# UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ CURSO TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

# FRANCIELE DA SILVA GISELE DA SILVA

# ANÁLISE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE QUEIJOS COLONIAIS COM E SEM INSPEÇÃO, COMERCIALIZADOS NA MICRORREGIÃO DE FRANCISCO BELTRÃO-PR

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

FRANCISCO BELTRÃO 2013

## FRANCIELE DA SILVA GISELE DA SILVA

# ANÁLISE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE QUEIJOS COLONIAIS COM E SEM INSPEÇÃO, COMERCIALIZADOS NA MICRORREGIÃO DE FRANCISCO BELTRÃO-PR

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 Federal do Paraná – UTFPR, câmpus Francisco Beltrão, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Fabiane Picinin de Castro Cislaghi

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ivane Benedetti Tonial

FRANCISCO BELTRÃO

### FOLHA DE APROVAÇÃO

# ANÁLISE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE QUEIJOS COLONIAIS COM E SEM INSPEÇÃO, COMERCIALIZADOS NA MICRORREGIÃO DE FRANCISCO BELTRÃO-PR

Por

#### Franciele da Silva

#### Gisele da Silva

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<sup>a</sup>. MSc. Norma Brambilla Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Ivane Benedetti Tonial Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR (Co-orientadora)

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Fabiane Picinin de Castro Cislaghi Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR (Orientadora)

Prof. Dr<sup>a</sup>. Cleusa Inês Weber Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR (Coordenadora do curso)

Francisco Beltrão, 2013.

<sup>&</sup>quot;A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso".

#### **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus que iluminou nossos caminhos, ideias e nos deu força para persistirmos, apesar dos obstáculos que existiram.

Nosso especial agradecimento à professora e orientadora Dr<sup>a</sup>. Fabiane Picinin de Castro Cislaghi, que além de nos transmitir seu conhecimento com maestria, nos orientou em todo o processo de elaboração com objetividade, foco e dedicação, e à co-orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ivane Benedetti Tonial, que nos auxiliou nas análises realizadas.

A todos docentes, técnicos de laboratório e administrativos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná- Câmpus Francisco Beltrão, pelo auxílio, carinho e motivação em toda a jornada percorrida.

A nossos pais, que foram fundamentais em nossa conquista, pelo amor, carinho persistência e ajuda, não apenas nesta caminhada, mas também na vida, e a todos os familiares, em especial a meu irmão e minha avó, pelo carinho.

Agradecemos também a todos os colegas de sala e amigos pela parceria, por trocar informações e muitas vezes nos ajudar.

#### **RESUMO**

SILVA, Franciele da; SILVA, Gisele da. Análise microbiológica e físico-química de queijos coloniais com e sem inspeção, comercializados na microrregião de Francisco Beltrão-PR. 2013. 58 f. Trabalho de conclusão de curso (Tecnologia em Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Francisco Beltrão, 2013.

Dentre todos os derivados do leite, o queijo é um dos mais frequentes transmissores de doenças de origem alimentar. O queijo colonial é um queijo artesanal, produzido em propriedades rurais, geralmente fabricado com leite cru e sem boas práticas de fabricação. Não possui regulamento técnico de identidade e qualidade e em muitos casos não possui inspeção. Este estudo foi considerando o alto consumo deste tipo de queijo na região sudoeste do Paraná. O objetivo deste trabalho foi avaliar as características físico-químicas e a qualidade microbiológica de amostras de queijos coloniais sem inspeção, com inspeção federal, estadual e municipal comercializados na microrregião de Francisco Beltrão-PR. Foram coletadas oito amostras de queijo colonial, sendo duas de queijos com Serviço de Inspeção Federal (SIF), duas com Serviço de Inspeção Estadual (SIE), duas com Serviço de Inspeção Municipal (SIM) e duas sem inspeção. Foram realizadas análises físico-químicas (pH, acidez, umidade, proteínas, lipídeos, gordura no extrato seco, extrato seco desengordurado, cinzas e carboidratos totais) e microbiológicas (mesófilos aeróbios totais, bolores e leveduras, coliformes totais e termotolerantes, Staphylococcus coagulase positiva e Salmonella sp.). Os resultados das análises microbiológicas demonstraram que 50% das amostras estavam com contagens de coliformes totais e termotolerantes acima do permitido pela legislação, sendo duas amostras de inspeção municipal e duas sem inspeção. Por meio das análises físico-químicas, foi possível observar a falta de padronização dos queijos coloniais, principalmente com esferas de inspeção menores, o que é indesejável tanto para os produtores, quanto para os consumidores.

**Palavras-chave:** Queijo colonial. Análise físico-química. Qualidade microbiológica. Inspeção.

#### **ABSTRACT**

SILVA, Franciele da; SILVA, Gisele da. **Microbiological and physico-chemical analysis of colonial cheeses with and without inspection, marketed in the microregion of Francisco Beltrão-PR.** 2013. 58 f. Conclusion of course work (Food Technology). Federal University of Technology - Paraná. Francisco Beltrão, 2013.

Among all dairy products, cheese is one of the most common transmitters of foodborne diseases. The colonial cheese is an artisanal cheese produced on farms, usually made from raw milk and without good manufacturing practices. It has no technical regulation of identity and quality and in many cases does not have any kind of inspection. This study has been considering the high consumption of this type of cheese in the southwest region of Paraná. The aim of this study was to evaluate the physico-chemical and microbiological quality of colonial cheese samples without inspection, with federal inspection, state inspection and municipal inspection, marketed in the microregion of Francisco Beltrão-PR. Eight samples of colonial cheese, two cheeses with Federal Inspection Service (SIF), two with the State Inspection Service (SIE), two with Municipal Inspection Service (SIM) and two without inspection. Analysis physicochemical (pH, acidity, moisture, lipids, proteins, fat in dry, nonfat dry, ash and total carbohydrates) and microbiological (total mesophilic aerobic, yeasts and molds, total and fecal coliforms, Staphylococcus coagulase positive and Salmonella sp.,). The microbiological analysis showed that 50% of the samples had counts of total and fecal coliforms above the law allowed, which two samples with municipal inspection and two samples without inspection. By means of physico-chemical analysis, it was observed a lack of standardization of colonial cheeses, especially with smaller spheres inspection, which is undesirable both for producers and for consumers.

