo Geral	11
2.2 Objetivos específicos	11
3 REVISÃO DE LITERATURA	12
3.1 Leite	12
3.1.1 <i>Microrganismos no leite</i>	13
3.2 Queijo	15
3.2.1 <i>História do queijo</i>	15
3.2.2 <i>Definição</i>	16
3.2.3 <i>Queijo no mundo</i>	16
3.3 Microrganismos presentes em queijos	17
3.3.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	19
3.3.2 <i>Coliformes a 30 °C e Coliformes a 45 °C</i>	20
3.3.3 <i>Salmonella spp.</i>	21
3.4 Queijo Colonial	23
3.5 Maturação de queijos	25
4 MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1 Características do local de estudo	27
4.2 Determinação do Fluxograma de Produção	28
4.3 Análises Microbiológicas do queijo e do leite	28
4.3.1 <i>Coleta do queijo</i>	28
4.3.2 <i>Coleta do leite</i>	28
4.3.3 <i>Preparo e diluição das amostras do queijo e do leite</i>	29
4.3.4 <i>Coliformes a 35 °C e a 45 °C</i>	29
4.3.5 <i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	30
4.3.6 <i>Salmonella spp.</i>	31
4.4 Análises Físico-Químicas	32
4.4.1 <i>Análises Físico-Químicas do queijo</i>	32
4.4.2 <i>Análises Físico-Químicas do leite</i>	32
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5.1 Fluxograma de fabricação do queijo colonial	35

5.1.1 Aquecimento do Leite Cru	36
5.1.2 Adição dos Ingredientes	36
5.1.3 Coagulação	37
5.1.4 Corte	38
5.1.5 Cocção (aquecimento)	39
5.1.6 Mexedura	39
5.1.7 Dessora	40
5.1.8 Pré Prensagem Manual	40
5.1.9 Salga	41
5.1.10 Enformagem	41
5.1.11 Prensagem	42
5.1.13 Maturação	43
5.1.14 Embalagem e Distribuição	46
5.2 Análises do leite utilizado como matéria prima	47
5.2.1 Análises físico-químicas do leite	47
5.2.2 Análises microbiológicas do leite	50
5.3 Análises físico-químicas do queijo colonial	52
5.3.1 Determinação do pH	52
5.3.2 Determinação da acidez titulável	53
5.3.3 Determinação da umidade	55
5.4 Análises microbiológicas do queijo colonial	57
5.4.1 Coliformes a 45 °C	57
5.4.3 Coliformes a 35 °C	57
5.4.4 <i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	60
5.4.5 <i>Salmonella spp.</i>	62
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	64
REFERÊNCIAS	66

1 INTRODUÇÃO

O queijo é um concentrado lácteo constituído de proteínas, lipídios, carboidratos, sais minerais, cálcio, fósforo e vitaminas, principalmente A e B, e é considerado um dos alimentos mais nutritivos que se conhece (PERRY, 2003). É um produto fresco ou maturado, obtido por separação parcial do soro após a coagulação do leite (ou soro), pela ação física do coalho, de enzimas e bactérias específicas, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados (BRASIL, 1996).

O queijo colonial, também conhecido como queijo serrano, produzido na região serrana do Rio Grande do Sul, é um produto de pequena escala industrial com aceitação elevada pelo consumidor. O queijo serrano é um produto não cozido, semiduro, com um sabor marcante. Sua casca é fina, macia, uniforme e lisa, com uma cor palha-amarela e o interior do queijo tem uma cor esbranquiçada, com furos distribuídos irregularmente. É consumido após um período curto de maturação, geralmente 30 dias (SOUZA et al., 2003 apud PEREIRA, 2007).

Dentre os produtos derivados do leite, o queijo é considerado um veículo frequente de patógenos de origem alimentar e, em especial, os queijos frescos artesanais, por serem, na maioria das vezes, elaborados a partir de leite cru e não sofrerem processo de maturação por períodos adequados. A contaminação microbiana desses produtos assume destacada relevância, tanto para a indústria, pelas perdas econômicas, como para a saúde pública, pelo risco de causar doenças transmitidas por alimentos (FEITOSA et al., 2003).

A contaminação do queijo pode ocorrer por vários fatores, dentre eles, matéria-prima de má qualidade, instalação e equipamentos mal higienizados, manipulação inadequada e condições de armazenamento deficientes (GUERREIRO et al., 2005). Vale ressaltar que o queijo colonial não possui um padrão de fabricação, na maioria das vezes, sua comercialização é informal e sem controle de qualidade (REZENDE et al., 2010).

Na tentativa de evitar possíveis intoxicações através do seu consumo, o Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento determina que os queijos elaborados a partir de leite cru devam ser maturados por um período mínimo de 60 dias, período inferior a este fica restrito a queijarias situadas em região de indicação geográfica registrada ou tradicionalmente reconhecida (BRASIL, 2013e).

Diversos trabalhos científicos relatam que a qualidade da matéria-prima, as condições de processamento e de maturação dos queijos são imprescindíveis para a obtenção de um produto de qualidade e de segurança para a saúde do consumidor (FURTADO, 1991; FEITOSA et al., 2003; BUSSANELLO, 2008).

Nesse contexto, conhecer os efeitos da maturação em queijos coloniais sobre os microrganismos patogênicos é de suma importância para que melhorias na qualidade sejam alcançadas, garantindo segurança ao consumidor.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar as modificações físico-químicas e microbiológicas ocorridas durante a maturação de queijo colonial produzido com leite cru e comercializadas na cidade de Francisco Beltrão - PR.

2.2 Objetivos específicos

- Acompanhar a maturação do queijo colonial por um período de 60 dias;
- Avaliar a qualidade da matéria-prima (leite) utilizada para fabricação do queijo colonial, através das análises físico-químicas (acidez °D, pH, gordura, ESD, densidade e proteína) e microbiológicas (*Salmonella* spp., *Staphylococcus* coagulase positiva, contagem bacteriana total e coliformes a 35 °C e 45 °C);
- Registrar a temperatura e teor de umidade da câmara de maturação durante o período do estudo;
- Elaborar o fluxograma de produção e descrever o processo de fabricação do queijo colonial;
- Verificar as alterações de acidez em ácido láctico, pH e umidade que ocorrem durante a maturação do queijo colonial;
- Verificar as modificações microbiológicas quanto a a contagem de coliformes a 35 e 45 °C, *Staphylococcus* coagulase positiva; e presença de *Salmonella* spp. durante a maturação.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Leite

Segundo definição do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), através da Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011 (IN62/2011):

“entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite de outros animais deve denominar-se segundo a espécie de que proceda” (BRASIL, 2011a).

Ordóñez (2005, p. 13) define o leite do ponto de vista biológico, como o produto da secreção das glândulas mamárias de fêmeas mamíferas, cuja função natural é a alimentação dos recém-nascidos. Já do ponto de vista físico-químico, o leite é uma mistura homogênea de grande número de substâncias, das quais algumas estão em emulsão, algumas em suspensão e outras em dissolução verdadeira.

No mundo, várias espécies pecuárias são utilizadas na produção leiteira, onde se destacam a ovelha, a cabra e a búfala. Porém a maior parte do leite produzido é proveniente de vaca. O leite pode ser utilizado basicamente para dois fins: a alimentação em forma líquida, leite “in natura”, ou como matéria-prima, servindo como base para a produção de diversos produtos lácteos (VALSECHI, 2001).

O leite é um produto de grande importância na alimentação, devido ao seu alto valor nutritivo. É rico em proteínas, gordura, lactose, minerais, água e sólidos totais, porém sua composição pode variar de acordo com a espécie, raça, alimentação e alguns outros fatores (BRASIL, 2012).

Rodrigues (2009) destaca que a qualidade do leite *in natura* é influenciada por muitos fatores, como zootécnicos associados ao manejo, alimentação, potencial genético de rebanhos, e fatores relacionados à obtenção e armazenamento do leite.

De acordo com a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), os maiores produtores mundiais de leite em 2011 foram

respectivamente: Estados Unidos, Índia, China, Brasil, Rússia e a Alemanha (BRASIL, 2013d).

A produção de leite é uma atividade importante na maioria dos países. De acordo com Zoccal e Gomes (2005), em 2002, o volume mundial foi de 598 bilhões de litros, sendo aproximadamente 84 % leite de vaca, 13 % de búfala e o restante de cabra, ovelha e camelo. A Europa produz 40 % do volume mundial, principalmente na Rússia (32 bilhões de litros), Alemanha (28 bilhões de litros) e França (25 bilhões de litros). A América do Norte, Sul e Central produzem juntas 30 % do total, sendo os países mais produtores Estados Unidos (75 bilhões de litros) e Brasil (21 bilhões de litros). Na Ásia, a Índia é o país que mais se destaca, com 35 bilhões de litros de leite de vaca e 48 bilhões de litros de leite de búfala.

Em Minas Gerais se concentra a maior produção de leite do nosso país, sendo que, em 2011, foi o estado que mais produziu leite, respondendo por 27,3 % da produção nacional, seguido por Rio Grande do Sul, com 12,1 %; Paraná, com 11,9 % e Goiás, com 10,9%. (BRASIL, 2013d).

3.1.1 Microrganismos no leite

A grande variedade e alta qualidade dos nutrientes presentes no leite, o torna um alimento de extremo valor na dieta humana, mas, pela mesma razão, constitui excelente substrato para o crescimento de grande diversidade de microrganismos (ORDÓÑEZ, 2005, p. 41).

De acordo com Ordóñez (2005, p. 41) a atividade de alguns microrganismos que contaminam o leite é considerada benéfica para o homem, pois participam ativamente das mudanças físicas, químicas e sensoriais que ocorrem no leite ao se preparar os produtos lácteos por eles consumidos. Porém, a atividade microbiana incontrolada é prejudicial e leva à alteração do produto, tornando-o inadequado para o consumo. Em outros casos, os microrganismos patogênicos presentes no leite podem causar graves problemas à saúde humana.

O leite, mesmo o que procede de animais saudáveis, sempre contém uma série de microrganismos, porém essa taxa pode variar de acordo com as medidas higiênicas que foram adotadas na ordenha, e no armazenamento. Os

microrganismos presentes no leite cru decorrem de três fontes principais: o interior do úbere, o exterior do úbere e os equipamentos e utensílios utilizados em laticínios (ORDÓÑEZ, 2005, p. 41).

Jay (2005, p. 137) destaca que os microrganismos presentes no leite cru de vaca são os mesmos encontrados no úbere e na pele desse animal, nos utensílios da ordenha ou nas tubulações da coleta. Sob boas condições de manuseio e conservação, a microbiota predominante é Gram-positiva.

Em pesquisa realizada por Guerreiro et al. (2005), comprovou-se que o controle higiênico sanitário colabora na redução da microbiota final do leite. A pesquisa teve por base quatro propriedades leiteiras, onde se aplicaram questionários e coletaram-se amostras em períodos distintos. Observou-se ainda que quando a ordenha é feita em condições de boa higiene, a quantidade de microrganismos é baixa e a conservação do leite é prolongada.

A contagem de microrganismos deve atender aos padrões estabelecidos pela legislação vigente, não ultrapassando os requisitos máximos estabelecidos pela IN62/2011 (Quadro 1) (BRASIL, 2011a).

Requisitos	Limites
Gordura (g/100g)	Teor original, com o mínimo de 3,0
Acidez (g ácido Láctico / 100mL)	0,14 a 0,18
Densidade Relativa a 15 / 15 °C g/mL	1,028 a 1,034
Extrato seco desengordurado (g/100g)	Mínimo de 8,4
Índice Crioscópico	- 0,530 °H a -0,550 °H (equivalentes a -0,512 °C e a -0,531 °C)
Proteína (g/100g)	Mínimo 2,9
Contagem Padrão em Placas (UFC/mL)	Máximo $6,0 \times 10^5$ UFC/mL
Contagem de Células Somáticas (CCS)	Máximo $6,0 \times 10^5$ CS/mL

Quadro 1 – Características físicas, químicas e microbiológicas do leite cru refrigerado.

UFC/mL = Unidade Formadora de Colônia por mililitro; CS/mL = Células somáticas por mililitro; °H = graus Hortvet;

Fonte: Brasil (2011).

3.2 Queijo

3.2.1 História do queijo

O queijo é um dos alimentos mais antigos registrados em toda história da humanidade. A arte de fabricar queijos tem seu início num passado de milhares de anos antes do nascimento de Cristo (CAVALCANTE, 2004).

Segundo Valsechi (2001), em épocas pré-históricas, um legendário mercador viajante da Arábia de nome Kanana, havia levado consigo, em uma de suas viagens, um cantil feito de estômago seco de carneiro, com certa quantidade de leite de cabra. Porém, quando Kanana resolveu beber o leite, somente um líquido fino e aquoso escorreu do interior do cantil. Curioso, Kanana cortou o cantil e viu que o leite havia se transformado numa coalhada branca. O coalho existente no estômago parcialmente seco do carneiro havia coagulado o leite e o resultado foi o queijo.

O surgimento do queijo ocorreu de forma acidental, como um modo de conservar o leite há milhares de anos no Oriente Médio. O queijo primitivo, nada mais era que o leite coagulado, que era transportado em recipientes feitos do quarto estômago de animais ruminantes. Estes animais possuem em seu estômago a enzima renina, responsável pela coagulação do mesmo. Com o passar do tempo, na Europa Medieval, criou-se formas de conservação e novas práticas de fabricação (ALBUQUERQUE, 2009).

Segundo Furtado (1991), a fabricação de queijos no Brasil se deu no início do século XX, firmando-se do ponto de vista industrial com a chegada de imigrantes dinamarqueses e holandeses, que se estabeleceram nas regiões de Santos Dumont e Barbacena, em Minas Gerais.

De acordo com o Sebrae (2008), o mercado de queijos apresenta um grande número de pequenos e micro laticínios que atuam regionalmente e fora do perímetro do Serviço de Inspeção Federal do Ministério da Agricultura – SIF, dificultando a obtenção de informações oficiais sobre a produção total de queijos no Brasil.

Em 2006, o mercado informal correspondeu a cerca de 40 % do total da produção de queijos no Brasil, e em 2007, no comércio brasileiro de leite, 34 % da produção foi destinada à fabricação de queijos (SEBRAE, 2008).

3.2.2 Definição

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos:

“entende-se por queijo o produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do calho, de enzimas específicas, de bactéria específica, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes” (BRASIL, 1996).

A denominação queijos frescos, refere-se a queijos que estão prontos para consumo logo após sua fabricação, e queijos maturados, aqueles que sofreram alterações bioquímicas e físicas necessárias e características da variedade do queijo. A denominação “queijo” está reservada aos produtos em que a base láctea não contenha gordura e/ou proteínas de origem não láctea (BRASIL, 1996).

O leite destinado à produção de queijos frescos deverá obrigatoriamente ser pasteurizado. Para queijos maturados permite-se o uso de leite cru desde que o período de maturação esteja dentro dos prazos determinados geralmente por 60 dias (BRASIL, 1996).

3.2.3 Queijo no mundo

De acordo com Guimarães et al. (2008), o queijo representa o segundo maior produto no mercado de lácteos. Entre 2003 e 2007, as exportações mundiais cresceram 59,9 % atingindo US\$ 21,6 bilhões. Este mercado está concentrado no

continente Europeu, que em 2007 produziu cerca de 6,8 milhões de toneladas de queijo.

No comércio de lácteos entre países, os queijos representam uma parcela importante. A Alemanha é o maior país exportador de queijos, sendo que os principais destinos dos queijos são os países da comunidade europeia, alguns países asiáticos e americanos. Em relação ao Brasil, no ano de 2007, o país ocupou a 39ª posição com o volume exportado de 7 mil toneladas. Apesar de não ser destaque nesse mercado, o Brasil apresentou exportações crescentes no período. Em 2003, o país ocupava a 42ª posição, com volume exportado de 3 mil toneladas (GUIMARÃES et al., 2008).

De acordo com o Sebrae (2008), o mercado de queijos apresentou um crescimento expressivo a partir de 1994, ano do Plano Real, que gerou aumento do poder de compra do consumidor das classes mais baixas. Nos anos subsequentes (1995 a 1997), o mercado de queijos continuou apresentando índices de crescimento elevados, mas, a partir de 2000, as taxas de crescimento do mercado de queijos se mantiveram praticamente estáveis, num patamar em torno de 6 % ao ano. Entre 2002 e 2006, este mercado cresceu cerca de 20 %.