**Keywords:** Colonial cheese. Physico-chemical analysis. Microbiological quality. Inspection.

# LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição centesimal média do leite de vaca	11
Tabela 2. Classificação dos queijos de acordo com o conteúdo de matéria	gorda no
extrato seco (%) e conteúdo de umidade (%).	16
Tabela 3. Amostras de queijos coloniais conforme o tipo de inspeção	29
Tabela 4. Análises físico-químicas das amostras de queijos coloniais con	m e sem
inspeção, da microrregião de Francisco Beltrão- PR	39
Tabela 5. Análises microbiológicas das amostras de queijos coloniais con	m e sem
inspeção, da microrregião de Francisco Beltrão- PR	48

# SUMÁRIO

	9
2 OBJETIVOS	
2.1 Objetivo geral	
2.2 Objetivos específicos	
3 REVISÃO DE LITERATURA	. 11
3.1 Leite	. 11
3.2 Queijo	. 12
3.3 Origem do queijo	
3.4 Composição e valor nutricional dos queijos	. 13
3.5 Classificação dos queijos	. 15
3.6 Processo geral de fabricação de queijos	16
3.6.1 Matéria-prima	16
3.6.2 Pasteurização	17
3.6.3 Adição dos ingredientes	17
3.6.4 Formação da coalhada	
3.6.5 Corte da coalhada	
3.6.6 Agitação da coalhada	
3.6.7 Cocção da coalhada	
3.6.8 Dessoramento	
3.6.9 Moldagem	
3.6.10 Prensagem	
3.6.11 Salga	
3.6.12 Maturação	
3.7 Queijo colonial	
3.8 Serviço de Inspeção	
3.9 Microrganismos contaminantes em queijos	. 25
3.9.1 Mesófilos Aeróbios	
3.9.2 Bolores e Leveduras	
3.9.3 Coliformes	
3.9.4 Staphylococcus coagulase positiva	
3.9.5 Salmonella sp	
4 MATERIAL E MÉTODOS	. 29
4.1 Coleta e preparo das amostras	. 29
4.1 Coleta e preparo das amostras4.2 Análises Físico-químicas	. 29 . 29
4.1 Coleta e preparo das amostras	<b>29</b> <b>29</b> 30
4.1 Coleta e preparo das amostras	29 29 30 30
4.1 Coleta e preparo das amostras 4.2 Análises Físico-químicas	. <b>29</b> . <b>29</b> . 30 . 30 . 30
4.1 Coleta e preparo das amostras 4.2 Análises Físico-químicas	29 29 30 30 30 31
4.1 Coleta e preparo das amostras 4.2 Análises Físico-químicas	29 30 30 30 31 32
4.1 Coleta e preparo das amostras.  4.2 Análises Físico-químicas.  4.2.1 pH.  4.2.2 Acidez Titulável.  4.2.3 Umidade  4.2.4 Proteínas  4.2.5 Lipídeos  4.2.6 Gordura no extrato seco.	29 30 30 30 31 32 33
4.1 Coleta e preparo das amostras 4.2 Análises Físico-químicas 4.2.1 pH 4.2.2 Acidez Titulável 4.2.3 Umidade 4.2.4 Proteínas 4.2.5 Lipídeos 4.2.6 Gordura no extrato seco 4.2.7 Extrato Seco Desengordurado	29 30 30 30 31 32 33
4.1 Coleta e preparo das amostras.  4.2 Análises Físico-químicas.  4.2.1 pH.  4.2.2 Acidez Titulável.  4.2.3 Umidade.  4.2.4 Proteínas.  4.2.5 Lipídeos.  4.2.6 Gordura no extrato seco  4.2.7 Extrato Seco Desengordurado  4.2.8 Cinzas.	29 30 30 30 31 32 33 33
4.1 Coleta e preparo das amostras.  4.2 Análises Físico-químicas.  4.2.1 pH.  4.2.2 Acidez Titulável.  4.2.3 Umidade.  4.2.4 Proteínas.  4.2.5 Lipídeos.  4.2.6 Gordura no extrato seco  4.2.7 Extrato Seco Desengordurado.  4.2.8 Cinzas.  4.2.9 Carboidratos Totais	29 30 30 30 31 32 33 33 34
4.1 Coleta e preparo das amostras.  4.2 Análises Físico-químicas.  4.2.1 pH.  4.2.2 Acidez Titulável.  4.2.3 Umidade.  4.2.4 Proteínas.  4.2.5 Lipídeos.  4.2.6 Gordura no extrato seco.  4.2.7 Extrato Seco Desengordurado.  4.2.8 Cinzas.  4.2.9 Carboidratos Totais.  4.3 Análises Microbiológicas.	. <b>29</b> . <b>30</b> . 30 . 31 . 32 . 33 . 33 . 34 . <b>34</b>
4.1 Coleta e preparo das amostras.  4.2 Análises Físico-químicas.  4.2.1 pH	. <b>29</b> 30 30 30 31 32 33 33 34 .34
4.1 Coleta e preparo das amostras  4.2 Análises Físico-químicas  4.2.1 pH	. 29 30 30 31 32 33 33 34 . 34 35
4.1 Coleta e preparo das amostras  4.2 Análises Físico-químicas  4.2.1 pH	. 29 . 30 . 30 . 31 . 32 . 33 . 33 . 34 . 34 . 35 . 35
4.1 Coleta e preparo das amostras  4.2 Análises Físico-químicas  4.2.1 pH	29 30 30 30 31 32 33 33 34 34 35 35

4.3.6 Análise Estatística	37
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1 Análises Físico-químicas	
5.1.1pH	
5.1.2 Acidez em ácido lático	
5.1.3 Umidade	42
5.1.4 Proteínas	43
5.1.5 Lipídios	43
5.1.6 Gordura no Extrato Seco	
5.1.7 Extrato Seco Desengordurado	45
5.1.8 Cinzas	
5.1.9 Carboidratos	
5.2 Análises Microbiológicas	47
5.2.1 Mesófilos aeróbios totais	
5.2.2 Bolores e leveduras	49
5.2.3 Coliformes totais e termotolerantes	50
5.2.4 Staphylococcus coagulase positiva	
5.2.5 Salmonella sp	52
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	
REFERÊNCIAS	

### 1 INTRODUÇÃO

Dentre a gama de produtos derivados do leite, o queijo é considerado um veículo frequente de transmissão de microrganismos patógenos de origem alimentar, e principalmente, os queijos frescos produzidos de maneira artesanal, que na sua maioria, são elaborados com leite cru, sendo que, quase na sua totalidade, são consumidos sem maturação. 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 contaminados (FEITOSA et al., 2003).

No sudoeste do Paraná, pode-se observar que o queijo Colonial é um dos mais procurados e aceitos pela população, uma vez que tem origens antigas e se tornou parte da cultura dos indivíduos nessa região. Segundo Sebrae (2008), este queijo é originário do Brasil, com sabor mediamente picante e período de maturação de 30 dias. É uma variedade que surgiu como uma alternativa dos pequenos produtores para agregar valor à produção de leite e aumentar sua renda (REZENDE et al., 2010).

Não existe padrão de técnicas de fabricação do queijo colonial, bem como Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) deste tipo de queijo. Grande parte dos agricultores do Paraná produz o queijo chamado Colonial, com tecnologia semelhante àquela do queijo Minas, porém dados exatos a respeito da tecnologia, composição, comercialização e produção são poucos e sua elaboração e fabricação clandestina é inevitável (FARIÑA et al., 2012).

Tendo em vista o alto consumo de queijos coloniais frescos na região de Francisco Beltrão, faz-se necessária a avaliação da qualidade desses queijos. Já os queijos coloniais que possuem inspeção, também devem ser analisados, tendo em vista que esta pode não ser suficiente para garantir um produto seguro, pois falhas no controle de qualidade, boas práticas de fabricação e manipulação podem ocorrer frequentemente, até em queijarias que possuem inspeção tanto federal, estadual e principalmente municipal.

#### 2 OBJETIVOS

#### 2.1 Objetivo geral

Avaliar as características físico-químicas e a qualidade microbiológica de amostras de queijos coloniais sem inspeção, com inspeção federal, estadual e municipal comercializados na microrregião de Francisco Beltrão-PR.

#### 2.2 Objetivos específicos

- Avaliar as propriedades físico-químicas dos queijos coloniais: pH, acidez, umidade, proteínas, lipídeos, extrato seco desengordurado, gordura no extrato seco, cinzas, e carboidratos totais.
- Avaliar a qualidade microbiológica dos queijos coloniais, através das análises de Mesófilos Aeróbios, Bolores e Leveduras, Coliformes Totais e Termotolerantes, Staphylococcus coagulase positiva e Salmonella sp.
- Comparar os resultados microbiológicos e físico-químicos entre as amostras de queijos coloniais, com inspeção municipal, estadual, federal e sem inspeção.
- Verificar quais amostras estão aptas para o consumo, de acordo com a legislação vigente.
- Observar a relação entre os aspectos intrínsecos das análises físico-químicas como pH, acidez, umidade, com o desenvolvimento de microrganismos patógenos e deteriorantes, nas diferentes amostras de queijos coloniais.

#### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Leite

Segundo a Instrução Normativa nº 62/2011 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o leite pode ser definido como:

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, 2011).

Segundo Behmer (1999), o leite obtido em circunstâncias naturais, é uma emulsão de cor branca, ligeiramente amarelada, de odor suave e gosto adocicado. É um produto secretado pelas glândulas mamárias e alimento indispensável aos mamíferos, nos primeiros meses de vida, enquanto não é possível digerir e assimilar outras substâncias necessárias à sobrevivência.

O principal constituinte do leite é a água. Os sólidos do leite são compostos de gordura, proteínas, lactose e sais minerais. Os sais minerais e a lactose formam uma solução verdadeira com água, a gordura forma uma emulsão e a proteína uma dispersão coloidal (AQUARONE, 2001).

A composição do leite pode variar de acordo com algumas características, como alimentação do animal, raça, período de lactação, idade e variações climáticas (BEHMER, 1999). A Tabela 1 apresenta a composição média do leite de vaca.

Tabela 1. Composição centesimal média do leite de vaca.

Constituinte	Teor (%)	Variação (%)
Água	87,1	85,3 – 88,7
Extrato seco desengordurado	8,9	7,9 - 10,0
Gordura	4,0	2,5-5,5
Lactose	4,6	3,8-5,3
Proteínas	3,3	2,3-4,4
Caseína	2,6	1,7 -3,5
Substâncias minerais	0,7	0,57 - 0,83
Ácidos orgânicos	0,17	0,12 -0,21
Outros	0,15	

Fonte: Wastra et al. (1999).

Por ser um produto nutritivo, o leite torna-se excelente meio para o desenvolvimento de microrganismos (BEHMER, 1999), deteriorantes e patógenos,

podendo resultar em alterações nas características físico-químicas e veicular enfermidades transmitidas por alimentos (TRONCO, 2003). A qualidade dos produtos lácteos, como o queijo, está diretamente ligada à qualidade do leite (FURTADO, 1991).

Segundo Hill (2011), o leite produzido no sudoeste do Paraná tem teores de sólidos totais, gordura e proteína de acordo com os padrões mínimos exigidos pela legislação, o que é desejável. Porém, existe oscilação nestas quantidades, em virtude principalmente da forragem dada aos animais. A contagem de células somáticas (CCS) presente no leite, em média, está dentro dos padrões exigidos, sendo o principal problema a contagem bacteriana total, que é muito elevada na região.

O leite a ser utilizado na fabricação de queijos deverá ser higienizado por meios mecânicos e submetido à pasteurização ou tratamento térmico equivalente para assegurar a fosfatase residual negativa. Somente os queijos submetidos a um processo de maturação em uma temperatura superior aos 5° C, durante um tempo não inferior a 60 dias podem ser elaborados com leite cru (BRASIL, 1996).

#### 3.2 Queijo

Segundo a Portaria nº 146/1996 do MAPA o queijo é definido como:

O produto fresco ou maturado, obtido por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, de enzimas específicas, de bactérias específicas, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos aptos para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, aromatizantes e corantes (BRASIL, 1996).