3.3 Microrganismos presentes em queijos

De modo geral, os queijos podem conter microrganismos desejáveis e indesejáveis. Os desejáveis irão contribuir para dar características ao produto, como sabor e aroma de determinado tipo de queijo. Entretanto, alguns microrganismos indesejáveis, também chamados de patogênicos e deteriorantes, podem ocorrer. Além de exercer efeito negativo na qualidade sensorial do queijo, em alguns casos estes contaminantes podem provocar doenças (PEREIRA, 2007). *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Brucella*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* e *Campylobacter* sp. são alguns exemplos de microrganismos que estão relacionados a surtos de toxinfecções alimentares envolvendo o consumo de leite e seus derivados (SANTOS, 2010).

Segundo Ferreira (2004) apud Martins (2006), os fatores que mais afetam o desenvolvimento dos microrganismos no queijo são a temperatura, potencial redox,

atividade de água e pH. Destes, a atividade de água está diretamente relacionada ao conteúdo de umidade do queijo e à concentração de sal.

A produção de queijo artesanal, ou colonial, apresenta grande possibilidade de contaminação, devido à utilização de matérias-primas de fontes não seguras, processamento, armazenagem e distribuição / transporte inadequados, não atendendo à legislação. Também podem contribuir para a contaminação do produto processos improvisados em instalações não apropriadas e sem higiene (PEREIRA, 2007).

Segundo Martins (2006), uma das principais fontes de contaminação do queijo é o leite, que pode apresentar patógenos oriundos de diversos meios como: os animais, os manipuladores e equipamentos. As práticas higiênicas insatisfatórias durante a ordenha, a estocagem, o transporte e o processamento do produto também estão diretamente relacionados com as fontes de contaminação.

Para assegurar a inocuidade do leite e de seus derivados, sistemas de barreiras múltiplas devem ser usados para reduzir o risco para o consumidor, como o manejo adequado do rebanho animal, a erradicação de certas doenças animais, a adoção de boas práticas de produção e práticas higiênicas na ordenha (VANETTI, 2003 apud MARTINS, 2006).

Uma das formas de melhorar a qualidade microbiológica de um queijo produzido a partir de leite cru, mesmo havendo uma contagem inicial de patógenos elevada, é a maturação, uma vez que ela favorece a combinação de fatores físicos, químicos e microbiológicos, considerados fundamentais para a estabilidade e segurança do queijo (MARTINS, 2006).

Ross et al. (2005) submeteram 25 amostras de queijo colonial, obtidos de 5 estabelecimentos da cidade de Três Passos – RS, às análises microbiológicas, onde foram observados índices elevados de microrganismos presentes nos queijos.

Schmitt e Cereser (2011) analisaram 30 amostras de queijos de produção artesanal, onde todas estavam impróprias para o consumo humano, pois foram detectados presença de *Staphylococcus* coagulase positiva e coliforme de origem fecal superior ao estabelecido pela legislação brasileira.

3.3.1 *Staphylococcus aureus*

Segundo Franco e Landgraf (2008, p. 43), as bactérias do gênero *Staphylococcus* são cocos Gram-positivos e pertencem à família Micrococcaceae. São facultativas anaeróbicas, com maior crescimento sob condições aeróbicas, onde produzem catalase.

Os estafilococos são bactérias mesófilas, e sua temperatura de ótima de desenvolvimento é entre 35 a 40 °C com limites entre 7 °C a 45 °C. As enterotoxinas são produzidas em uma faixa limitada de temperatura entre 10 °C e 46 °C, sendo considerado ótimo entre 40 °C e 45 °C. Os surtos de intoxicação alimentar são provocados por alimentos que permanecem neste intervalo de temperatura por tempo variável (SILVA et al., 2007). Em relação ao pH, essa bactéria cresce na faixa de 4 a 9,8, com ótimo entre 6 e 7 (FRANCO e LANDGRAF, 2008, p. 43-44).

A espécie *Staphylococcus aureus* está frequentemente associada às doenças de origem alimentar (FRANCO e LANDGRAF, 2008, p. 43-44). O *Staphylococcus aureus* pode provocar intoxicação pela ingestão de alimentos que apresentem a toxina pré-formada (enterotoxinas), sendo responsável pela maioria das intoxicações alimentares em humanos (SANTOS, 2010).

As enterotoxinas são termorresistentes, ou seja, resistem aos tratamentos térmicos normalmente utilizados nas indústrias de produtos lácteos, diferente do *S. aureus*, que é facilmente eliminado com o tratamento térmico (SANTOS, 2010). O período de incubação de um surto varia de 30 minutos a 8 horas, após a ingestão de alimentos contendo a enterotoxina (FRANCO e LANDGRAF, 2008, p. 44).

Segundo Franco e Landgraf (2008, p. 44), a cavidade nasal é o principal hábitat dos estafilococos no homem, podendo atingir tudo o que tenha entrado em contato com o homem.

Como alimentos fontes de contaminação, destacam-se carnes e produtos cárneos, produtos lácteos e derivados (principalmente o queijo), aves, ovos, saladas mistas, patês, molhos dentre outros. Os alimentos que requerem muita manipulação durante o preparo ou que permanecem à temperatura ambiente após a preparação são de grande risco (SILVA et al., 2007).

Franco e Landgraf (2008, p. 45) destacam que a contaminação de queijos já foi responsável por vários surtos, tanto antes como depois do uso de leite

pasteurizado na fabricação. No caso de leites pasteurizados, pode ocorrer contaminação pós-processamento ou pela utilização de fermentos (*starters*) contaminados por *S. aureus*.

Sabe-se que a mastite é um dos principais problemas enfrentados mundialmente no setor leiteiro. Muitos microrganismos estão relacionados às causas desta inflamação da glândula mamária, sendo que a espécie mais frequentemente isolada é o *S. aureus* (CUNHA e CUNHA, 2007).

De acordo com Franco e Landgraf (2008, p. 46), o desenvolvimento de *S. aureus* é inibido por cepas de *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* e *L. lactis* ssp. *cremoris*. Portanto, esse efeito antagonista entre as bactérias lácticas e o *S. aureus* contribuem no controle destas intoxicações.

Considerando que a eliminação do *Staphylococcus aureus* do ambiente é impossível, métodos preventivos devem ser adotados a fim de controlar essa contaminação e multiplicação (SANTOS, 2010).

3.3.2 Coliformes a 30 °C e Coliformes a 45 °C

Coliformes totais ou a 30 °C são bacilos Gram-negativos, em forma de bastonetes, aeróbios ou anaeróbios facultativos que fermentam a lactose a 35-37 °C, produzindo ácido, gás e aldeído, em um prazo de 24-48 horas. São também oxidase-negativos e não formam esporos (BRASIL, 2006).

Segundo Silva et al. (2007, p. 119), fazem parte desse grupo bactérias pertencentes aos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*. Destas bactérias, apenas a *Escherichia coli* tem como hábitat primário o trato intestinal do homem e animais. Os demais, além de serem encontrados nas fezes, estão presentes em outros ambientes como vegetais e solo. Assim, a presença de coliformes totais no alimento não indica, necessariamente, contaminação fecal recente ou ocorrência de enteropatógenos.

Os coliformes termotolerantes ou a 45 °C formam o subgrupo das bactérias do grupo coliforme que fermentam a lactose a $44,5 \pm 0,2$ °C em 24 horas, tendo como principal representante a espécie *Escherichia coli*, de origem exclusivamente fecal (BRASIL, 2004).

A pesquisa de coliformes termotolerantes ou de *E. coli* nos alimentos, fornece informações sobre as condições higiênicas do produto e indicação de eventual presença de enteropatógenos (FRANCO e LANDGRAF, 2008, p. 28).

Franco e Landgraf (2008, p. 28) destacam que, em alimentos frescos que apresentam elevados números de Enterobacteriaceae, indicam manipulação sem higiene adequada e/ou armazenamento inadequado. E em alimentos processados, a presença de um número considerado de coliformes indica processamento inadequado e/ou recontaminação pós-processamento, sendo as causas mais frequentes provenientes da matéria-prima, equipamento sujo ou manipulação sem higiene.

3.3.3 *Salmonella* spp.

De acordo com Silva et al. (2007, p. 253), o gênero *Salmonella* pertence à família Enterobacteriaceae e compreende bacilos Gram-negativos não produtores de esporos. São anaeróbicos facultativos, produzem gás a partir de glicose e são capazes de utilizar o citrato como única fonte de carbono.

A *Salmonella* é um dos microrganismos frequentemente relacionados em casos e surtos de doenças de origem alimentar. Pode ser encontrado tanto no trato intestinal do homem e de animais de sangue quente e frio (JAY, 2005). As aves são consideradas o reservatório mais importante, mas bovinos, suínos, equinos, animais silvestres e domésticos também apresentam salmonelas (FRANCO e LANDGRAF, 2008, p. 59).

A ocorrência de *Salmonella*, segundo Borges et al. (2010), tem sido relatada desde a cadeia de produção primária de alimentos até o ambiente doméstico ou estabelecimentos e instituições de serviços de alimentação.

As doenças causadas por *Salmonella* podem ser subdivididas em três grupos:

- a febre tifoide, causada por *Salmonella typhi*, que normalmente é transmitida por água e alimentos contaminados com material fecal humano, só acomete o homem, seus sintomas são muito graves, e incluem septicemia (multiplicação da *Salmonella* no sangue), diarreia, febre alta e vômitos;

- as febres entéricas, causadas por *Salmonella paratyphi* (A, B e C), bastante semelhante à febre tifóide, porém com sintomas mais brandos. O consumo de água e alimentos, especialmente leite e vegetais crus, mariscos e ovos são as principais causas destas doenças;

- as enterocolites (ou salmoneloses), causadas pelas demais espécies de salmonelas. Como sintomas podem ser citados a diarreia, febre, dores abdominais e vômitos, os quais aparecem em média, 12 a 36 horas após o contato com o microrganismo (FRANCO e LANDGRAF, 2008, p. 57).

Surtos de salmonelose têm sido associados a leite e produtos lácteos, em vários países, inclusive no Brasil. Os queijos frescos, como o Minas Frescal, e artesanais, como o de coalho e o colonial, aparecem em inúmeros relatos de contaminação por *Salmonella*, devido principalmente à utilização de leite cru ou pela pasteurização inadequada do leite utilizado como matéria prima (BORGES et al., 2010).

A Tabela 1 apresenta alguns casos de surtos de *Salmonella* que ocorreram pelo mundo.

Tabela 1. Surtos de salmonelose associados ao consumo de leite e produtos lácteos no Brasil e no mundo.

Ano	País	Veículo
1994	Canadá	Queijo macio
1995	França	Queijo (leite cru)
1997	Estados Unidos	Queijo tipo Mexicano (leite cru)
1997	Estados Unidos	Queijo tipo Mexicano (leite cru)
1998	Canadá	Queijo Cheddar
2000	Estados Unidos	Leite pasteurizado (contaminado)
2000	Brasil	Rizoto com queijo
2001	Estados Unidos	Queijo tipo italiano
2001	França	Queijo Cantal (leite cru)
2002	Estados Unidos	Leite cru
2004	Brasil	Sanduíche com tomate seco e queijo
2006	Suíça	Queijo duro
2007	Pensilvânia	Leite cru e queijo fresco
2007	Suíça	Queijo macio
2008	Holanda	Queijo cremoso

Fonte: Adaptado de EMBRAPA, 2010. Brasil (2010).

Segundo Franco e Landgraf (2008, p. 60), o calor é uma forma eficiente para a destruição de salmonelas nos alimentos. Porém, várias medidas de prevenção e controle podem ser adotadas a fim de evitar riscos de contaminação. Borges et al. (2010) destacam a importância dos cuidados nos processos rotineiros durante a manipulação de preparo de alimentos, bem como de observações epidemiológicas e de programas específicos para a prevenção / correção das falhas que favorecem / determinam os surtos alimentares.

3.4 Queijo Colonial

O Programa SEBRAE de Artesanato define o termo artesanal ou típico, quando se refere a produtos como alimentos processados seguindo métodos tradicionais, em pequena escala, muitas vezes em família ou por determinado grupo. Os queijos artesanais ou coloniais são produtos em que os métodos e processos são realizados de forma tradicional. No Brasil, a maior parte dos produtores de queijos artesanais utiliza o método tradicional, porém de forma rudimentar, não seguem a legislação vigente, sem controle de qualidade, e na maioria das vezes em família ou por determinado grupo (SEBRAE, 2008).

Devido ao seu alto valor nutritivo e também por suas características sensoriais, o queijo está entre os alimentos artesanais que mais se destacam no país. Dos queijos artesanais produzidos e consumidos no Brasil, o queijo colonial, tem sido utilizado como alternativa de incremento de renda aos pequenos produtores rurais (JUNIOR et al., 2011).

O queijo colonial é originário do estado do Rio Grande do Sul, sendo muito produzido na região sul do Brasil. Este queijo apresenta sabor levemente picante e coloração amarela pálida. Existem dois tipos de queijo colonial: o tradicional e outro com cobertura feita com vinagre ou vinho (SEBRAE, 2008).

Segundo Holowka et al. (1999 apud Junior et al., 2011) e Oliveira (2010), a produção de queijos artesanais na região sudoeste do Paraná é caracterizada por pequenas unidades no meio rural, sem qualquer fiscalização, com baixo padrão tecnológico e pouca padronização quanto às características. As técnicas utilizadas para produção são oriundas de tradições familiares e se encontram organizadas no

município tanto na forma de associações como na forma individualizada (OLIVEIRA, 2010).

Em Francisco Beltrão, de acordo com dados da Secretaria Municipal de Agricultura (2013), existem atualmente 5 agroindústrias de queijo colonial que são inspecionados pelo SIM/POA, sendo que a produção anual é de aproximadamente 2.880 Kg de queijo.

De acordo com Pinto et al. (1996), os queijos regionais que são obtidos através de processos artesanais se apresentam muitas vezes contaminados, isto ocorre devido ao uso de matérias primas de baixa qualidade, ou por processamento inadequado e sem higiene. Dentre os contaminantes destacam-se vacas não sadias com casos de mastite, deficiência de higiene durante a ordenha, armazenamento e equipamentos inadequados à conservação do produto, elevada temperatura, obtendo um leite de elevado teor de microrganismos patogênicos.

Segundo Busnello (2008), para a fabricação de bons queijos, é essencial que a matéria-prima seja de qualidade, e essa qualidade está diretamente relacionada às condições de sanidade do rebanho e à produção higiênica do leite, englobando o local de ordenha, o ordenhador, o vasilhame, o acondicionamento, a conservação e o transporte do mesmo.

A falta de critérios de qualidade e padronização da matéria-prima e das técnicas de processamento do queijo colonial permitem que atinjam o mercado e os consumidores produtos com diversas composições e, muitas vezes, de baixa qualidade. Por esse motivo, embora o governo municipal e estadual incentive a prática da produção familiar, é necessário que existam critérios para garantir um produto de qualidade (OLIVEIRA, 2010).

Normalmente, o leite utilizado para a fabricação de queijo colonial não sofre nenhum tipo de tratamento térmico, e por esse motivo é necessário que o tempo de maturação, estabelecido pela legislação, seja respeitado, pois, de acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos, fica excluído da obrigação de ser submetido à pasteurização ou outro tratamento térmico o leite higienizado que se destine à elaboração dos queijos submetidos a um processo de maturação, a uma temperatura superior aos 5 °C, durante um tempo não inferior a 60 dias (BRASIL, 1996).

3.5 Maturação de queijos

Os queijos maturados passam por processos físicos, bioquímicos e microbiológicos que alteram sua composição química. Dentre as alterações, destacam-se a degradação do açúcar, proteínas e lipídeos através de enzimas específicas ou microrganismos naturalmente presentes no leite (PERRY, 2003). Dessa degradação resultam inúmeros metabólitos responsáveis pela variação nas características específicas para cada variedade de queijo (ROCHA, 2004).

Através dos processos físicos, bioquímicos e microbiológicos vão se acumulando várias substâncias que contribuem para o sabor e aroma (aldeídos, cetonas, ácidos graxos livres, peptídeos, etc.) (ORDÓÑEZ, 2005, p. 93).

O processo de maturação é realizado, na maioria dos casos, em câmaras com temperatura e umidade adequada por períodos que variam com o tipo de queijo. Este processo é desfavorável quando se considera a comercialização, pois, este período de maturação atrasa a venda do produto e aumenta a responsabilidade do produtor em mantê-lo livre da contaminação (PERRY, 2003).

A maturação é um processo importante para queijos produzidos com leite cru, porém, demanda de instalação adequada e cuidados rigorosos evitando os riscos à saúde do consumidor (PERRY, 2003).

Ordóñez (2005, p. 93) descreve as principais reações bioquímicas que ocorrem durante a maturação:

- glicólise: a acidificação do leite e da coalhada ocorre graças à produção de ácido láctico a partir da lactose por cepas selecionadas de bactérias lácticas, denominados cultivos iniciadores;
- proteólise: a hidrólise da proteína a peptídeos e aminoácidos afeta de maneira muito acentuada tanto a textura como o sabor e o aroma;
- lipólise: a hidrólise da gordura a glicerol e ácidos graxos não afeta a textura, mas sim, o sabor e aroma finais do produto.

De acordo com Martins (2006), o processo de maturação do queijo depende basicamente de três fatores: temperatura e umidade da atmosfera em contato com o queijo; composição química da coalhada, como teor de gordura, aminoácidos, ácidos graxos e outros produtos da ação enzimática; e microbiota residual da

coalhada, presente na cultura *starter*, no leite original utilizado ou da planta industrial e seu ambiente.

O desenvolvimento dos microrganismos depende das condições que o alimento se encontra, sendo eles condições de pH, temperatura, umidade, acidez e atividade de água (ORDÓÑEZ, 2005).

Para queijos elaborados com leite cru o grupo dos coliformes se desenvolve no início da maturação, e com o seu avanço, ocorre aumento da acidez e diminuição da atividade de água fazendo com que seu crescimento seja inibido. Microrganismos patogênicos apresentam evolução similar aos coliformes, sendo também sensíveis ao pH ácido e atividade de água baixa (ORDÓÑEZ, 2005).

A microbiota dos queijos pode ser dividida em dois grupos: bactérias lácticas iniciadoras (BLI) e microrganismos secundários. As primeiras são responsáveis pela transformação de lactose em ácido láctico durante a preparação do queijo, suas enzimas também contribuem na maturação, estando envolvidas na proteólise e na conversão de aminoácidos em substâncias voláteis responsáveis pelas propriedades sensoriais do produto. Por serem de crescimento rápido, estes microrganismos podem alterar o leite por acidificação se sua ação não for controlada. Por outro lado, são indispensáveis para a fabricação dos queijos. As BLI podem ser adicionadas no início da produção, ou pode-se utilizar somente aquelas que já ocorrem naturalmente no leite. Este último caso é o normalmente utilizado na fabricação de queijos artesanais a partir de leite não pasteurizado (PERRY, 2003).

Segundo Nespolo et al. (2009), a utilização de bactérias lácticas iniciadoras na fabricação de queijo, além de desenvolverem uma rota essencial na produção de laticínios, contribuem para a qualidade do produto devido a sua capacidade de produzir ácido láctico a partir da lactose, a qual auxilia na redução do pH, provocando a expulsão de soro da coalhada, diminuição do conteúdo de umidade e inibição de microrganismos patogênicos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Características do local de estudo

As amostras de queijo colonial utilizadas para realização da pesquisa foram produzidas em um pequeno laticínio localizado na zona rural do município de Francisco Beltrão - PR. O laticínio possui Sistema de Inspeção Municipal (SIM), da Secretaria Municipal de Agricultura de Francisco Beltrão que torna obrigatória a prévia inspeção e fiscalização dos produtos de origem animal produzidos no município de Francisco Beltrão e destinados ao consumo humano dentro dos limites de sua área geográfica. Todos os produtos elaborados sob o Serviço de Inspeção Municipal estão identificados pelo selo do SIM / POA, garantindo que o produto foi produzido seguindo todas as normas necessárias para se obter um alimento inócuo a saúde do seu consumidor.

O laticínio possui em sua estrutura uma sala de processamento, onde dispõe de um tanque para fabricação de queijo e outros utensílios utilizados durante o processamento como mesa, prensa e balança, e duas pequenas salas onde estão armazenados alguns utensílios e ingredientes. Possui ainda uma câmara de maturação, porém não há controle de temperatura e umidade relativa. A equipe de trabalho é formada por duas pessoas, a proprietária e uma funcionária.

A produção de queijo colonial é realizada nas segundas, quartas, sextas e sábados. O leite utilizado é obtido apenas do rebanho dos proprietários do laticínio, sendo em média 360 litros de leite por dia de produção de queijo durante a semana, o que equivale a aproximadamente 50 queijos por lote de produção e no sábado a quantidade de leite é metade, em média 180 litros.

Os queijos produzidos, após maturação média de 15 dias, são distribuídos e comercializados em supermercados do município.

4.2 Determinação do Fluxograma de Produção

Com o objetivo de identificar e descrever as principais etapas de fabricação do queijo colonial produzido no laticínio pesquisado, foi realizada visita técnica e acompanhamento dos procedimentos de fabricação. Após a coleta de dados, foi elaborado o fluxograma de produção, abrangendo as principais operações executadas na elaboração do queijo colonial do estudo.

4.3 Análises Microbiológicas do queijo e do leite

4.3.1 Coleta do leite

Foi coletada uma amostra do leite cru utilizado para a produção do lote de queijo a ser analisado, para se proceder às análises microbiológicas e físico-químicas no mesmo.

4.3.2 Coleta do queijo

Foram coletadas amostras de um mesmo lote, os quais permaneceram na câmara de maturação do laticínio, por diferentes períodos de acordo com as datas coletadas. Duas amostras de queijo colonial foram coletadas a cada 7 dias durante 8 semanas e levadas imediatamente ao laboratório em caixa isotérmica contendo gelo reciclável, mantendo a amostra no máximo de 7 °C durante o transporte, e até que fossem realizadas as análises. Todas as análises foram realizadas em duplicata.

4.3.3 Preparo e diluição das amostras do queijo e do leite

Inicialmente foram pesados, assepticamente, 25 g da amostra de queijo em béquer previamente esterilizado. Para análise do leite, foram pipetados, assepticamente, 25 mL da amostra de leite. As amostras foram colocadas em frasco Schott contendo 225 mL de água peptonada 0,1 % (m/v) previamente preparada e esterilizada, sendo esta a diluição 10^{-1} . Para o preparo das diluições subsequentes, foram pipetados, assepticamente, 1 mL da diluição anterior, colocado em tubo de ensaio contendo 9 mL de água peptonada 0,1 % e homogeneizado, como apresentado na figura 1.

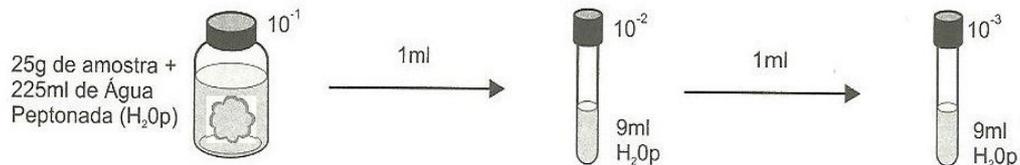


Figura 1 – Procedimento utilizado para o preparo das diluições seriadas das amostras.

Fonte: Adaptado de Silva (2007, p. 130).

Após o preparo das diluições, foram realizados os procedimentos para análise de coliformes a 35 °C e a 45 °C com as placas 3M™ Petrifilm™ para Contagem de *E. coli* / Coliformes, adotando todos procedimentos de acordo com o recomendado pelo fabricante do produto. *Staphylococcus* coagulase positiva e Contagem bacteriana total de acordo com metodologia descrita pela Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003, do ministério da agricultura pecuária e abastecimento (MAPA) métodos analíticos oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água (BRASIL, 2003).

4.3.4 Coliformes a 35 °C e a 45 °C

Para a determinação de coliformes a 35 °C e a 45 °C foram utilizadas as Placas 3M™ Petrifilm™ para Contagem de *E. coli* / Coliformes, adotando todos procedimentos de acordo com o recomendado pelo fabricante do produto.

A partir das diluições previamente preparadas, foi inoculado 1 mL de cada diluição sobre o Petrifilm, de acordo com as instruções descritas no Guia de Interpretação, e foram incubados em estufa bacteriológica à temperatura de 35 °C por 48 horas (PETRIFILM 3M, 2009).

Após a incubação foram realizadas as contagens das colônias, onde as colônias de *E. coli* produziam gás e eram indicadas pelas colônias azuis a vermelho-azuladas. Colônias de coliformes a 35 °C que se desenvolveram nas placas produziam ácido, fazendo com que o indicador de pH torne a cor do gel vermelho. O gás retido ao redor das colônias vermelhas e azuis de coliformes indica coliformes confirmados (PETRIFILM 3M, 2009). Os resultados foram expressos em UFC/mL ou g.

4.3.5 *Staphylococcus coagulase positiva*

A contagem de *Staphylococcus coagulase positiva* realizou-se pelo método de contagem direta em placas e teste bioquímico de produção de coagulase.

A partir das diluições previamente preparadas, foram inoculados 0,1 mL de cada diluição, em placas de petri contendo o Agar Baird-Parker (BP) que foram incubadas à temperatura de 35 °C por 48 horas.

Após a incubação, as colônias pretas com halo de transparência ou precipitação foram contadas. Caso apresenta-se este tipo de colônias, foram selecionadas 5 colônias características e inoculadas em Caldo Infusão Cérebro-Coração (BHI) incubando-se a 35 °C por 24 horas.

Para o teste de coagulase positiva, foi transferido 0,2 mL de cada cultura obtida em caldo BHI, em tubo estéril. Neste mesmo tubo foi adicionado 0,5 mL de plasma de coelho EDTA sob agitação. O mesmo foi incubado a 35-37 °C e durante 6 horas observando-se a formação de coágulo. A formação de coágulo grande e organizado indica que a reação é positiva (BRASIL, 2003).

4.3.6 Contagem Bacteriana Total

Realizou-se pelo método de contagem direta em placas. A partir das diluições previamente preparadas, foi inoculado 0,1 mL de cada diluição, em placas de petri contendo ágar padrão de contagem (PCA) que foram incubadas a temperatura de 35 °C por 48 horas. Após a incubação, todas as colônias foram contadas (BRASIL, 2003).

4.3.7 *Salmonella* spp.

Realizou-se a análise de acordo com a técnica de pesquisa de presença de *Salmonella* spp. que inclui as seguintes etapas:

- Pré-enriquecimento em caldo não seletivo: nesta etapa 25 g da amostra foi adicionada em água peptonada 1 % e incubada a 37 °C por 24 horas.
- Enriquecimento em caldo seletivo: nesta etapa utilizou-se dois meios, o Caldo Tetracionado (TT) (incubados a 37 °C por 24 horas) e Caldo Selenito Cistina (SC) (incubados a 41,5 °C por 24 horas).
- Plaqueamento seletivo diferencial: utilizaram-se dois meios de cultura, Ágar Desoxicolato-Lisina-xilose (XLD) e Ágar *Salmonella-Shigella* (SS). Estriou-se uma alçada de cada caldo TT e SC em Ágar XLD e outra alçada de cada caldo em Ágar SS, incubando por 37 °C por 24 horas.
- Após o período de incubação, verificou-se o desenvolvimento de colônias típicas da *Salmonella* (SILVA et al., 2007).

4.4 Análises Físico-Químicas

As análises foram realizadas no laboratório de Bioquímica e Físico-química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Francisco Beltrão, onde todos os procedimentos necessários para a obtenção dos resultados foram tomados.

4.4.1 Análises Físico-Químicas do leite

4.4.1.1 Acidez em °Dornic

Para a determinação de acidez mediu-se 10 mL da amostra de leite, transferiu-se para um béquer de 50 mL e adicionou-se de 2 a 4 gotas da solução fenolftaleína e titulou-se com solução Dornic (NaOH 0,11N), até coloração rósea persistente (IAL, 2008).

4.4.1.2 Determinação do pH

Para a determinação do pH adicionou-se em um béquer aproximadamente 25 mL da amostra de leite, inseriu-se o eletrodo na amostra e aguardou-se a leitura (IAL, 2008).

4.4.1.3 Análise de gordura, ESD, proteína e densidade.

Realizaram-se as análises através do analisador ultrason ekomilk total. Esta análise é feita através de uma única amostra, portanto realizou-se em triplicata.

4.4.2 Análises Físico-Químicas do queijo

4.4.2.1 Acidez em ácido láctico

Pesou-se 10 g da amostra em béquer de 150 mL e acrescentou-se 50 mL de água morna (40 °C) isenta de gás carbônico, e agitou-se até dissolução. Em um balão volumétrico de 100 mL adicionou-se a amostra dissolvida e completou-se com água destilada. Em um erlenmeyer de 125 mL transferiu-se 50 mL da amostra e adicionou-se 10 gotas de fenolftaleína e titulou-se com solução de Hidróxido de sódio 0,1 mol/L, até coloração rósea persistente (BRASIL, 2006). Com os resultados, calculou-se a % de acidez pela fórmula a seguir (1):

$$\text{Acidez} = \frac{V \times f \times 0,9}{m} \quad (1)$$

Onde:

Acidez = % (m/m) de compostos ácidos expressos em ácido láctico;

V = volume da solução de hidróxido de sódio 0,1 mol/L gasto na titulação em mL;

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio 0,1 mol/L;

0,9 = fator de conversão para ácido láctico;

m = massa da amostra na alíquota em gramas.

4.4.2.2 Perda por dessecação (umidade) – Secagem direta em estufa a 105 °C

Pesou-se 10 g da amostra em cadinho, previamente pesado e tarado, pré-aquecido por 3 horas. Resfriou-se em dessecador até a temperatura ambiente. Realizou-se a pesagem e repetiu-se a operação de aquecimento e resfriamento até que o peso se mantivesse constante (IAL, 2008). Para o cálculo da umidade, utilizou-se a seguinte fórmula (2):

$$\text{Umidade ou substâncias voláteis a } 105\text{ }^{\circ}\text{C \% (m/m)} = \frac{100 \times N}{P} \quad (2)$$

Onde:

N= nº de gramas de umidade

P= nº de gramas da amostra

4.4.2.3 Determinação do pH

Pesou-se 10 g da amostra e triturou-se, colocando em béquer e diluído em 100 mL de água. Realizou-se a leitura do pH, com o aparelho previamente calibrado, operando-o de acordo com as instruções do manual do fabricante (IAL, 2008).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Fluxograma de fabricação do queijo colonial

Com base nas observações realizadas na visita técnica ao laticínio, identificou-se o fluxograma de produção do queijo colonial utilizado como amostra nesta pesquisa, como apresentado na figura 2.

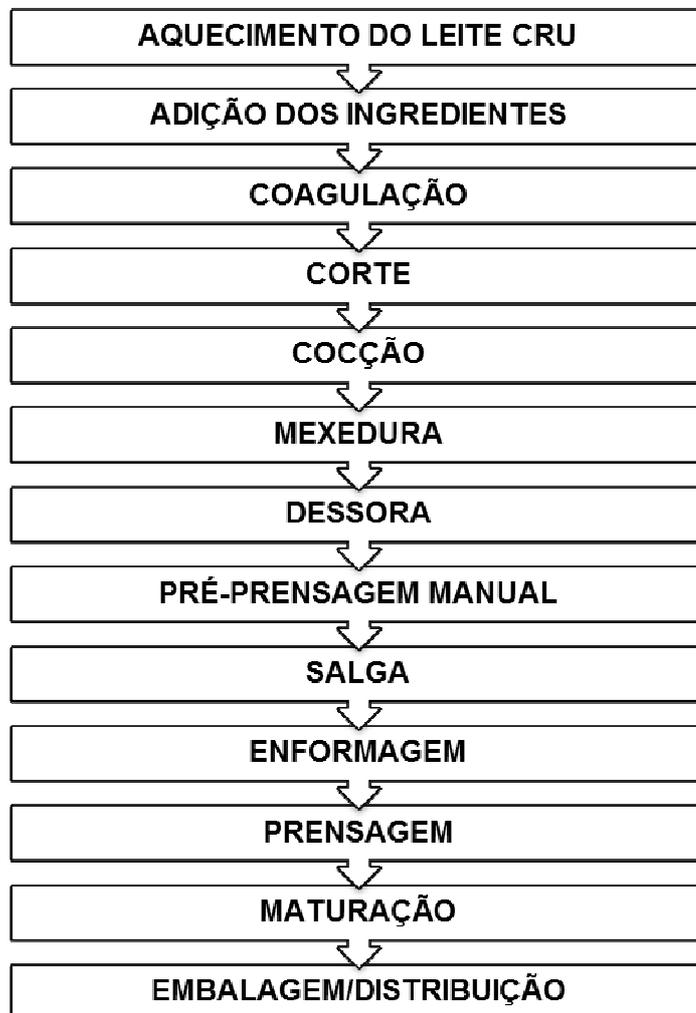


Figura 2 – Fluxograma de produção do queijo colonial comercializado no município de Francisco Beltrão - PR.

O desenvolvimento do fluxograma de produção é uma etapa de grande importância no controle de qualidade do produto acabado. Casarin et al. (2006) também descrevem o fluxograma de produção dos queijos coloniais comercializados

em feiras livres no município de Pelotas (RS), onde pode ser observado algumas diferenças, como a não adição da cultura lática e período de maturação em torno de 3 a 4 dias. Isto mostra que o modo de fabricação dos queijos coloniais em regiões distintas apresentam diferenças, tornando difícil sua a padronização de produção.