O queijo é o resultado da concentração seletiva do leite. A água é eliminada em proporções determinadas, segundo a variedade que se deseja, arrastando com ela parte dos elementos solúveis e das proteínas não coaguladas que estão presentes no leite. A proteína responsável pela formação do coágulo é a caseína. A caseína coagulada constitui a base para a pasta queijeira e na sua degradação se originam diversos compostos aromáticos. Este fenômeno se produz pela desestabilização da solução coloidal de caseína que origina a aglomeração das micelas livres e a formação de um gel em que ficam presos o restante dos componentes do leite (ORDÓÑEZ, 2005).

#### 3.3 Origem do queijo

O queijo é um dos mais antigos alimentos preparados que a história da humanidade registra, tendo seu início antes do nascimento de Cristo. Os egípcios estão entre os primeiros povos que cuidaram do gado e tiveram, no leite e no queijo, um ponto importante de sua alimentação (ALBUQUERQUE, 2002).

A sua descoberta sem dúvida foi por acidente. A versão mais conhecida é atribuída a um mercador árabe, que em uma de suas provisões de viagem, armazenou o leite em bolsas produzidas com estômago de bezerro. O mercador não demorou para verificar, com sobressalto, que o leite havia desaparecido e em seu lugar, dentro das bolsas, havia uma pasta semi-sólida e um líquido amarelo. O que o mercador considerou na ocasião, como um infeliz acidente, converteu-se em um grande sucesso para a humanidade (AQUARONE, 2001).

A produção de queijos no Brasil iniciou-se com a colonização portuguesa, quando da produção de um queijo fresco muito similar ao da Serra da Estrela em Portugal. Na segunda metade do século XVIII, durante a corrida do ouro nas serras mineiras, o leite produzido pelos rebanhos destinados à alimentação dos pioneiros passou a ser utilizado nas fazendas para a produção de queijo Minas. Com a vinda dos imigrantes dinamarqueses e holandeses para o Brasil e seu estabelecimento no estado de Minas Gerais, iniciou-se a produção de um queijo semelhante ao Dambo dinamarquês e ao Gouda holandês, denominado queijo Prato (AQUARONE, 2001).

#### 3.4 Composição e valor nutricional dos queijos

O queijo é normalmente referenciado como sendo um concentrado proteicogorduroso. O teor de umidade varia com o tipo de queijo e está diretamente relacionado com a consistência e ao seu tempo de vida útil. Quanto mais seco o queijo, mais duro e maior é seu tempo de conservação (AQUARONE, 2001).

Os queijos possuem toda a caseína do leite e um pouco da albumina e dos minerais (ALBUQUERQUE, 2003). Além de ser um alimento rico em proteínas, é uma fonte rica de vitamina A e em sais minerais, como o cálcio e o fósforo. Os queijos

produzidos a partir da coagulação enzimática possuem um maior teor de minerais que os produzidos por coagulação ácida (AQUARONE, 2001).

Segundo a Associação Brasileira da Indústria de Queijos (ABIQ, 2013) a composição nutricional dos queijos depende, em grande parte, do leite e da tecnologia utilizados, sendo que os principais nutrientes são:

#### Proteínas

O teor de aminoácidos essenciais das proteínas dos queijos lhes confere um alto valor biológico e uma digestibilidade próxima a 95%. Em outras palavras, as proteínas dos queijos são absorvidas quase integralmente na altura do intestino e fornecem ao organismo os aminoácidos necessários ao seu desenvolvimento.

#### Cálcio

Os benefícios do cálcio sobre a formação dos dentes, ossos e cartilagens e na prevenção da osteoporose já estão amplamente demonstrados. Os queijos são uma excelente fonte de cálcio. No entanto, a presença desse mineral varia em função do teor de umidade e da técnica de fabricação dos queijos. Os queijos frescos têm teores mais baixos, já os queijos de massa prensada cozida chegam a apresentar até mais de 1.200 mg/100 g de produto. O cálcio dos queijos é particularmente bem absorvido — o coeficiente de absorção é de aproximadamente 33%, semelhante ao do leite. Sua biodisponibilidade é favorecida pela presença simultânea de fósforo e pela presença de peptídeos que foram identificados como transportadores de cálcio.

#### Vitaminas

O teor de vitaminas lipossolúveis dos queijos (A, D e eventualmente E), depende do teor de lipídios. Já o teor de vitaminas hidrossolúveis (grupo B) varia consideravelmente dependendo do tipo de queijo. O teor de vitaminas resulta de dois fatores antagônicos: a perda na fase de dessoragem e o enriquecimento durante o processo de maturação. A maioria dos queijos fornece quantidades consideráveis de ácido fólico (vitamina B9) e de retinol (vitamina A), por outro lado são pobres em vitamina C.

#### • Outros minerais e oligoelementos

Os queijos são também importante fonte de zinco (2 a 10 mg/100 g), de iodo e de selênio. Alguns fornecem quantidades não desprezíveis de potássio (entre 100 e 200 mg/100g). O teor de fósforo é, em geral, próximo do teor de cálcio, e a relação Ca/P (próxima a 1,3) é particularmente favorável ao aproveitamento do cálcio. A maioria dos queijos é pobre em magnésio (de 10 a 50 mg/100 g).

#### • Lipídios

Os lipídios conferem aos queijos sua cremosidade e, alguns ácidos graxos livres formados durante a maturação, contribuem para a formação do aroma. Os lipídios dos queijos encontram-se sob a forma de emulsão, o que os torna particularmente fáceis de serem digeridos. Os queijos são compostos de uma mistura de ácidos graxos saturados, mas também mono e poliinsaturados. O teor de ácidos graxos trans dos queijos depende fundamentalmente do leite utilizado e da região produtora. Além disso, nos queijos estão presentes dois ácidos graxos trans: o ácido vacênico e o ácido rumênico, os quais têm efeitos benéficos à saúde (prevenção de câncer, aterosclerose e ação imunológica).

#### 3.5 Classificação dos queijos

Os queijos podem ser classificados em frescos e maturados. O queijo fresco é aquele que está pronto para o consumo logo após a sua fabricação, enquanto o queijo maturado é aquele que sofreu trocas bioquímicas e físicas necessárias e características da variedade do queijo (BRASIL, 1996). Quanto ao tratamento dado à massa, os queijos classificam-se em: queijos de massa cozida, massa semi-cozida, massa crua, massa filada e queijos processados (SEBRAE, 2008).

Os queijos também podem ser classificados de acordo com o conteúdo de matéria gorda no extrato seco (%) e de acordo com o conteúdo de umidade (%) (BRASIL, 1996) (Tabela 2).