5.1.1 Aquecimento do Leite Cru

Nesta etapa o leite utilizado para a fabricação do queijo é aquecido em tanque de camisa dupla até temperatura de 35 °C. Quando atingida a temperatura desejada, retirou-se a água quente para que não ocorram oscilações de temperatura. Durante esta etapa retirou-se certa quantidade de leite, o qual foi utilizado para o preparo do fermento lático usado na fabricação do queijo.

5.1.2 Adição dos Ingredientes

Após o aquecimento do leite adiciona-se o fermento lático previamente preparado e o coalho líquido. O coalho utilizado é a quimosina / coalho líquido, onde foram adicionados 7 mL de coalho para cada 10 L de leite.

5.1.2.1 Produção do Fermento

Utilizou-se 340g de iogurte natural comercial em 8 litros de leite cru. A mistura é mantida em temperatura ambiente por 48 horas, para que ocorra uma fermentação prévia. Após, esse fermento preparado é adicionado ao tanque.

Utiliza-se o fermento lático devido as suas características e benefícios para melhorar a qualidade do queijo. De acordo com Marquardt et al. (2013), a fermentação bacteriana oriunda da adição do fermento lático na fabricação de queijos é importante basicamente para produção do ácido lático, a partir da quebra

da lactose. O ácido láctico atua diretamente na desmineralização da massa, formando lactato de cálcio, e assim permitindo o controle sobre a textura, elasticidade e alguns aspectos reológicos do queijo. Também atua sobre o sabor, aroma e desenvolvimento de outros microrganismos relevantes no decorrer do processo de maturação ou cura do queijo.

Outra função do ácido láctico é que ele atua como um conservante natural, que inibe a ação de outras espécies bacterianas, como por exemplo, as do grupo coliforme. A seleção do fermento láctico adequado ao tipo de queijo a ser produzido é que irá proporcionar o resultado final, o queijo em sua integridade de característica como sabor, aroma, textura, durabilidade (RODRIGUES, 2013).

Porém, durante o preparo do fermento, foi utilizado leite *in natura* como substrato, o que não é indicado, já que a microbiota natural do leite poderá competir com os microrganismos adicionados, dificultando a multiplicação do fermento láctico. Assim, o mais recomendado seria a utilização de leite pasteurizado para a produção do fermento.

Os microrganismos benéficos presentes no iogurte são *Lactobacillus delbrecki subsp bulgaricus* e *Streptococcus salivarius subsp thermophilus* estas culturas produzem ácido láctico sendo que os Lactobacilos produzem acetoaldeído e outros compostos aromáticos, assim como um sistema proteolítico efetivo atuando ativamente na maturação de queijos, porém cabe ressaltar que sua ação é acentuada quando adicionada sob a forma de concentrados liofilizados. A ação desta cultura neste queijo é comprometida devido à temperatura em que o queijo se mantém após a fabricação, de maneira geral são temperaturas baixas e esta cultura é classificada como termofílica atuando sob temperaturas em torno de 40-55 °C (BRASIL, 2013c).

5.1.3 Coagulação

Após a adição dos ingredientes realiza-se a homogeneização do leite que permanece em repouso por aproximadamente 45 minutos possibilitando a ação do coalho e do fermento.

A coagulação do leite é a etapa fundamental para a elaboração de queijos. O agente coagulante normalmente utilizado é a quimosina (VASCONCELOS et al., 2004), e com o surgimento de técnicas biotecnológicas, foi-se possível desenvolver um coalho com 100% de quimosina obtido através da fermentação de microrganismos como o *Aspergillus niger* variedade *awamori* (FOLEGATTI, 1994).

A coagulação ácida é obtida por via biológica através da produção de ácido láctico pelas bactérias do fermento ou pela adição direta de ácidos orgânicos ao leite. Já a coagulação enzimática do leite é o processo mais utilizado, e é realizado por meio da adição de enzimas específicas, conhecidas como coalho ou coagulante sendo esta a coagulação que ocorre no queijo em estudo (ANTUNES, 2011). Segundo Monteiro et al.(2007), a ação do coalho consiste em romper a ligação peptídica específica entre os aminoácidos 105 e106 da k-caseína, provocando a coagulação enzimática do leite.

Os queijos produzidos pelo processo de coagulação ácida e por coagulação das proteínas à quente, normalmente são consumidos frescos, porém, a grande maioria dos queijos coagulados enzimaticamente, com uso de coalhos ou coagulantes, são maturados ou curados por um período de tempo que varia de três semanas a até mais de dois anos (PAULA et al., 2009).

5.1.4 Corte

Após a coagulação realiza-se, com o auxílio de liras horizontais e verticais, o corte da massa em cubos de aproximadamente 1 cm³, como apresentado na figura 3.



A

B

Figura 3 – A: corte da massa do queijo; B: cubos de massa após o corte.

O objetivo dessa etapa é aumentar a área superficial das partículas de massa, o que por sua vez permite a melhor expulsão do soro. Quanto menor o tamanho das partículas, maior é a sinérese e, conseqüentemente, menor a umidade retida no queijo (SENAR, 2010).

5.1.5 Cocção (aquecimento)

Após o corte, a massa é aquecida de forma indireta, ou seja, através do aquecimento no tanque de camisa dupla até atingir a temperatura de 40 °C podendo ser classificado como queijos de massa semi-cozida, realizando simultaneamente a mexedura, para facilitar a expulsão do soro.

5.1.6 Mexedura

Esta etapa ocorre juntamente com a etapa de cocção, também com o objetivo de auxiliar a retirada do soro da massa, com o auxílio de pás como apresentadas na figura 4 a massa é mexida facilitando assim a saída do soro como também a homogeneidade da temperatura.

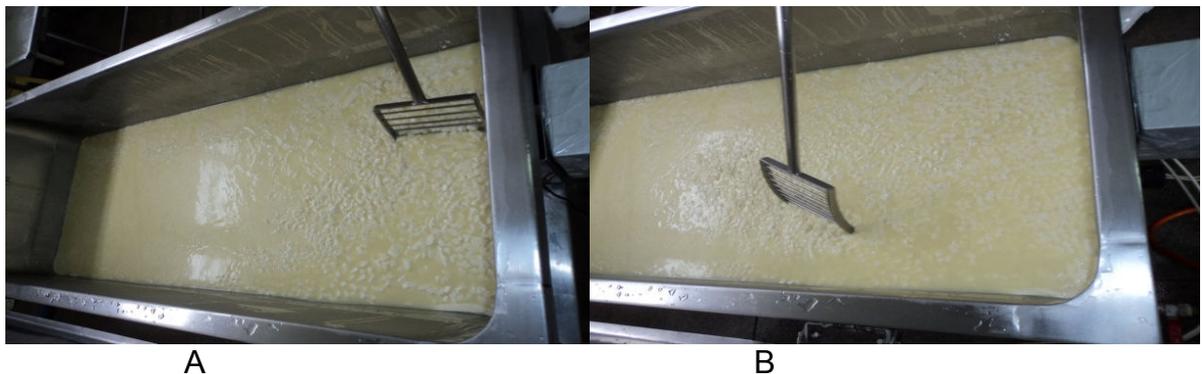


Figura 4 – A/B: Mexedura e cocção, realizada para facilitar a expulsão do soro do queijo em estudo.

Para evitar que os grãos de massa precipitem de forma compacta, dificultando a dessoragem, efetua-se a agitação manual (mexedura) dos grãos. No início, devido à fragilidade dos grãos, a agitação é mais lenta e vai se intensificando, à

medida que os grãos tornam-se mais firmes. Isso permite que as superfícies das partículas formem novas ligações intramoleculares e firmem o coágulo enquanto expõem o soro (CAVALCANTE, 2004).

5.1.7 Dessora

Nesta etapa ocorre a retirada do soro da massa. Ao atingir o ponto da massa, esta é separada do soro, através de drenagem, a fim de ser moldada. Segundo Andrade et al. (2009) o soro deve ser retirado rápida e eficientemente, para evitar a perda do controle da acidez da massa, que tende a aumentar rapidamente enquanto se encontra submersa no soro, como apresentado na figura 5.



Figura 5 – A: retirada do soro da massa; B: prensagem manual do queijo colonial em estudo.

5.1.8 Pré Prensagem Manual

Após a dessora, a massa é prensada manualmente nas extremidades do tanque para que ocorra uma maior expulsão do soro.

5.1.9 Salga

A salga é realizada diretamente na massa, com sal a seco. Para melhor distribuição do sal, realiza-se um amassamento de forma manual. A quantidade de sal utilizado foi determinada pelos produtores, que padronizaram e confeccionaram uma tabela com a quantidade de sal de acordo com quantidade de leite utilizado na produção.

Segundo Oliveira (1986), no processo de salga da massa, o sal pode ser adicionado diretamente na massa após a separação do soro, antes da enformagem. Esse processo permite uma melhor dosagem e melhor distribuição do sal, além de ser mais rápido. A quantidade de sal a ser adicionada à massa dependerá do teor desejado no queijo. O processo de salga está apresentado na figura 6.



Figura 6 – A/B: Processo de salga direto na massa do queijo em estudo.

5.1.10 Enformagem

A enformagem foi realizada em formas específicas, para queijos de 500 g (forma redonda) e de 1 kg (retangular), revestidas com tecido para que a massa não grude nas extremidades, facilitando a posterior retirada do queijo da forma e sua viragem.

Essa operação visa unir os grãos de massa e dar origem a um só bloco de estrutura homogênea, completar a expulsão de soro, conferir o formato desejado ao queijo e formar a sua casca característica (CAVALCANTE, 2004). O processo de enformagem está ilustrado na figura 7.



Figura 7 – A/B Enformagem do queijo colonial.

5.1.11 Prensagem

As formas são colocadas em prensas verticais com os pesos, como apresentado na figura 8. A cada 2 horas realiza-se o rodízio dos queijos para que a prensagem ocorra de modo uniforme. Após aproximadamente 6 horas, o queijo é desenformado.

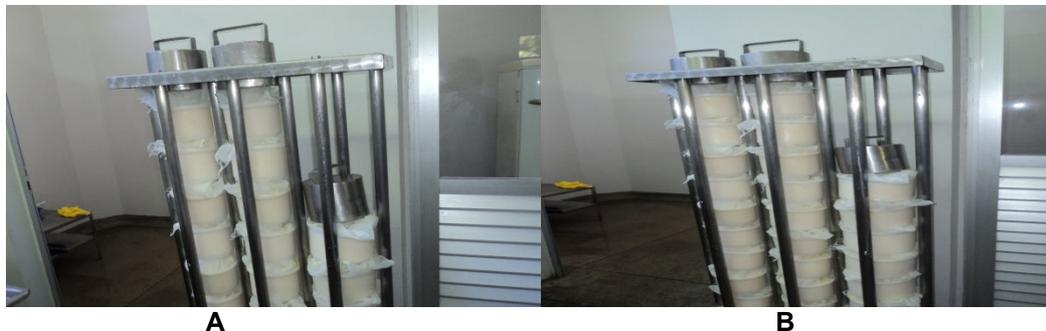


Figura 8 – Etapa de prensagem em prensas verticais.

5.1.12 Tratamento pós-prensagem

Após a retirada do queijo das formas as bordas irregulares são retiradas e então se realiza o tratamento com antifúngico na superfície.

O antifúngico é preparado utilizando 1L de água, 2 a 3 gotas de natamicina (para que se obtenha uma solução 0,2 a 0,3 g/L) e 1% de sal (NaCl)

A natamicina é um antibiótico macrolídeo poliênico, antifúngico, produzido pela ação de enzimas *Polyketide Synthase* (PKSs) do *Streptomyces natalensis* ATCC 27448, num processo similar com a biossíntese de ácidos graxos, e que é amplamente usado na indústria de alimentos para prevenir a contaminação de fungos. O uso do antibiótico natamicina é indicado na proteção externa de alguns alimentos, contra proliferação de fungos (MATOS, 2009).

Vale ressaltar que segundo a portaria 146 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, a natamicina é um conservador, e seu uso deve ser feito somente na superfície de queijos cortados ou fatiados. Desta forma indica-se o uso de outros conservantes como, por exemplo, o ácido sórbico e seus sais de sódio que é indicado para queijos de muito alta umidade, alta umidade, média umidade e baixa umidade (BRASIL, 1996).

5.1.13 Maturação

Os queijos permanecem por aproximadamente 15 dias na câmara de maturação antes de ser comercializado, Período este que não atende à legislação brasileira, que estabelece maturação mínima de 60 dias para queijos produzidos a partir de leite cru.

Todos os queijos produzidos são maturados em uma mesma câmara, não sendo possível o controle adequado da temperatura e umidade, de acordo com o tempo de maturação de cada lote de queijo produzido.

Durante esta etapa, é realizada a viragem manual dos queijos periodicamente a cada dois dias. A viragem é considerada um dos tratamentos dos queijos realizados na maturação, com o propósito de evitar a deformação do queijo, evitar que o queijo fixe na prateleira, evitar perda irregular de umidade (se não virar, o queijo vai ressecar por cima e pode apodrecer por baixo, grudando na prateleira) (BRASIL, 2013c). Os queijos são armazenados em câmaras de maturação como demonstra a figura 9.



Figura 9 – A: câmara de maturação do queijo; B: processo de viragem do queijo colonial.

Durante o período de maturação, o queijo está favorável a essa contaminação, que pode ocorrer durante o processo de viragem dos queijos ou devido à mistura de diferentes lotes de queijos, pois um queijo no início da maturação apresenta uma contaminação mais elevada quando comparado a queijos maturados por mais tempo. Assim os queijos “novos” adicionados à câmara podem contaminar os que já estão maturando.

A contaminação cruzada acontece quando microrganismos de uma área são transportados para outra área, geralmente pelo manipulador de alimentos, provocando a contaminação de uma área, alimento ou superfície, que antes estava limpa.

As condições e a duração da maturação dependem do tipo de queijo. Durante esta fase os queijos tradicionalmente são mantidos a uma temperatura refrigerada (podendo variar entre 5 e 12 °C) e umidade controlada (variando entre 80 e 90 % de umidade relativa), sendo virados periodicamente. É durante este período que o queijo vai perdendo água (reduzindo a atividade da água) e as bactérias vão atuando sobre a lactose, as proteínas e as gorduras, originando a textura e aromas característicos de cada tipo de queijo. A temperatura e a umidade devem ser rigorosamente controladas, devendo evitar-se o aumento acima dos níveis toleráveis, para não colocar em risco a qualidade e a segurança do queijo (BRASIL, 2013c). Vale ressaltar que o queijo colonial não possui padrão de identidade e qualidade, e assim, não existe uma padronização de temperatura e umidade ideal durante a maturação. Porém, de acordo com Fox et al. (2004), a temperatura normalmente utilizada para queijos durante a maturação está na faixa de 10-15 °C, pois temperaturas mais elevadas podem proporcionar ao queijo sabores impuros e

aparecimento de defeitos. Quanto à umidade relativa recomenda-se para queijos semi-duros entre 80-85 %.

O ajuste da umidade deve ser feito em função do tipo e tecnologia empregada e devem ser rigorosamente controlada a fim de evitar defeitos relacionados à umidade, como exemplo, desenvolvimento de fungos e leveduras, ressecamento e surgimento de trincas ou rachaduras. O monitoramento deve ser feito através do uso de higrômetro ou termo-higrômetro. O controle da umidade poderá ser feito a partir da umidificação da câmara com água (câmara muito seca) ou através de um desumidificador para câmaras excessivamente úmidas que é utilizado pelo laticínio em estudo (o desumidificador permite a regulação da umidade). Quanto à temperatura de maturação, quando a mesma é elevada, podem ocorrer problemas tais como: acelerar o processo de maturação; prejudicar a qualidade do produto por favorecer o crescimento de outros microrganismos indesejáveis (fungos e leveduras principalmente) e favorecer a perda de umidade. A escolha da temperatura de maturação depende do tipo de queijo, da disponibilidade de manter o queijo na câmara e da distribuição no mercado consumidor (BRASIL, 2013c).

Durante o período de análise realizou um monitoramento de temperatura e umidade através do termo-higrômetro na câmara utilizada para a maturação do queijo colonial, onde se obteve os resultados apresentados na tabela 2, vale ressaltar que no laticínio em estudo não se faz este controle, apenas foi realizado para esta pesquisa.

A temperatura de bulbo úmido indica o calor necessário para evaporar a água. O seu resfriamento é diretamente proporcional à secagem do ar. Quanto mais seco o ar, maior o resfriamento. Portanto, quanto maior a diferença entre as temperaturas de bulbo úmido e de bulbo seco, menor a umidade relativa e maior será a desidratação (ROMEIRO, 2008).

A perda de vapor d'água de um alimento para o ambiente depende tanto do alimento (teor de umidade e composição), como das condições do ar (extrínsecas ao alimento, temperatura e umidade). Sob uma temperatura constante, o teor de umidade do alimento altera-se até entrar em equilíbrio com o vapor de água do ar circulante (FELLOWS, 2006). Desta forma estes parâmetros são considerados importantes na conservação de alimentos, tanto no aspecto biológico como nas transformações físicas (GARCIA, 2004).

Tabela 2 - Resultados obtidos através do monitoramento por termo-higrômetro da câmara de maturação.

Semanas	Dia de maturação	TBs	TBu	UR %
1 Semana	2	9,2	12	71
	4	7,7	14	78
	6	6,3	13	83
	7	8,7	9	75
2 Semana	9	8,8	13	78
	11	6,5	13	86
	13	8,1	16	79
	14	6,1	18	89
3 Semana	18	5,5	12	69
	20	6,1	15	74
	21	7,3	14	75
4 Semana	23	8,2	16	72
	25	5,6	15	74
	27	6,5	13	70
	28	6,4	14	74
5 Semana	30	6	13	65
	32	6,4	10	60
	34	6,4	14	74
	35	6,7	15	77
6 Semana	37	6,4	14	74
	39	8,3	6	53
	41	7,3	7	56
	42	6,9	10	58
7 Semana	44	7,6	12	61
	46	5,5	12	63
	48	5,8	15	62

TBs: Temperatura (°C) do Bulbo seco; **TBu:** Temperatura (°C) do Bulbo úmido; **UR %:** Porcentagem (v/v) da Umidade Relativa.

5.1.14 Embalagem e Distribuição

Após o período de maturação, o queijo é embalado com filme de polietileno de baixa densidade e distribuído no comércio e inserido na merenda escolar de Francisco Beltrão.

5.2 Análises do leite utilizado como matéria prima

5.2.1 Análises físico-químicas do leite

As análises físico-químicas do leite visam avaliar o valor alimentar e rendimento industrial, ou ainda, detectar possíveis fraudes. Por esse motivo, a adoção conjunta de treinamentos, conscientização e capacitação dos produtores, desde o manejo de ordenha até a influência da qualidade da água na produção, torna-se essencial para alcançar a melhoria da qualidade do leite no país, visando, inclusive, ao seu destaque no mercado internacional (PAULA et al., 2010).

Na tabela 3 encontram-se os resultados das análises físico-químicas realizadas na amostra de leite utilizado como matéria-prima do laticínio para produção do queijo colonial analisado.

Tabela 3: Resultados obtidos das análises físico-químicas do leite.

Análise	A1	A2	A3	Média ± DP
Gordura (%)	4,72	4,75	4,75	4,74 ± 0,02
ESD (%)	9,08	9,32	9,38	9,26 ± 0,16
Densidade (g/mL a 15°C)	1,0316	1,0325	1,0328	1,0323 ± 0,0006
Proteína (%)	3,15	3,24	3,26	3,22 ± 0,06
pH	6,53	6,51	6,44	6,5 ± 0,05
Acidez titulável (°D)	18	17,5	18	17,85 ± 0,29

DP = Desvio padrão; ESD = Extrato Seco Desengordurado; °D = graus Dornic.

O teor de gordura estabelecido pela legislação para leite cru é de no mínimo 3,0 % (BRASIL, 2011). O valor encontrado está dentro dos padrões estabelecidos pela legislação, apresentando uma média de 4,74 % de gordura. Assim como Freire (2006) que das 55 amostras de leite cru coletadas no estado do Rio de Janeiro, todas estavam em conformidade com a legislação.

O teor de gordura influencia em vários aspectos da fabricação de queijos, especialmente na coagulação, força do gel, sinérese da coalhada, rendimento e composição nutricional (FOX; COGAM, 2004, apud SANTOS et al. 2011). Porém,

vale ressaltar que a redução do teor de gordura compromete diretamente o rendimento industrial, principalmente em relação à fabricação de queijos (SILVA, 2002). A composição do leite é fundamental quando se fala em rendimento, pois o teor de gordura é fator determinante para a produção, os glóbulos de gordura, em sua grande maioria são aprisionados pela coalhada, no momento em que o leite coagula, formando uma rede proteica composta basicamente de cálcio e caseína (MACALÉ, 2013).

Para extrato seco desengordurado (ESD), o valor encontrado foi em média 9,26 %, atendendo aos padrões estabelecidos pela legislação para leite cru refrigerado, que é de no mínimo 8,4 %.

Quanto à acidez encontrada (17,85°D ou 0,1785 g de ácido láctico/100 mL), atende-se aos padrões estabelecidos pela legislação para leite cru refrigerado, que é de 0,14 a 0,18 gramas de ácido láctico/100 mL de leite (BRASIL, 2011a).

O pH do leite analisado apresentou média de 6,5. Segundo Venturini et al. (2007), o pH do leite recém ordenhado de uma vaca sã pode variar entre 6,4 a 6,8, e também pode ser um indicador da qualidade sanitária e da estabilidade térmica do leite. Nos casos graves de mastite, o pH pode chegar a 7,5 e na presença de colostro, pode cair a 6,0.

De acordo com Freire (2006), os valores de pH e acidez do leite não são proporcionais, embora haja uma relação inversa, ou seja, à medida que a acidez se eleva, ocorre abaixamento do pH.

Em estudos realizados por Amaral et al. (2012), das 10 amostras de leite analisadas logo após a ordenha, as amostras acima de 6,8 (alcalinas) totalizaram 12,5 %, 37,5 % das amostras apresentaram pH abaixo de 6,6 (ácidas), as demais apresentam acidez normal. Diferente de Alves (2006) que analisou 41 amostras de leite cru refrigerado, obtendo um valor médio do pH de $6,75 \pm 0,08$, dentro da normalidade.

O resultado obtido quanto ao teor de proteína foi em média de 3,22 %, que atende ao padrão estabelecido pela legislação brasileira, que exige o mínimo 2,9 % g/100g de proteína em leite cru refrigerado (BRASIL, 2011a). Lima et al. (2006) observaram que todas as 301 amostras de leite avaliadas da região agreste do estado de Pernambuco apresentaram médias elevadas, entre 3,06 e 3,12 % de proteína. As proteínas podem representar de 3 % a 4 % dos sólidos totais do leite, e esta porcentagem pode variar de acordo com a raça do animal e sua alimentação. A

quantidade de proteína é proporcional à quantidade de gordura, isto é, quanto maior o teor de gordura de um leite, maior percentual de proteína o leite apresentará (BRITO et al., 2005).

A composição do leite é fundamental, tanto no teor de gordura quanto no valor proteico quando se refere ao rendimento na fabricação de queijos. A coalhada é formada basicamente de caseína e cálcio, o que implica em dizer que se o teor de caseína (proteína) do leite for baixo, mesmo que o teor de gordura seja alto, o rendimento será menor que o esperado (MACALÉ, 2013).

A caseína está presente no leite em suspensão, numa estrutura conhecida como micela. Durante o processo de coagulação na fabricação do queijo, as micelas de caseína se precipitam dando origem ao coágulo (queijo). Ou seja, quanto maior for o teor de caseína, maior será a quantidade de queijo produzido para cada litro de leite. A caseína representa, em média, 78 % da proteína total do leite (CASSOLI, 2013).

A densidade relativa do leite analisado apresentou média de 1,032 g/mL, que, de acordo com o estabelecido pela legislação (1,028 a 1,034 g/mL a 15 °C), está dentro dos padrões, não indicando fraude por adição de água.

De acordo com Venturini et al. (2007), a densidade do leite é uma relação entre seu peso e volume, e é normalmente medida a 15 °C ou corrigida para essa temperatura. A densidade do leite é, em média, 1,032 g/mL, podendo variar entre 1,023 e 1,040 g/mL. Através deste parâmetro, é possível avaliar a relação entre os sólidos e o solvente no leite, utilizado juntamente com o teste de gordura para determinar o teor de sólidos do leite. A densidade abaixo do nível serve para identificar fraude no leite (água), problemas nutricionais ou ainda problemas na saúde do animal.

Beloti et al. (2011) submeteram 103 amostras de leite cru refrigerado produzido no município de Sapoema/PR à análise de densidade, e 10 (9,7%) apresentaram densidade abaixo de 1,028 g/L, não atendendo aos padrões estabelecidos pela IN 62/2011. Fachinelli (2010) analisou amostras de leite cru recebidas em um laticínio durante cinco dias e observou que a densidade encontrava-se dentro da faixa permitida para leite cru, segundo a legislação.

De maneira geral as análises físicas químicas do leite cru, apresentaram-se dentro dos padrões exigidos pela instrução normativa nº 62 de 29 de dezembro de 2011.

5.2.2 Análises microbiológicas do leite

A quantidade de microrganismos presentes no leite cru varia de acordo com a contaminação inicial, tempo e temperatura de armazenamento. O leite poderá apresentar uma variedade de microrganismos patogênicos em decorrência de processos inflamatórios do úbere ou de enfermidades no rebanho. A quantidade de microrganismos no leite cru constitui importante indicador de sua qualidade e pressupõe a saúde da vaca, a higiene de ordenha. Os microrganismos contaminantes do leite, após a ordenha, provenientes de equipamentos e utensílios, do meio ambiente e do pessoal responsável pela obtenção e manipulação do leite, são relevantes, podendo causar alterações indesejáveis, comprometendo sua qualidade e de seus derivados (CAVALCANTI, 2013).

5.2.2.1 *Staphylococcus* coagulase positiva

Os resultados para *Staphylococcus* coagulase positiva foram $1,0 \times 10^1$ UFC/mL. Embora o MAPA e o Ministério da Saúde não estabeleçam um padrão microbiológico para *Staphylococcus* coagulase positiva em leite cru, os valores identificados apontam baixa contaminação, ao contrário do observado por outros autores.

Alves et al. (2009) relataram a presença de *Staphylococcus aureus* em contagens elevadas, com maior frequência na faixa de 10^6 a 10^7 UFC/mL em 42 amostras de leite cru comercializados informalmente na cidade de São Luís - MA. Lamaita et al. (2005) observaram contagens entre $1,0 \times 10^5$ a $2,5 \times 10^7$ UFC/mL de *Staphylococcus* sp. em amostras de leite cru estocado em tanques refrigerados de 80 propriedades rurais, em Minas Gerais. Borges et al. (2008) observaram, em 25 amostras de leite cru em uma linha de produção de queijo coalho, altas contagens para *Staphylococcus* coagulase positiva, entre $8,0 \times 10^3$ e $5,0 \times 10^6$ UFC/mL. Estas contagens podem indicar risco de produção da toxina estafilocócica e perigo à saúde pública.

5.2.2.2 Contagem Bacteriana Total

As contagens encontradas para o leite em estudo foram de $1,4 \times 10^2$ UFC/mL, e comparados com a IN62/2011, que prevê contagens máximas de $6,0 \times 10^5$ UFC/mL, observa-se que resultado encontrado atende a legislação (BRASIL, 2011a). Diferente dos resultados obtidos por Beloti et al. (2011), que das 163 amostras de leite cru analisadas no município de Sapopema - PR, 61 (37,42 %) apresentaram contagens superiores ao limite estabelecido pela legislação.

A Contagem Bacteriana Total (CBT) reflete a higiene do animal, do ambiente, dos equipamentos, dos procedimentos de ordenha e do resfriamento. É de extrema importância já que, as bactérias do leite podem causar alterações, tais como a degradação de gorduras, proteínas ou carboidratos, podendo tornar o produto impróprio para o consumo e processamento industrial (COUSIN, 1982 apud BELOTI et al., 2011).

5.2.2.3 Coliformes a 35°C e a 45°C

O resultado encontrado para coliformes a 45 °C no leite cru em estudo foi de ausência deste grupo de microrganismos, e no que se refere à determinação de coliformes a 35 °C, o valor encontrado foi de $1,4 \times 10^2$ UFC/mL. Levando em consideração que o leite cru não dispõe de um padrão de identidade e qualidade quanto a coliformes a 35 °C e 45 °C, os resultados obtidos foram comparados com os padrões estabelecidos para leite pasteurizado, já que o leite utilizado para a produção do queijo deveria ser pasteurizado. Assim, o resultado encontrado para coliforme a 35 °C esteve acima do estabelecido pela legislação em vigor (BRASIL, 2011a).

Alves et al. (2009) relataram uma contaminação em 85,7 % das amostras por coliformes termotolerantes e 90,5 % por coliformes totais em 42 amostras de leite cru comercializados informalmente na cidade de São Luís - MA. Catão et al. (2001) encontraram contaminação para coliformes totais em 46,6 % e coliformes

termotolerantes em 60 % das 45 amostras de leite cru de laticínios, no estado da Paraíba.

5.2.2.4 Salmonella

Na amostra de leite cru analisado, verificou-se ausência para este microrganismo em 25 mL de amostra, estando de acordo com os padrões fixados pela IN62/2011 (BRASIL, 2011a).

Em estudo realizado por Mattos et al. (2010) , foram analisadas 53 amostras de leite cru propriedades rurais, da região do Agreste de Pernambuco e observou-se ausência de *salmonella* em todas as amostras.

5.3 Análises físico-químicas do queijo colonial

5.3.1 Determinação do pH

O comportamento do pH do queijo colonial analisado durante a maturação mostrou uma queda nas duas primeiras semanas (Figura 10), e de acordo com Pereira et al. (2013), a redução do pH nos primeiros dias de maturação ocorre devido a produção de ácido láctico pelas bactéria lácticas a partir da lactose, seguida de uma variação nas semanas seguintes. Segundo Machado et al. (2011), a alcalinização é esperada durante a maturação de queijos devido à degradação do ácido láctico e à formação de compostos nitrogenados alcalinos.

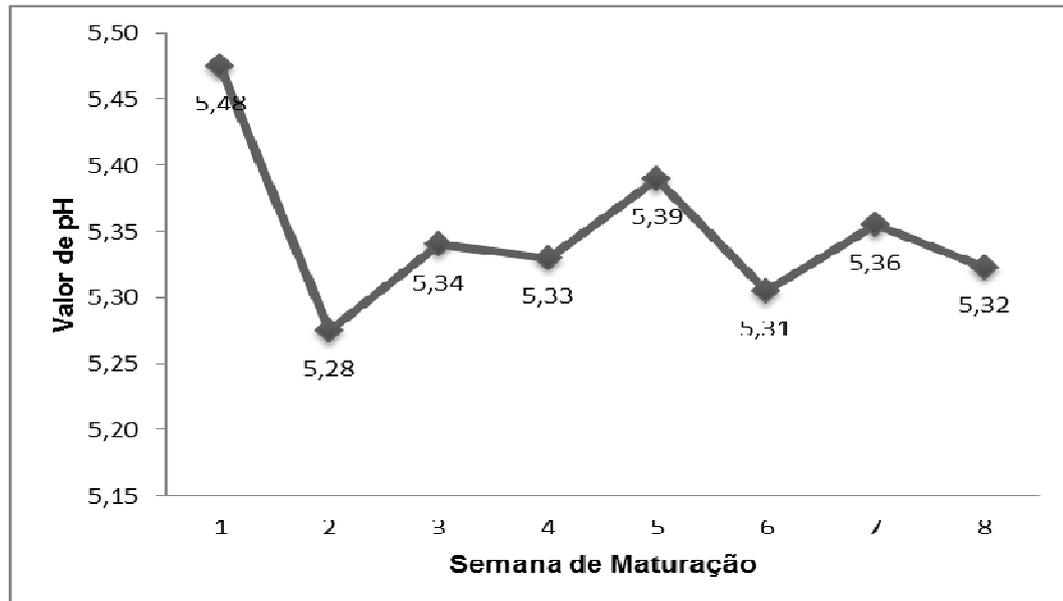


Figura 10 – Valores de pH das amostras de queijo colonial avaliadas durante as 8 semanas de maturação.

Os valores de pH encontrados para o queijo analisado neste trabalho são condizentes com os encontrados por outros autores. Silva (2008) e Martins et al. (2004) observaram em queijos artesanais valores de pH variando entre 4,40 a 6,40. Landim et al. (2001) obtiveram valores de pH 5,36 e 6,54 na caracterização físico-química e bioquímica de queijos Minas Frescal comercializados na região sudoeste da Bahia, demonstrando que a composição do queijo, bem como o grau de fermentação, difere de acordo com o procedimento de fabricação do queijo.