Tabela 2. Classificação dos queijos de acordo com o conteúdo de matéria gorda no extrato seco (%) e conteúdo de umidade (%).

Conteúdo de Gordura no extrato seco (%)			
Extra Gordo ou Duplo Creme	mín.60		
Gordos	45,0-59,9		
Semi-gordo	25,0-44,9		
Magros	10,0-24,9		
Desnatados	máx. 10,0		
Conteúdo de umidade (%)			
Baixa umidade (massa dura)	máx.35,9		
Média umidade (massa semi-dura)	36,0-45,9		
Alta umidade (massa branda ou "macios")	46,0-54,9		
Muito alta umidade (massa branda ou "mole")	mín.55,0		

Fonte: Brasil (1996), com adaptações.

#### 3.6 Processo geral de fabricação de queijos

#### 3.6.1 Matéria-prima

A matéria-prima utilizada na fabricação do queijo é o leite, sendo o de vaca o mais utilizado. Para alguns tipos específicos de queijos utilizam-se outros leites, como o de ovelha para a fabricação de queijo Roquefort, leite de búfala para a fabricação de queijo mussarela e leite de cabra para a fabricação de queijos tipo Cabichou e Sainte-Maure. Alguns tipos específicos de queijo como a ricota, são produzidos a partir do soro (AQUARONE, 2001).

Segundo Scott (2002) pode haver uma variação na composição do leite, dependendo da raça, tempo de lactação, idade, saúde animal, clima, estações do ano e práticas de manejo, o que acarretará em uma variação na composição final do queijo. O leite deve ser de boa qualidade microbiológica para evitar fermentação e reações enzimáticas indesejáveis, e em todo o caso, ser ausente de agentes inibidores, como antibióticos, que podem afetar negativamente os cultivos adicionados (ORDÓÑEZ, 2005).

#### 3.6.2 Pasteurização

Segundo Scott (2002) a pasteurização do leite é uma etapa opcional na fabricação de queijos. É obrigatória para destruir potencialmente os microrganismos patogênicos presentes no leite cru, e assim, assegurar a saúde do consumidor, quando os adquire com prazo de maturação inferior a dois meses. Em geral admite-se que os microrganismos patógenos não sobrevivem no queijo após este tempo.

Quando a temperatura de pasteurização é superior a 80 °C, há um aumento no rendimento da produção de queijo, pois a lactoalbumina e a lactoglobulina coagulam e são retidas pela caseína. Além do aumento de rendimento da ordem de 4% a 5%, há também uma melhora no valor nutritivo do queijo pela incorporação das citadas proteínas. O tratamento térmico, além das vantagens, também apresenta certos inconvenientes, como, por exemplo: dificuldade de dessoramento liberação dos grupos-SH e formação de substâncias redutoras que influem no desenvolvimento das bactérias lácticas; rompimento do equilíbrio fósforo-cálcio do leite como o empobrecimento dos sais solúveis de cálcio com consequente dificuldade de coagulação (ORDÓÑEZ, 2005).

#### 3.6.3 Adição dos ingredientes

O leite perde algumas de suas propriedades coagulantes após a pasteurização. Parte do cálcio solúvel é perdido durante o tratamento térmico, o que implica atraso no tempo de coagulação (ORDOÑEZ, 2005). De acordo com Aquarone (2001) para evitar isso é necessário se adicionar cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>) ao leite, normalmente em proporções de 20 g/100 L de leite, garantindo uma melhor coagulação. Teores elevados de cloreto de cálcio, acima de 40g/100 litros de leite, podem resultar no aparecimento de sabor amargo no queijo.

Nos queijos produzidos por coagulação enzimática, o coalho é o agente responsável pela coagulação do leite (AQUARONE, 2001). O coalho de bezerro, constituído principalmente por quimosina, é o coagulante padrão para queijos, mas a alta demanda da indústria e o seu alto custo levaram ao uso de outros coalhos, como o de bovinos adultos e os microbianos (VASCONCELOS; ARAÚJO; VERRUMA-BERNARDI, 2004). Como uma outra alternativa para o coalho de bezerro, surgiu no

mercado o chamado "coalho genético", que é constituído de quimosina pura. A sua obtenção foi possível através da tecnologia do DNA recombinante, que permitiu a clonagem do gene que codifica para a quimosina de bezerro em células de *Escherichia coli, Saccharomyces cerevisae, Aspergillus oryzae, Kluyveromyces lactis, A. nidulans, A. niger* e *Trichoderma reesei* (NEELAKANTAN et al., 1999).

Conforme Aquarone (2001), o tratamento térmico do leite destrói, além dos microrganismos patógenos e dos indesejáveis que produzem gás e alteram o sabor do queijo, as bactérias láticas que exercem papel fundamental no desenvolvimento das características desejadas no queijo durante a cura. A adição do cultivo lático é uma das etapas-chave na elaboração de queijos, principalmente em queijos moles, onde o acúmulo de ácido láctico é imprescindível antes da coagulação (ORDOÑEZ, 2005).

Scott (2002) relata que são cultivos selecionados de acordo com o tipo de queijo, incluindo os *Lactococcus, Leuconostoc e Streptococcus salivarius* subs. *thermophilus*, que fermentam a lactose do leite em ácido lático e diacetil, que é responsável pelo *flavor* característico dos queijos. Durante a maturação, as bactérias morrem e liberam enzimas intracelulares, as quais continuam a atuar nos componentes do queijo para lhe dar características como sabor, aroma, corpo e textura.

#### 3.6.4 Formação da coalhada

Os queijos podem ser obtidos por coagulação ácida, enzimática ou mista. Segundo Ordóñez (2005) a coalhada ácida consiste essencialmente na diminuição do pH do leite, tanto por acidificação com ácido orgânico, ou por adição de culturas produtoras de ácido lático. Esta diminuição do pH determina a solubilização dos sais cálcio e fosfato das micelas de caseínas para a fase aquosa, com desmineralização das caseínas que é total a pH 4,6, o ponto isoelétrico das caseínas. Ao mesmo tempo, há uma desidratação muito profunda das caseínas. Isto por que, quando o ponto isoelétrico é atingido ocorre a neutralização das cargas, e não há mais repulsão eletrostática entre as caseínas, que por peso molecular irão se unir. Ao mesmo tempo a proteína perde polaridade, onde não faz mais ligação com a água, sendo esta perdida da estrutura das micelas de caseínas. Assim não há mais impedimento estérico e estas irão se agregar.