O estudo permitiu observar que durante o período de maturação, os queijos avaliados não sofreram grandes alterações de pH, demonstrando que, provavelmente, o queijo não tenha sofrido uma fermentação excessiva pela ação de microrganismos contaminantes, nem pela ação das bactérias ácido lácticas adicionadas na formulação.

5.3.2 Determinação da acidez titulável

A acidez titulável determina a quantidade de ácido láctico presente nos produtos lácteos. Durante o processamento, a acidez titulável é adotada para avaliar a evolução do desenvolvimento de ácido láctico pelas bactérias ácidas lácticas adicionadas. Após a enformagem e salga, inicia-se o metabolismo de hidrólise dos

componentes do queijo, alterando o teor de acidez à medida que este é submetido à estocagem e maturação (FOX, 2000 apud RICARDO et al., 2011).

Dependendo das condições de exposição, os queijos podem sofrer alterações tornando-se mais ácidos. As amostras de queijos apresentaram, em geral, redução no teor de acidez durante o período de maturação (Figura 11). O aumento da acidez está relacionado à glicólise, na qual a lactose é convertida em ácido láctico pelas bactérias da cultura láctica, sendo responsável pela produção de sabor e aroma do queijo (NABUCO et al., 2004). Além disso, o teor de acidez pode variar de acordo com as diferenças da concentração de lactose no queijo, a qual depende da extensão da drenagem do soro (MORENO et al., 2002).

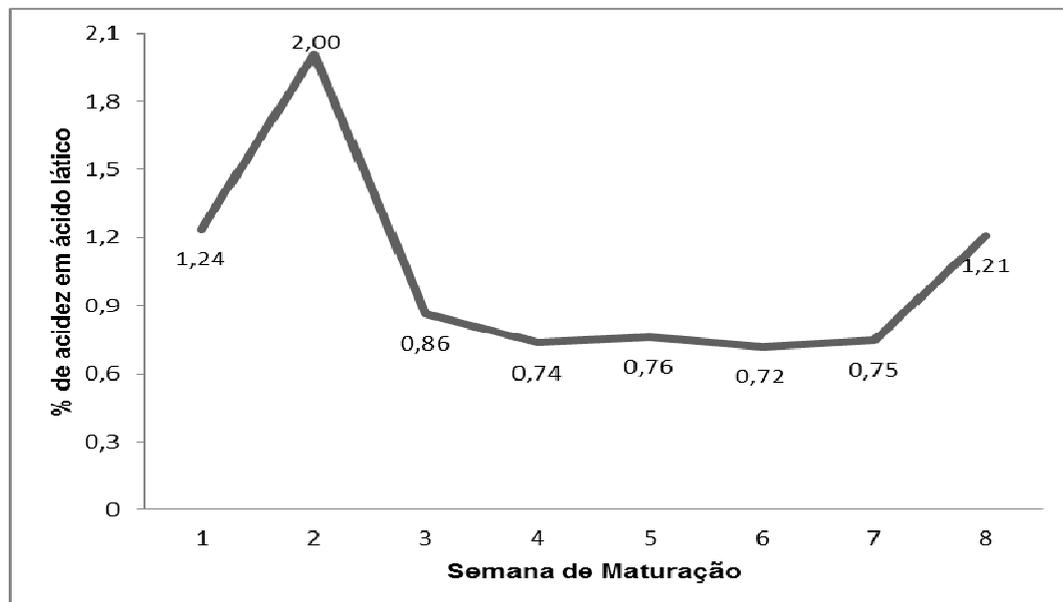


Figura 11 – Porcentagem de ácido láctico do queijo avaliado, durante o período de maturação de 8 semanas.

Resultados semelhantes foram obtidos por Silva (2008) que encontrou acidez entre 0,14 e 1,84 % para queijos Minas Frescal industrializados do município de Guarapuava e Região. Barros et al. (2008) avaliaram 18 amostras de queijo parmesão comerciais fornecidos por uma mesma indústria durante o período de maturação de 180 dias, e verificaram que a evolução da acidez titulável demonstrou lento desenvolvimento até 90 dias e aumento mais acentuado aos 120 e 180 dias de maturação, com valores médios oscilando entre $0,56\% \pm 0,02$ (30 dias) e $1,77\% \pm 0,01$ (180 dias).

5.3.3 Determinação da umidade

A determinação de umidade é uma das medidas mais importantes e utilizadas na análise de alimentos. A umidade de um alimento está relacionada com sua estabilidade, qualidade e composição, e pode afetar algumas características do produto como:

- a estocagem, onde os alimentos com alta umidade estocados poderão se deteriorar mais rapidamente do que os que possuem baixa umidade;
- a embalagem, pois alguns tipos de deterioração podem ocorrer em determinadas embalagens se o alimento apresentar uma umidade excessiva; e
- o processamento, devido à grande importância da quantidade de água nos processamentos de vários produtos alimentícios.

A umidade é o principal fator para os processos microbiológicos, como o desenvolvimento de fungos, leveduras e bactérias, e também para o desenvolvimento de insetos. No caso dos produtos perecíveis, o frio é normalmente utilizado como inibidor do processo microbiológico. O conhecimento do teor de umidade das matérias-primas é de fundamental importância na conservação e armazenamento, na manutenção da sua qualidade e no processo de comercialização (PARK E ANTONIO, 2006).

A figura 12 apresenta os resultados obtidos durante o período de pesquisa, quanto à umidade das amostras de queijo colonial analisadas durante a maturação.

O queijo colonial não dispõe de Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade e por ser caracterizado como queijo artesanal, suas características variam de região para região.

As amostras de queijo colonial apresentaram umidade média de 42 %, e de acordo com a Portaria MAPA nº146/1996 (BRASIL, 1996), os queijos podem ser classificados quanto ao seu teor de umidade, sendo o queijo em estudo classificado como queijo de média umidade entre 36,0 e 45,9 %.

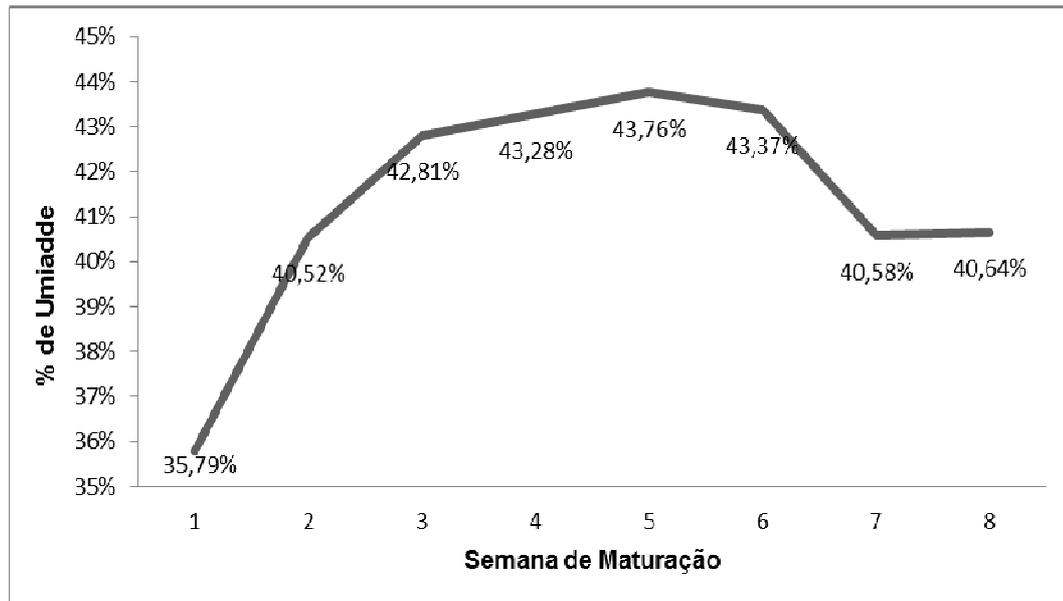


Figura 12 – Variação da umidade do queijo colonial durante o período de maturação de 8 semanas.

Lucas et al. (2012) analisaram 4 marcas de queijo colonial comercializados na cidade de Medianeira - PR e verificaram uma variação entre as amostras. Uma das amostras apresentou umidade entre 36,00 e 45,90 % (m/m), sendo caracterizado como um queijo de umidade média, enquanto as demais amostras apresentaram conteúdo de umidade entre 46,00 e 54,90 % (m/m), caracterizando-se como queijos de alta umidade. Esta variação tem como prováveis justificativas a variação de temperatura e umidade relativa do ar da região, e da demanda do mercado pelo produto. Outro fator relevante é a diferença de tecnologia entre produtores, com modificações na prensagem, tamanho dos grãos, tamanho dos queijos, teor de sal, o que reflete diretamente no teor de umidade (IDE e BENEDET, 2001). Junior et al. (2012) analisaram 6 marcas de queijo colonial, na região sudoeste do Paraná, durante o período de um ano, classificando os queijos analisados como de alta umidade.

As variações de umidade do queijo colonial analisado podem ser explicadas devido ao controle inadequado de umidade e temperatura na câmara de maturação. Conforme pode ser observado na tabela 2, nas semanas a temperatura e umidade relativa da câmara estavam mais elevadas, ocorreu conseqüentemente o aumento de umidade no queijo. Quando o alimento está sob temperatura constante, o teor de umidade do alimento tende a se manter em equilíbrio com o vapor d'água do ar circulante, caso contrário o alimento ganha ou perde mais umidade, dependendo das condições de temperatura e umidade em que é submetido (FELLOWS, 2006).

Esperava-se que a umidade do queijo fosse diminuindo com a maturação, porém devido às condições de umidade e temperatura insatisfatórias e sem o controle adequado na câmara de maturação, houve uma absorção de umidade indesejada.

5.4 Análises microbiológicas do queijo colonial

5.4.1 Coliformes a 35 °C

As bactérias do grupo coliforme são consideradas como os principais agentes causadores de contaminação associados à deterioração de queijos, causando fermentações anormais e estufamento precoce dos produtos. Incluem todos os bacilos Gram negativos, aeróbios e anaeróbios facultativos, que não formam esporos e são capazes de fermentar a lactose com produção de gás em 24-48 horas a 35° C (coliformes totais) (PINTO et al., 2011).

Na figura 13 pode-se observar que em todas as semanas a contagem de coliformes a 35 °C atendeu ao fixado pela Portaria MAPA nº146/1996 (BRASIL, 1996), que estabelece para coliformes a 35 °C o limite máximo de $5,0 \times 10^3$ UFC/g ou Log de 3,69.

Percebe-se que na 5ª semana houve aumento nas contagens, pode-se sugerir que houve contaminação cruzada dentro da câmara de maturação, pela falta de higiene durante a viragem dos queijos, presença lotes novos de contaminados, como também o aumento da umidade proporcionando um ambiente favorável ao desenvolvimento deste microrganismo.

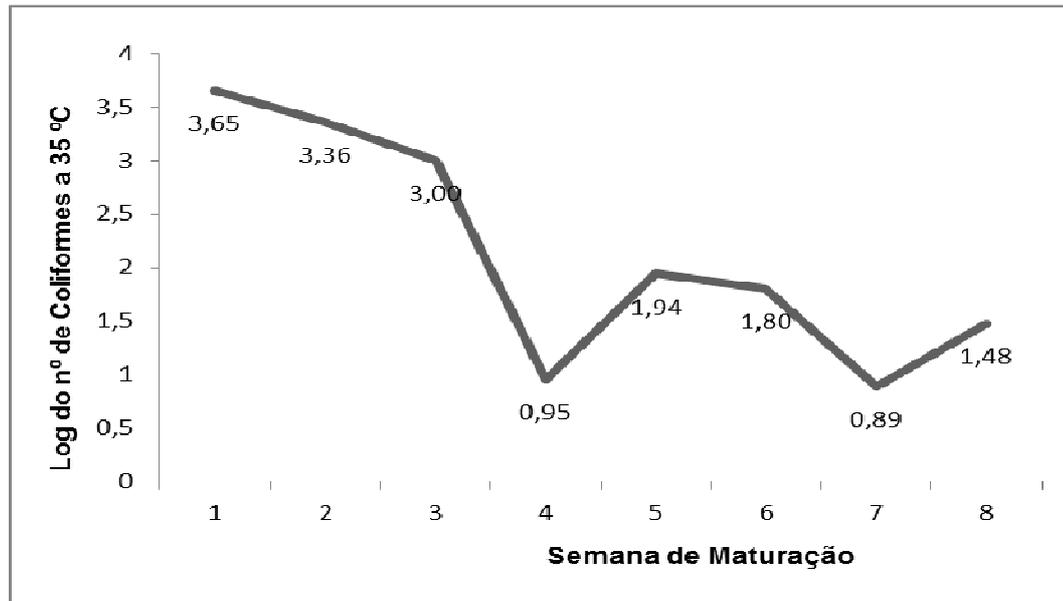


Figura 13 – Log da contagem de coliformes a 35 °C do queijo colonial em estudo durante a maturação por 8 semanas.

Feitosa et al. (2003) avaliaram 11 amostras de queijo de coalho produzidos no estado do Rio Grande do Norte, onde todas apresentaram coliformes totais. Roos et al. (2005) avaliaram o nível de contaminação por coliformes a 35 °C em 25 amostras de queijo colonial oriundas de 5 estabelecimentos da cidade de Três Passos-RS, e apenas um dos estabelecimentos apresentou valores acima do recomendado e, portanto, considerado impróprio para o consumo.

5.4.2 Coliformes a 45 °C

O grupo coliforme a 45 °C ou coliformes termotolerantes compreende bactérias originárias do trato gastrointestinal de humanos e de outros animais homeotermos, além de representantes não fecais que podem ser destruídos pela pasteurização (PINTO et al., 2011). Os coliformes termotolerantes são considerados microrganismos indicadores de contaminação fecal e manipulação incorreta, permitindo avaliar a qualidade do produto e predizer a sua vida útil (JAY, 2005). Os alimentos crus ou os que possuem em suas formulações ingredientes que não foram submetidos ao processo de cocção, frequentemente contêm coliformes incluindo *Escherichia coli*, indicadora da presença de microrganismos patogênicos de origem entérica (MANTILLA et al., 2007).

Os resultados obtidos, apresentados na figura 14 demonstram que na 1^o e 3^o semanas, a contagem de coliformes a 45 °C esteve acima do estabelecido pela Portaria MAPA n^o146/1996, para queijos de média umidade, pois o limite máximo é de 5×10^2 UFC/g ou Log de 2,69(BRASIL, 1996).

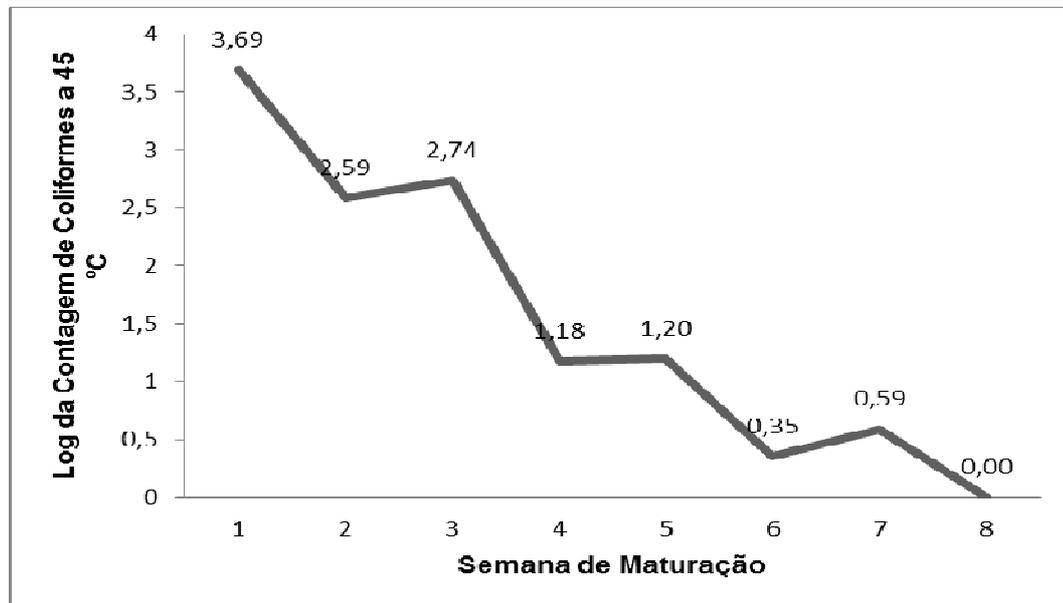


Figura 14 – Log da contagem de coliformes a 45 °C do queijo colonial em estudo durante a maturação por 8 semanas.

O aumento apresentado da 2^o semana para a 3^o semana pode ser explicado devido ao aumento da umidade, proporcionando condições favoráveis ao crescimento deste microrganismo.

A partir da 4^o semana de maturação, as contagens diminuíram significativamente, caracterizando o queijo como próprio para o consumo quanto à contagem de coliformes a 45 °C. Porém, cabe ressaltar que se a carga inicial de coliformes a 45 °C fosse maior, talvez este período de 30 dias não fosse suficiente para diminuir a contaminação a níveis aceitáveis.

O período de maturação realizado no laticínio em estudo de 15 dias não é suficiente para controlar esta contaminação.

Isepon et al. (2003) observaram, para a análise do NMP de coliformes termotolerantes, que 28 % das amostras de queijo minas frescal comercializados na cidade de Ilha Solteira, SP estavam abaixo do limite máximo permitido pela legislação, e os queijos considerados produto aceitável para consumo quanto análise microbiológica de coliformes termotolerantes. Em análise feita por Hoffmann et al. (2002), 100 % das amostras queijos tipo “minas frescal”, vendidos em feiras

livres na região de São José do Rio Preto, SP apresentaram variação de 3 a 210 NMP/g para coliformes termotolerantes, porém, uma amostra foi classificada pela legislação como produto em condição higiênico-sanitária insatisfatória.

Ferreira et al. (2011) analisaram vinte amostras de queijo Minas Frescal obtidas em feiras livres da cidade de Uberlândia-MG, e das 20 amostras analisadas, 16 amostras (80 %), apresentaram número de coliformes termotolerantes superiores a 10^2 NMP/g. Lucas et al. (2012) verificaram que 3 das 4 amostras de queijo colonial comercializados na cidade de Medianeira – PR, analisadas apresentaram-se impróprias para o consumo humano devido aos resultados de coliformes termotolerantes serem superiores a $5,0 \times 10^3$ UFC/g.

Quanto à contaminação de coliformes a 45 °C presentes no queijo analisado, pode-se sugerir que ocorreu contaminação cruzada podendo ser de origem higiênica sanitária insatisfatória ou até armazenamento de lotes de queijo contaminados dentro da câmara, considerando que na análise do leite utilizado como matéria-prima constatou-se ausência de coliformes a 45 °C. Segundo Silva (1997), a presença de bactérias do grupo coliformes em alimentos processados é considerada uma indicação de contaminação pós-sanitização ou pós-processamento, sendo as causas mais frequentes, equipamentos sujos ou a manipulação sem cuidados com higiene.

5.4.4 *Staphylococcus coagulase positiva*

Staphylococcus aureus é responsável por um dos tipos mais frequentes de intoxicação alimentar, comumente veiculada por leite e derivados. Embora possa estar presente no leite, especialmente naquele proveniente de vacas com mastite, a detecção de *S. aureus* em queijos elaborados com leite pasteurizado é fruto de sua contaminação posterior, pois o tratamento térmico é eficiente em eliminar células viáveis desses microrganismos (ASSUMPÇÃO et al., 2003).

É importante salientar que, muitas vezes, na fabricação dos produtos artesanais, o processo térmico aplicado ao leite possa ser ineficiente ou, como é mais comum em produções coloniais, tenha sido utilizado o leite cru, não pasteurizado, na fabricação do queijo (SENGER e BIZANI, 2011).

A Figura 15 apresenta os resultados obtidos quanto à presença de *Staphylococcus aureus* nas amostras de queijo colonial avaliadas durante o período de maturação.

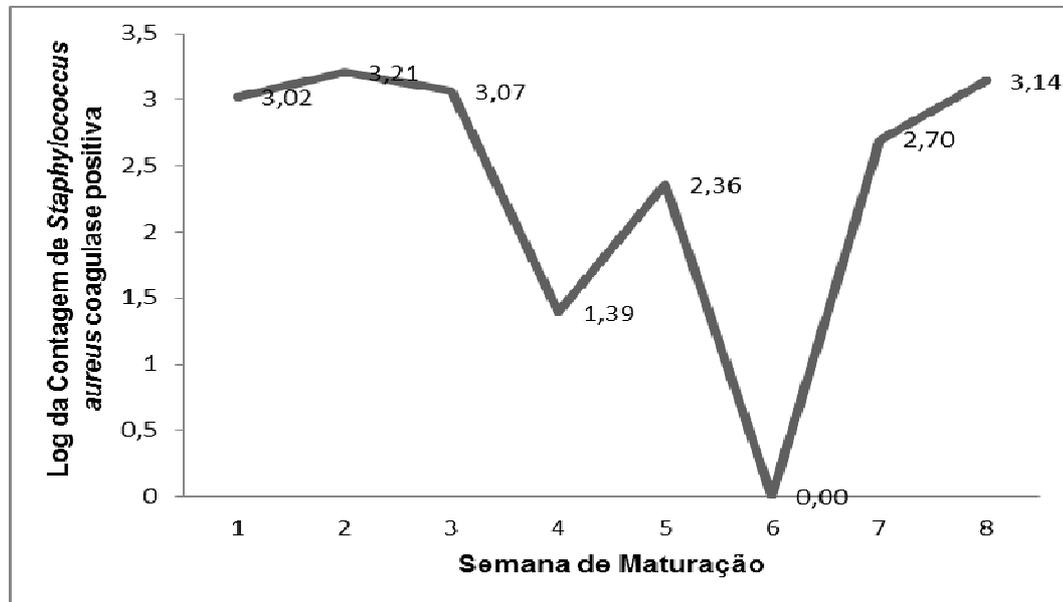


Figura 15 – Log da contagem de *Staphylococcus aureus* coagulase positiva do queijo colonial em estudo durante a maturação por 8 semanas.

O limite máximo para *Staphylococcus aureus* coagulase positiva em queijos, de acordo com a Portaria MAPA nº 146/1996 (BRASIL, 1996) é de $1,0 \times 10^3$ UFC/g ou Log 3, portanto, os resultados apresentados na figura 15 mostram que na 1ª 2ª, 3ª e 8ª semanas as contagem estavam acima do limite aceitável.

Com exceção da 6ª semana, os resultados indicaram contaminação por *S. aureus*, e apontaram que a maturação é eficiente para redução deste microrganismo, até alcançar na 6ª semana a ausência deste microrganismo. No entanto, nas semanas 7 e 8 de maturação, foi detectada novamente nas amostras avaliadas. Algumas hipóteses podem ser apontadas na tentativa de justificar o que possa ter ocorrido, como falhas durante o processo de maturação, lotes de queijos contaminados armazenados na mesma câmara ou condições higiênico-sanitárias insatisfatórias durante a realização da viragem dos queijos.

Vale ressaltar que se a contagem inicial fosse maior, talvez 6 semanas fossem insuficientes para sua eliminação.

Almeida e Franco (2003) destacam que o *Staphylococcus aureus* é um microrganismo que faz parte da microbiota da pele e mucosas do homem, e a sua

presença em alimentos pode ser devido a falhas de processamento e/ou contaminação pós-processamento.

Em pesquisa realizada por Pereira (2006), houve confirmação de *Staphylococcus* coagulase positiva em duas amostras de queijo coalho comercializadas em supermercados na cidade de São Luís - MA, que sugerem falhas no processo de embalagem, transporte e armazenamento desse produto na indústria. Monteiro e Badaró (2006) realizaram análise em 15 amostras de queijo tipo Minas Frescal, das quais 92,8 % (13) das amostras apresentaram resultados positivos para de *S. aureus* coagulase, com valores acima do limite permitido pela legislação para este tipo de queijo.

Segundo Fernandes et al. (2006), o *Staphylococcus* coagulase positiva multiplica-se em temperaturas compreendidas entre 7,0 e 47,8 °C, com temperatura ótima de 37 °C, o que pode explicar o aumento de *S. aureus* na 2ª semana de maturação, quando a temperatura esteve em 18 °C (Tabela 2). Nas demais semanas, em que detectou-se aumento deste microrganismo, a temperatura da câmara de maturação também esteve mais elevada.

5.4.5 *Salmonella* spp.

No que se refere à pesquisa de *Salmonella* spp., as amostras de queijo analisadas apresentaram ausência deste microrganismo em 25 g em todas as amostras analisadas durante o período de maturação. Este resultado é satisfatório, já que a legislação vigente estabelece a ausência desses microrganismos em 25 g de queijo (BRASIL, 1996).

Diversas pesquisas já foram realizadas para observar a presença/ausência de *Salmonella* em queijos artesanais produzidos a partir do leite cru. Feitosa et al. (2003) analisam 11 amostras de queijo de coalho produzidos no estado do Rio Grande do Norte, e a presença de *Salmonella* foi detectada em 9 % das amostras. Por ser potencialmente capaz de provocar infecção alimentar, a presença dessa bactéria classifica o queijo como produto impróprio para consumo. Oliveira et al. (2009) também realizaram análise de 125 amostras de queijo de coalho,

comercializados na cidade de Sobral - CE, que apresentou ausência de *Salmonella* em todas as amostras.

Pinto et al. (2011) analisaram 40 amostras de queijo Minas Frescal comercializado no município de Santa Helena, PR, observando ausência de *Salmonella* na totalidade das amostras avaliadas. Lucas et al. (2012) também observaram ausência desta bactéria em todas as 8 amostras analisadas de queijos coloniais comercializados na cidade de Medianeira - PR.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A qualidade do leite cru utilizado para a fabricação do lote de queijo em estudo apresentou-se satisfatória, onde todos os resultados atenderam ao padrão estabelecido pela legislação em vigor.

Com base nos resultados obtidos durante a avaliação do queijo colonial no período de 60 dias de maturação, constatou-se que o queijo estava próprio para consumo aos 30 dias de maturação quanto à contagem de coliformes e ausência de *Salmonella* spp.

A presença de *Staphylococcus aureus* coagulase positiva foi detectada nas duas últimas semanas de maturação, sendo que na última semana os valores encontrados estavam acima do limite estabelecido pela legislação em vigor, podendo ser um indicativo de contaminação cruzada, e caracterizando o produto impróprio para o consumo humano. No entanto, deve-se considerar que as contagens de *S. aureus* reduziram durante o processo de maturação, apresentando ausência na 6ª semana, e as contagens obtidas na 7ª e 8ª semana podem ser justificadas pela recontaminação das amostras, devido à contaminação cruzada por queijos recém-produzidos e armazenados na mesma câmara de maturação ou até mesmo por manipulação em condições higiênico-sanitárias insatisfatórias.

Quanto as análises físico-químicas de pH e acidez os resultados obtidos são satisfatórios. Ao passo que a umidade apresentou variações significativas no decorrer do período de maturação do queijo colonial em estudo, onde percebe-se que a falta de controle de temperatura/umidade na câmara de maturação podem favorecer o crescimento de microrganismos indesejáveis.

Tais problemas poderiam ser resolvidos através da utilização de diferentes câmaras de maturação, com diferentes períodos de maturação, e com um controle efetivo nos parâmetros temperatura e umidade da câmara, evitando-se assim condições que poderiam interferir na qualidade final do queijo.

Assim conclui-se que o queijo em estudo ainda oferece riscos após o período de maturação de 60 dias determinado pela legislação, uma vez que apresenta contaminação por microrganismos capazes de produzirem enterotoxinas que podem provocar transtornos alimentares.

Devido à grande aceitação e consumo deste tipo de queijo na região, destaca-se a importância da capacitação dos envolvidos na fabricação do queijo colonial podendo ser uma forma de reduzir a contaminação inicial do produto, a qual, aliada ao processo de maturação, pode ter efeitos positivos, tornando-o seguro e reforçando a tradição cultural da região.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, L.C. **História da fabricação de queijos**. Disponível em: <http://www.cienciadoleite.com.br>. Acesso em: 21 fev. 2013.

ALMEIDA, P.M.P.; FRANCO, R.M. Avaliação bacteriológica de queijo tipo minas frescal com pesquisa de patógenos importantes à saúde pública: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. e coliformes fecais. **Revista Higiene Alimentar**, v. 17, n. 11, p. 79-85, 2003.

ALVES, L.M.C. et al. **Qualidade microbiológica do leite cru e de queijo de Coalho comercializados informalmente na cidade de São Luís - MA**. Pesquisa em foco v. 17, n.2, p. 01-13, 2009.

ALVES, C. **Efeito de variações sazonais na qualidade do leite cru refrigerado de duas propriedades de Minas Gerais**. 2006. Dissertação (Mestrado) – Área de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

AMARAL, J.L. et al. Análise da relação entre acidez, pH e teste CMT para determinação da qualidade do leite individual de bovinos leiteiros. **VII Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação**, Tocantins, 2012.

ANTUNES, L. A evolução das enzimas coagulantes. **Revista Food Ingredients Brasil**. n. 16, 2011. Disponível em: <<http://www.revista-fi.com/materias/164.pdf>>. Acesso em: 23 ago. 2013.

AQUARONE, E. et al. **Biotecnologia Industrial. Biotecnologia na Produção de Alimentos**. v. 4. São Paulo: Edgar Blucher, 2001.

ASSUMPÇÃO, E.G. et al. **Fontes de contaminação por Staphylococcus aureus na linha de processamento de queijo prato**. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. Belo Horizonte, v.55, n.3, Jun, 2003.

BARROS, J.J.C. et al. Queijo parmesão: caracterização físico-química, microbiológica e microestruturada. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 285-294, abri- jun. 2011.

BELOTI, V. et al. Qualidade microbiológica e físico-química do leite cru refrigerado produzido no município de Sapopema/PR. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. Ano IX – n.16, jan, 2011.

BORGES, M.F. et al. **Salmonelose associada ao consumo de leite e produtos lácteos**. Embrapa Agroindústria Tropical. Fortaleza, 2010.

BORGES, M.F. et al. **Perfil de contaminação por *Staphylococcus* e suas enterotoxinas e monitorização das condições de higiene em uma linha de produção de queijo de coalho**. Ciência Rural, Santa Maria, v. 38, n. 5, p. 1431-1438, agosto, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº146, de 07 de março de 1996. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, p.3977, sec.1, 11 março, 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 62, de 29 de dezembro de 2011a. Aprova o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel, em conformidade com os Anexos desta Instrução Normativa. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 30 de dezembro de 2011, sec.1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 57, de 15 de dezembro de 2011b. Oficializa a necessidade de estabelecer critérios adicionais para elaboração de queijos artesanais. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 16 de dezembro de 2011, sec.1.

BRASIL. Fundação Nacional de Saúde. **Manual prático de análise de água**. 2ª ed. rev. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2006.

BRASIL. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 set. Seção 1, p. 14. 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 518, de 25 de março de 2004. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e da outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 25 de março de 2004.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Indicadores IBGE Estatística da Produção Pecuária**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/defaulttab.shtm>>. Acesso em 05 mar. de 2013a.

BRASIL. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA. Centro de Inteligência do Leite (CILEITE). **Panorama do Leite nº 75 Fevereiro 2013b** Disponível em: <www.cileite.com.br/sites/default/files/2013_02_PanoramaLeite.pdf> Acesso em 05 mar. de 2013b.

BRASIL. **Queijos no Brasil**. Juiz de Fora, Minas Gerais, 2013c. Disponível em: <<http://www.queijosnobrasil.com.br/maturacao-de-queijos.html>>. Acesso em 18 ago. 2013c.

BRASIL. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA. Centro de Inteligência do Leite (CILEITE). **Panorama do Leite**, 2012. Disponível em: <<http://www.cileite.com.br/content/panorama-do-leite>>. Acesso em 20 de jan. 2013 d.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 30, de 07 de agosto de 2013. Regulamento para produção de queijos artesanais. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 08 ago. Seção 1, 2013e.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001. Aprovar o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 02 de janeiro de 2001, sec.1.

BRITO, M.A. et al. Agência de Informação Embrapa. **Agronegócio do Leite**, Brasília, 2005. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em: 25 ago. 2013.

BUSNELLO, S.R. **Aspectos da qualidade do leite e produção do queijo frescal**. 2008. Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Medicina Veterinária. Centro das Faculdades Metropolitanas Unidas, São Paulo, 2008.

CASARIN, L.S. et al. Avaliação da qualidade microbiológica de queijos Coloniais comercializados em feiras livres de Pelotas/RS produzidos em 2000 e 2005. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 61, n. 350, p. 46-52, 2006.

CASSOLI, L. D. Produção de queijo: qual a importância da qualidade do leite. **MilkPoint**. Disponível em: <
http://m.milkpoint.com.br/mypoint/clinicadoleite/p_producao_de_queijo_qual_a_importancia_da_qualidade_do_leite_qualidade_do_leite_caseina_queijo_analise_do_leite_clinica_do_leite_leitestat_5226.aspx>. Acesso em: 26 ago. 2013.