O soro obtido a partir desta coagulação é chamado soro ácido. A coalhada é porosa, frágil, pouco contrátil e difícil de dessorar, predominando em queijos moles. A

temperatura é um dos fatores que mais influencia na coagulação ácida do leite. Em baixas temperaturas, se pode acidificar o leite até o ponto isoelétrico das caseínas, sem que se produza formação de coalho, apenas um aumento na viscosidade do leite. Do mesmo modo as caseínas, em alta temperatura coagulam em pHs menores (ORDÓÑEZ, 2005).

A coagulação enzimática é uma das mais utilizadas no processo de fabricação de queijos, em virtude do seu maior rendimento. Ela se dá próximo ao pH do leite, e desta forma o soro obtido é chamado de soro doce. Quando uma enzima proteolítica é adicionada ao leite, geralmente a quimosina, ela quebra a k- caseína expondo as demais caseínas, que na presença do cálcio coagulam. A coagulação enzimática pode ser dividida em duas fases. Na primeira, a fase enzimática, a enzima quebra a k- caseína na ligação peptídica entre os aminoácidos 105 (Phe)-106 (Met). Ao romper-se, a k- caseína se transforma em dois segmentos: a para k-caseína e o glicomacropeptídeo (GMP). A para k – caseína integra-se com as demais caseínas e o GMP, muito solúvel, separa-se da estrutura micélica e vai para o soro. Na segunda fase, as para k – caseínas se unem ao cálcio solúvel, onde há a expulsão de água e aglomeração das caseínas e consequente formação da coalhada (paracaseinato de cálcio) (AQUARONE, 2001).

A maioria dos queijos são fabricados utilizando-se de coalhadas mistas, que apresentam, em maior ou menor medida, as propriedades da coalhada ácida ou enzimática, dependendo do produto final pretendido, que pode ser um queijo mais duro (predominante enzimática) ou mais mole (predominante ácida) (ORDÓÑEZ, 2005).

#### 3.6.5 Corte da coalhada

Segundo Ordoñez (2005), o corte da coalhada consiste em dividir o coágulo em partes iguais, a fim de expulsar o soro. Em queijos moles, de caráter predominante lático, o corte da coalhada é reduzido, obtendo-se grãos grandes. Quando se deseja elaborar um queijo mais duro, é necessário preparar uma coalhada mais enzimática, e seu corte será mais intenso, em virtude de expulsar mais soro, com grãos menores.

Para efetuar os cortes são utilizadas liras verticais e horizontais, com fios ou lâminas de inox, dispostas equidistantes e paralelas. Pode ser efetuado o corte com liras manuais, ou com liras mecânicas inseridas em cima do tanque, que exercem

movimentos circulares. O corte da coalhada deve ser efetuado no momento exato, que varia para cada tipo de queijo, se realizado antes o queijo terá um rendimento menor em virtude da coalhada frágil, e se realizado depois do ponto o coágulo estará muito rígido, o que dificulta a dessora (AQUARONE, 2001).

#### 3.6.6 Agitação da coalhada

De acordo com Ordóñez (2005), a agitação da coalhada é o movimento contínuo realizado na massa, em que os grãos obtidos durante o corte encontram-se em suspensão. A agitação deve ser muito suave ou nula e de curta duração em queijos moles. Em queijos duros, geralmente o corte, a cocção e a agitação são realizados simultaneamente.

#### 3.6.7 Cocção da coalhada

A cocção da coalhada consiste no tratamento térmico da massa durante o corte. A temperatura afeta diretamente a expulsão do soro, que será maior com a elevação da temperatura, pois favorece a ligação intermicelar, com consequente retração do coágulo. O aumento da temperatura se dá de acordo com cada tipo de queijo, variando desde a coalhada sem nenhum aumento de temperatura, em queijos moles, até chegar a temperaturas de 55 a 60 °C em queijos muito duros (ORDÓÑEZ, 2005).

A cocção pode ser realizada por aquecimento indireto, através da parede dupla do tanque ou por aquecimento direto, através da adição de água quente diretamente sobre os grãos (AQUARONE, 2001).

#### 3.6.8 Dessoramento

Ao atingir o ponto de massa, ocorre a separação do soro, através de drenagem do mesmo. Independentemente do processo de fabricação, o soro deve ser retirado rápido e eficientemente, evitando o descontrole da acidez da massa, que tende a aumentar enquanto se encontra juntamente com o soro (AQUARONE, 2001).

#### 3.6.9 Moldagem

A moldagem é a operação aonde a coalhada é introduzida em moldes de acordo com cada tipo de queijo (ORDÓÑEZ, 2005), com finalidade de unir os grãos e eliminar o restante do soro, de forma a obter um bloco de queijo final (AQUARONE, 2001).

#### 3.6.10 Prensagem

De acordo com Aquarone (2001), com exceção de alguns tipos de queijos de massa crua e alta umidade, imediatamente após a moldagem, os queijos são tampados e levados à prensagem. Esta operação visa unir os grãos da massa e dar origem a um bloco homogêneo, completando a expulsão do soro, conferindo a forma desejada ao queijo e formando a sua casca característica. De acordo com Scott (2002) a prensagem deve ser gradual, porque a compressão súbita a altas pressões na superfície dos queijos cria uma casca dura e impermeável, que faz com que a umidade seja retida em bolsas interiores, dentro dos queijos, que favorecem o crescimento de microrganismos indesejados, como patógenos ou deteriorantes.

#### 3.6.11 Salga

A salga é realizada em todas as variedades, em algum momento de sua fabricação. Sua finalidade é conferir sabor ao queijo, inibir o crescimento de bactérias indesejáveis, potencializar o crescimento das desejáveis e favorecer as mudanças físico-químicas da coalhada. Pode ser aplicado em forma de salmouras, acrescentando sal na massa, ou sal a seco depois do queijo enformado (ORDÓÑEZ, 2005). Segundo Scott (2002) a quantidade de sal depende do tipo de queijo e do percentual de umidade presente na coalhada, especificado em queijos com padrões de identidade e qualidade. O sal é inibidor para algumas bactérias e estimulantes para outras, uma vez que induz o crescimento de grupos de microrganismos diferenciados na coalhada salgada. A quantidade de sal a ser adicionada e o pH da coalhada no momento da salga, são fatores

que controlam a maturação dos queijos, interferindo na características finais dos queijos.

#### 3.6.12 Maturação

É um processo muito complexo durante o qual se modificam características físicas e químicas do queijo e geram substâncias relacionadas com seu sabor e aroma. A operação consiste em submeter os queijos, durante determinado tempo, a temperatura e umidade relativa definidas, em uma câmara específica (ORDÓÑEZ, 2005). As principais transformações que ocorrem durante a maturação são a glicólise, proteólise e lipólise. Segundo Scott (2002), para a obtenção das características específicas de cada queijo, o processo de maturação deve ser feito de maneira controlada, observando e monitorando a temperatura e a umidade relativa da câmara de estocagem.

Aquarone (2001) define a glicólise como sendo o metabolismo de transformação da lactose presente no leite, pelas bactérias ácidas láticas (BAL), em ácido lático que atua na coagulação do leite e outros compostos. Segundo Ordónez (2005) a proteólise é um fenômeno de grande importância, pois afeta tanto a textura, quanto o sabor e o aroma. É um processo gradual, que começa com a ruptura da molécula proteica, causando a fragmentação da molécula original em polipeptídios de tamanhos diversos, até a formação de oligopeptídeos em aminoácidos livres. Além das enzimas coagulantes, as enzimas proteolíticas do próprio leite colaboram para a proteólise.

Na lipólise ocorre à hidrólise dos triglicerídeos, a fração lipídica majoritária, com a liberação de ácidos graxos que se acumulam no meio. A hidrólise da gordura é feita por lipases do leite e por lipases de microrganismos adicionados ao queijo. As modificações sofridas pelo conteúdo lipídico durante a maturação do queijo afetam os sabores e aromas finais do produto (ORDÓÑEZ, 2005).

#### 3.7 Queijo colonial

Por razões histórico-culturais e pelo fato de o Sudoeste paranaense ter sido a última região de fronteira agrícola a ser explorada no Paraná, efetivou-se nessa região uma agricultura familiar e policultivadora, baseada na produção e na transformação artesanal de alimentos no interior da própria unidade produtiva rural, se constituindo no domínio cultural antigo dos gaúchos e catarinenses – descendentes de italianos, alemães e poloneses – que se estabeleceram no Sudoeste do Paraná (FREITAS EDUARDO, 2008).

O queijo colonial surgiu nas colônias do Rio Grande do Sul, fabricado artesanalmente a partir do leite cru para o consumo familiar ou utilização em permutas de mercadorias entre habitantes da região (NEVES, 2007). Este tipo de queijo é considerado um queijo artesanal. Segundo Freitas Eduardo (2008), as principais características dos produtos artesanais é que na maioria dos casos é o fruto de uma transformação em pequena escala, resultando de uma fabricação e valorização da matéria-prima local.

A fabricação caseira continua muito intensa, sendo que o queijo colonial é comercializado em feiras e mercados. No entanto, já existem queijos coloniais industrializados comercializados e consumidos em todo o país (NEVES, 2007).

Segundo Silveira (2006) apud Oliveira (2011), em função do queijo colonial possuir um processo simples de manufatura, constituído basicamente de leite, sal e fermentos láticos, apresenta um custo baixo em sua fabricação. Normalmente passa por um processo de maturação de 30 a 75 dias, que confere a ele características marcantes, como sabor lático levemente picante e ácido, massa interior com textura macia, com olhaduras e cor amarelo pálido, envolvido por uma casca firme amarelo forte. Quanto à forma física, o queijo colonial é descrito como sendo de formato cilíndrico plano, pesando entre 800g e 4 kg. Em se tratando do modo de conservação deste queijo, pode ser armazenado à temperatura ambiente, porém após aberto, deve ser mantido em uma temperatura máxima de 12 °C, com prazo de validade em torno de 6 meses (se armazenado em temperatura ambiente), e até cinco meses (se armazenado abaixo de 12 °C).

#### 3.8 Serviço de Inspeção

O Sistema de Inspeção Federal (SIF) é um sistema de controle do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que avalia a qualidade dos produtos de origem animal sob o aspecto sanitário e tecnológico, oferecidos ao mercado consumidor. Os produtos devem possuir o carimbo do Serviço de Inspeção Federal para atestar a qualidade sanitária e estar em conformidade com a legislação. A marca SIF está presente em mais de 180 países, deixando o Brasil entre os grandes exportadores mundiais de produtos de origem animal. São mais de quatro mil estabelecimentos que abastecem o mercado interno e o exterior com mais de 15 mil produtos registrados (BRASIL, 2013).

O Serviço de Inspeção do Paraná (SIP) é uma Divisão do Departamento de Fiscalização (DEFIS) da Secretaria da Agricultura e do Abastecimento (SEAB) do Paraná, sendo responsável pelo registro e fiscalização das empresas que produzam matéria prima, manipulem, beneficiem, transformem, industrializem, preparem, acondicionem, embalem produtos de origem animal e que fazem a comercialização intermunicipal, que é dada dentro do estado do Paraná. Tem por finalidade promover a manutenção e a preservação da qualidade higiênico-sanitária dos produtos de origem animal (PARANÁ, 2013).

O Serviço de Inspeção Municipal – Produtos de Origem Animal (SIM/POA) de Francisco Beltrão-PR foi criado em 1996, tornando obrigatória a prévia inspeção e fiscalização dos produtos de origem animal produzidos no município e destinados ao consumo humano dentro dos limites de sua área geográfica (FRANCISCO BELTRÃO, 2013).

A criação do SIM/POA veio da necessidade de assegurar ao consumidor de produtos "tipo colonial" uma garantia de que aquele produto foi produzido dentro de normas higiênico-sanitárias satisfatórias, já que até a criação do Serviço de Inspeção Municipal era grande o número de produtores que comercializavam seus produtos sem nenhum tipo de controle, o que colocava a saúde dos seus consumidores em risco devido ao grande número de enfermidades que podem ser transmitidas por alimentos produzidos sem os devidos cuidados higiênico-sanitários. Em Francisco Beltrão existem 5 agroindústrias fabricantes de queijo com inspeção municipal, com um total de 20

colaboradores e uma produção anual de 2.880 Kg de queijo (FRANCISCO BELTRÃO, 2013).