CATÃO, R.M.R.; CEBALLOS, B.S.O. *Listeria* spp., coliformes totais e fecais e e. coli no leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínios, no estado da Paraíba (Brasil). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, p. 281-287, set/dez. 2001.

CAVALCANTE, F. de M. **Produção de queijos Gouda, Gruyère, Mussarela e Prato**. 2004. 111 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos). Universidade Católica de Goiás. Goiânia, 2004.

CAVALCANTI, E.R.C. **Fatores que interferem na qualidade do leite**. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2013.

CUNHA, A. de S.; CUNHA, M. R. Toxinfecção alimentar por *Staphylococcus aureus* através do leite e seus derivados, bem como o elevado potencial patogênico de resistência às drogas. **Saúde e Vida em Revista**, Duque de Caxias, v. 2, n. 1, p. 105-114, jan-jun 2007.

FACHINELLI, C. **Controle de qualidade do leite – análises Físico-químicas e microbiológicas**. 2010. Trabalho de conclusão de curso – Curso de Tecnologia em Alimentos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia, Bento Gonçalves, 2010.

FEITOSA, T. et al. Pesquisa de *Salmonella* sp., *Listeria* sp. e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijos produzidos no estado do Rio Grande do Norte. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, 2003.

FERNANDES, A.M. et al. Ocorrência de bactérias patogênicas em queijos no Brasil: questão de saúde pública. **Revista Higiene Alimentar**, v.20, n.144, p.46-49, 2006.

FERREIRA, R.M. et al. Quantificação de coliformes totais e termotolerantes em queijo Minas Frescal artesanal. **PUBVET, Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**. Londrina, v. 5, n. 5, ed. 152, Art. 1022, 2011.

FELLOWS, P.J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos: Princípios e Prática**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

FOLEGATTI, M. I. S. **Avaliação do uso de quimosina produzida por *Aspergillus niger* var. *awamori* na fabricação de queijo tipo prato**. 1994. Tese de Mestrado (Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1994.

FOX, et al. **Cheese – Chemistry, physics and microbiology**. 3° ed., 2004.

FRANCISCO BELTRÃO (Município). Secretaria Municipal de Agricultura. **Agroindústrias (SIM / SIP)**. Francisco Beltrão, 2013. Disponível em: <<http://www.franciscobeltrao.pr.gov.br/>>. Acesso em 04 jan. 2013.

FRANCO, B. D. G. de M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2008.

FREIRE, M.F. **Análises das características físico-químicas de leite cru refrigerado entregue em uma cooperativa no estado do Rio de Janeiro no ano de 2002**. 2006. 33 f. Monografia (pós-graduação) – Curso de pós-graduação “Lato sensu” em Higiene e Inspeção em Produtos de Origem Animal e Vigilância Sanitária, Universidade Castelo Branco, Rio de Janeiro, 2006.

FURTADO, M. M. **A arte e a ciência do queijo**. São Paulo: Globo, 1991.

GARCIA, D.M. Análise de atividade de água em alimentos armazenados no interior de granjas de integração avícola. 2004. 50 f. Dissertação (mestrado) – Ciências veterinárias na área de sanidade avícola do programa de pós graduação em ciência veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

GOMES, S. T. **Evolução Recente e Perspectiva da produção de Leite no Brasil**. Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 30 jul. 2001. Disponível em: <[http://www.ufv.br/DER/docentes/stg/stg_artigos/Art_152%20-%20EVOLU%C7%C3O%20RECENTE%20%20E%20PERSPECTIVA%20DA%20PRODU%C7%C3O%20DE%20LEITE%20DO%20BRASIL%20\(20-8-01\).pdf](http://www.ufv.br/DER/docentes/stg/stg_artigos/Art_152%20-%20EVOLU%C7%C3O%20RECENTE%20%20E%20PERSPECTIVA%20DA%20PRODU%C7%C3O%20DE%20LEITE%20DO%20BRASIL%20(20-8-01).pdf)>. Acesso em: 25 jun. 2013.

GUERREIRO, P.K. et al. Qualidade microbiológica de leite em função de técnicas profiláticas no manejo de produção. **Ciências Agrotécnicas**, Lavras, v. 29, n. 1, p. 216-222, jan./fev. 2005.

GUIMARÃES, T.F. et al. Exportações Mundiais de Queijos: 2003 a 2007. In: **X Minas Leite** – 25 e 26 de novembro de 2008, 2008, Minas Gerais. Disponível

em:<http://www.cileite.com.br/sites/default/files/exportacoes_mundiais_de_queijos_2003_a_2007.pdf>. Acesso em: 20 fev. 2013.

HOFFMANN, F.L.; SILVA, J.V.; VINTURIM, T.M. Qualidade microbiológica de queijos tipo “minas frescal”, vendidos em feiras livres na região de São José do Rio Preto, SP. **Revista Higiene Alimentar**, v.16, n.96, p.69-76, maio 2002.

IDE, L. P. A.; BENEDET, H. D. Contribuição ao conhecimento do queijo colonial produzido na região serrana do estado de Santa Catarina, Brasil. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 6, p. 1351-1358, nov./dez. 2001.

ISEPON, J.S.; SANTOS, P.A.; SILVA, M.A.P. Avaliação microbiológica de queijos minas frescal comercializados na cidade de Ilha Solteira, SP. **Revista Higiene Alimentar**, v.17, n.106, p.89-94, março 2003.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

JUNIOR, J.F.S. et al. Caracterização físico-química de queijos coloniais produzidos em diferentes épocas do ano. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Minas Gerais, v. 67, n. 386, mai/jun. 2012.

LAMAITA, H.C. et al. Contagem de Staphylococcus sp. e detecção de enterotoxinas estafilocócicas e toxina da síndrome do choque tóxico em amostras de leite cru refrigerado. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. vol.57, n. 5, Belo Horizonte, Outubro. 2005.

LANDIM, L.B. **Caracterização físico-química e bioquímica de queijos Minas Frescal comercializados na região sudoeste da Bahia**. *Revista Analytica*, n. 5, 2001.

LIMA, M.C.G. et al. Contagem de células somáticas e análises físico-químicas e microbiológicas do leite pasteurizado produzido na Região Agreste do Estado de Pernambuco. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.1, p.89-95, 2006.

LOBATO, V. **Tecnologia de fabricação de derivados do leite na propriedade rural**. 1.ed. Lavras: Departamento de Ciência dos Alimentos da UFLA, 2002.

LUCAS, S.D.M. et al. Padrão de identidade e qualidade de queijos colonial e prato, comercializados na cidade de Medianeira - PR. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Minas Gerais, v. 67, n. 386, mai/jun. 2012.

LUTZ, A. INSTITUTO ADOLFO LUTZ, IAL. **Métodos Físico-Químicos para Análise de alimentos**. Ed 4; 1º edição digital, p. 83-160, 2008.

MACALÉ. 2013. O rendimento da fabricação de queijos. Disponível em: <<http://www.macale.com/portal/images/stories/informativo/01.pdf>>. Acesso em: 28 ago.2013.

MACHADO, G.M. et al. Aspectos físico-químicos de queijo de coalho fabricado com o uso de ácido láctico. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, São Paulo v. 22, n. 3, p. 421-428, jul/set. 2011.

MANTILLA, S.P.S. et al. Comparação entre métodos de enumeração de coliformes termotolerantes em cortes de frango resfriados. **Revista CFMV**, Brasília, v.13, p. 36-40, 2007.

MATOS, C. R. **Parahidroxifenilsalicilamida e natamicina no controle de fungos na superfície de salames tipo milano**. 2009. 85 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos do Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

MATTOS, M.R. et al. Qualidade do leite cru produzido na região do agreste de Pernambuco, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, V, 31, n. 1, p. 173-182, jan/mar. 2010.

MARQUARDT, L. et al. **Manual para elaboração de queijos diferenciados**. Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC. Santa Cruz do Sul, 2013. Disponível em: <http://www.unisc.br/portal/upload/com_arquivo/manual_queijos_atualizado.pdf>. Acesso em: 15 ago. 2013.

MARTINS, J. M. **Características físico-químicas e microbiológicas durante a maturação do queijo minas artesanal da região do Serro**. 2006. 146f. Tese (Doutorado) – Programa em Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2006.

MARTINS, J.M. et al. Características físico-químicas dos queijos minas artesanais produzidos na região de Araxá. **Revista do Instituto de Laticínios Candido Tostes**, v. 59, n. 339 p. 317-320, 2004.

MONTEIRO, M.V.; BADARÓ, A.C.L. Qualidade Microbiológica de Queijos tipo Minas Frescal comercializados na cidade de Ipatinga, Minas Gerais. **Revista Higiene Alimentar**. São Paulo, v. 21, n. 150, p. 230-231, 2006.

MONTEIRO, A.A.; PIRES, A.C.S.; ARAÚJO, E.A. **Tecnologia de produção de derivados de leite**. Viçosa, Minas Gerais, 2007.

MORENO, I. et al. Propriedades físicas e composição química e bioquímica durante a maturação de queijo Prato de diferentes origens. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 57, n. 327, p. 270-273, 2002.

NABUCO, A.C.; MORETTI, B.R.; PENNA, A.L.B. Avaliação do perfil de tirosina e triptofano durante a maturação do queijo tipo Prato. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 59, n. 339, p. 360-363, 2004.

NESPOLO, C.R.; TAFFAREL, J.A.S.; BRANDELLI, A. Parâmetros microbiológicos e físico-químicos durante a produção e maturação do queijo Fascal. **Revista online Acta Scientiae Veterinariae**, 2009. Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul Porto Alegre, 2009.

OLIVEIRA, D.F.; TONIAL, I.B. **Estudo da interferência das estações do ano na composição centesimal do queijo colonial produzido e comercializado no município de Francisco Beltrão/PR**. Programa Institucional de Iniciação Científica - Relatório Final de Atividades, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, 2010.

OLIVEIRA, J.S. et al. Qualidade microbiológica de queijo tipo coalho comercializado na cidade de Sobral – CE. **IV Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica**, Belém, 2009.

OLIVEIRA, J. S; **Queijo: fundamentos tecnológicos**. 2 ed. Campinas: Ed. da UNICAMP; São Paulo: Icone, 1986

ORDÓÑEZ, J.A. **Tecnologia de Alimentos**. Alimentos de origem animal. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, v.2, 2005.

PARK, K.J.; ANTONIO, G.C. **Análises de materiais biológicos**. Universidade Estadual de Campinas – Faculdade de Engenharia Agrícola. São Paulo, 2006. Disponível em: <
http://www.feagri.unicamp.br/ctea/manuais/analise_matbiologico.pdf>. Acesso em: 14 ago. 2013.

PAULA, F.P.; CARDOSO, C. E.; RANGEL, M. A. C. Análise físico química do leite cru refrigerado proveniente das propriedades leiteiras da região Sul Fluminense. **Revista Eletrônica TECCEN**, Vassouras, v. 3, n. 4, p. 7-18, out/dez, 2010.

PAULA, J. C. J.; CARVALHO, A. F.; FURTADO, M. M. Princípios básicos de fabricação de queijo: do histórico à salga. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Minas Gerais, v. 64, n. 367/368, mar/jun. 2009.

PEREIRA, L. S. **Qualidade microbiológica e físico-química do queijo coalho comercializado na cidade de São Luis - MA**. 2006. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) Setor de Ciências Agrárias, Universidade Estadual do Maranhão, São Luis, 2006.

PEREIRA, R.B. et al. Maturação do queijo Minas artesanal da região de Araxá e contagem de *Staphylococcus aureus*. **Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica**, Belo Horizonte, 2013.

PEREIRA, R.B. **Caracterização microbiológica de alguns tipos de queijos regionais brasileiros**. 2007. 31f. Monografia (Especialização em Microbiologia) – Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

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

PETRIFILM 3M. **Guia de Interpretação. Placas 3M™ Petrifilm™ para Contagem de E. coli / Coliformes**, 2009. Manual. Disponível em: <http://multimedia.3m.com/mws/mediawebserver?mwsId=SSSSSufSevTsZxtUnYtB58_1evUqevTSevTSevTSeSSSSSS--&fn=GuiaPetrifilmColiforEcoli.pdf> , Acesso em: 30 jul. 2013.

PINTO, P. S. A. et al. Queijo minas: problema emergente da vigilância sanitária. **Revista Higiene Alimentar**, v.10, n.44, p.22-26, jul./ago. 1996.

PINTO, F.G.S. et al. Qualidade microbiológica de queijo minas frescal comercializado no município de Santa Helena, PR, Brasil. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.78, n.2, p.191-198, abr./jun., 2011.

REZENDE, P.H.L. et al. Aspectos Sanitários do Queijo Minas Artesanal Comercializado em Feiras-Livres. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. v.65, n.377, p.36-42, 2010.

RICARDO, N.R. et al. Análise físico-química de queijos minas frescal artesanais e industrializados comercializados em Londrina-PR. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, Campo Mourão - PR, v.2, n.2, p.89-95, Jul./Dez., 2011.

ROCHA, A. M. P. **Controle de Fungos Durante a Maturação do Queijo Minas Padrão**. 2004. 96 f. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2004.

RODRIGUES, A.R.O. **Influência da mastite na qualidade do leite in natura: Revisão de literatura**. 2009. 40f. Monografia (Especialização em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Recife, 2009.

RODRIGUES, F. Fermento Lácteo. **Queijos no Brasil**. Juiz de Fora, Minas Gerais, 2013. Disponível em: <<http://www.queijosnobrasil.com.br/queijo-fermento.html>>. Acesso em 15 ago. 2013.

ROOS, T.B. et al. de. Avaliação microbiológica de queijo colonial produzido na cidade de Três Passos. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 19, n. 132, p. 94-96, 2005.

ROSSI E.M. et al. Avaliação da qualidade microbiológica de queijos Minas Frescal comercializado em supermercados da região Extremo-Oeste de Santa Catarina, Brasil. **Revista Evidência**, Joaçaba, v. 10, n. 1-2, p. 105-114, jan/dez, 2010.

SANTOS, A.S. **Queijo minas artesanal da microrregião do Serro-MG: efeito da sazonalidade sobre a microbiota do leite cru e comportamento microbiológico durante a maturação**. 2010. 68 f. Dissertação (Dissertação apresentada ao Curso de Pós- Graduação Stricto Sensu em Produção Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2010.

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

SEBRAE. **Queijos Nacionais**. Estudo de mercado SEBRAE/ESPM. Relatório Completo, 2008.

SENGER, A.E.V.; BIZANI, D. Pesquisa de *Staphylococcus aureus* em queijo minas frescal, produzido de forma artesanal e industrial, comercializado na cidade de Canoas/RS, Brasil. **Revista de Ciências Ambientais**, Canoas, v.5, n.2, p. 25 a 42, 2011.

SCHMITT, C.I.; CERESER, N. D. Qualidade Microbiológica do Queijo Colonial Produzido na Região de Ijuí e Cruz Alta – RS. In: XVI SEMINÁRIO INTERINSTITUCIONAL DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 2011, Cruz Alta. **Anais...**Cruz Alta,2011. Disponível em: <http://www.unicruz.edu.br> >. Acesso em: 30 jan. 2013.

SILVA, N. et al. Contagem de Bolores e Leveduras. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. v. 03, Nº. 157, p. 99-103, 2007.

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

SILVA, T.V. **Caracterização físico-química de queijos tipos Minas Frescal produzidos por pequenos produtores do município de Guarapuava e região**. Salão de Extensão e Cultura, 2008.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1997, p31.

VASCONCELOS, M.P.; ARAÚJO, K.G.L.; VERRUMA-BERNARDI, M.R. Efeito de pH de coagulação do leite e do tipo de coalho sobre o rendimento de massa na produção de queijo. **Revista brasileira de Agrociência**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 4, p. 499-502, out/dez, 2004.

VALSECHI, O.A. **O leite e seus derivados**. Tecnologia de produtos agrícolas de origem animal. Departamento de Tecnologia Agroindustrial e socioeconomia Rural – Universidade Federal de São Carlos, Araras, 2001. Disponível em:< <http://www.cca.ufscar.br/~vico/O%20LEITE%20E%20SEUS%20DERIVADOS.pdf>>. Acesso em: 02 mai. 2013.

VENTURINI, K.S.; SARCACINELLI, M.F.; SILVA, L.C. **Características do leite**. Boletim Técnico – Programa Institucional de Extensão, Universidade Federal do Espírito Santo, 2007. Disponível em: < http://www.agais.com/telomc/b01007_caracteristicas_leite.pdf>. Acesso em: 25 jul. 2013.

ZOCCAL, R.; GOMES, A.T. **Mercado Internacional**. Agência de informação Embrapa. Agronegócio do leite. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), 2005-2007.