#### 3.9 Microrganismos contaminantes em queijos

#### 3.9.1 Mesófilos Aeróbios

A contagem de mesófilos aeróbios detecta o número de bactérias facultativas e mesófilas (35-37°C) presentes em um alimento tanto de forma vegetativa quanto esporulada (SIQUEIRA, 1995 apud SILVA, 2002). No leite pasteurizado, a contagem de mesófilos aeróbios corresponde aos microrganismos termodúricos, que resistiram à pasteurização, e à recontaminação após o processamento (QUEVEDO et al., 2006).

A contagem total de Aeróbios Mesófilos em Placas é o método mais utilizado como indicador geral de população bacteriana em alimentos. Não diferencia tipos de bactéria, sendo utilizadas para se obter informações sobre a qualidade do produto, práticas de manufatura, matérias-primas utilizadas, condições de processamento, manipulação e vida de prateleira (SILVA, 2007).

#### 3.9.2 Bolores e Leveduras

Os bolores e leveduras constituem um grande grupo de microrganismos, a maioria originária do solo ou do ar (SILVA, 2007). Os bolores, ou mofos, são fungos filamentosos multicelulares, que crescem na forma de uma massa disforme que se espalha rapidamente, podendo cobrir muitos centímetros quadrados em dois a três dias (JAY, 2005). De acordo com Silva (2007), estes são extremamente versáteis; a maioria das espécies é capaz de assimilar qualquer fonte de carbono derivada de alimentos. A maioria também é indiferente com relação às fontes de nitrogênio, podendo utilizar tanto nitrato, íons de amônia ou nitrogênio orgânico.

As leveduras são fungos cuja forma predominante é unicelular, não sendo homogêneas e sua classificação não é estável. Algumas são bastante alongadas formando filamentos semelhantes às hifas dos bolores (FRANCO, 2008). As leveduras,

de maneira geral, são mais exigentes que os bolores, muitas são incapazes de assimilar nitrato e carboidratos complexos, algumas exigem vitaminas (SILVA, 2007).

Os bolores e leveduras são muito resistentes a condições adversas, como pH ácido e atividade de água baixa. A maioria das leveduras apresenta atividade de água mínima de crescimento na faixa de 0,88 e a maioria dos bolores na faixa de 0,80. Com relação ao pH os fungos são muito pouco afetados pela variação do pH entre 3,0 e 8,0, sendo que vários bolores crescem abaixo de pH 2,0 e diversas leveduras em pH 1,5 (SILVA, 2007).

A temperatura ótima de crescimento dos fungos encontra-se na faixa de 25 a 30°C, não crescendo bem em temperaturas mesófilas (35-37°C) e raramente em temperaturas de bactérias termotolerantes (45°C) (FRANCO, 2008).

Segundo Silva (2007), os bolores deteriorantes em alimentos exigem oxigênio para o crescimento, podendo ser considerados aeróbios restritos. Ao contrário dos bolores, muitas espécies de leveduras são capazes de crescer na completa ausência de oxigênio e em diferentes concentrações de gás carbônico. Os principais fungos que causam deterioração de leite e queijos são: as leveduras *Kluyveromyces*, *Sacharomyces*, *Candida* e *Pichia* (FRANCO, 2008).

A presença de bolores e leveduras em queijos é, na maioria dos casos, indesejável. Quanto maiores as contagens desta classe de deteriorantes, maiores são as deficiências de higiene na planta de processamento. A presença de bolores e leveduras viáveis em um índice muito elevado nos alimentos pode indicar condições higiênico-sanitárias insatisfatórias de equipamentos, multiplicação no produto em decorrência de falhas no processamento ou estocagem e matéria-prima com contaminação excessiva (FRANCO, 2008)

Para controle de bolores e leveduras é necessário excelente higiene da planta de processamento, pois estes deteriorantes são contaminantes amplamente distribuídos no ambiente (ZACARCHENCO, 2011).

#### 3.9.3 Coliformes Totais e Termotolerantes

Os coliformes são indicadores de falha de processo ou de contaminação pósprocesso em alimentos pasteurizados, porque são facilmente destruídos pelo calor e não devem sobreviver ao tratamento térmico. O grupo dos Coliformes Termotolerantes é um subgrupo dos coliformes totais, composto por bactérias da família *Enterobacteriaceae*, capazes de fermentar a lactose, com produção de gás, quando incubados a 44 – 45,5°C, por 24 horas. A pesquisa de coliformes termotolerantes nos alimentos fornece informações concretas sobre as condições higiênicas do produto e melhor indicação da eventual presença de enterobactérias originárias do trato intestinal (*Escherichia coli*), e várias outras cepas de origem não fecal como (*Klebsiella, Enterobacteraggomerans, Enterobactercloacae, Citrobacterfreundii*). A *Escherichia coli* (E. *coli*) é um indicador de contaminação fecal em alimentos "in natura", por ser um habitante obrigatório do trato intestinal de animais de sangue quente, podendo ser encontrados em reservatórios ambientais (SILVA, 2007).

#### 3.9.4 Staphylococcus coagulase positiva

As bactérias do gênero *Staphylococcus* são cocos Gram-positivos pertencentes à família *Micrococcaceae*. São anaeróbios facultativos, com maior crescimento sob condições aeróbias, quando então produzem catalase. Os estafilococos são bactérias mesófilas apresentando temperatura de crescimento na faixa de 7°C a 47,8°C, sendo que as enterotoxinas são produzidas entre 10°C e 46°C. Os surtos das intoxicações alimentares são provocados por alimentos que estiveram neste intervalo de temperatura, sendo que o período de incubação da intoxicação varia de 30 minutos a oito horas, tendo uma média de duas a quatro horas após a ingestão do alimento contaminado (FRANCO, 2008).

O gênero *Staphylococcus* inclui mais de 30 espécies, sendo que das 18 que são de interesse em alimentos, seis espécies são coagulase positiva e geralmente produzem nuclease termoestável (TNase), que são: *S. aureus* subsp. *anaerobius* e subsp. *aureus*; *S. intermedius*; *S. hyicus*; *S. delphini*; *S. schleiferi* subsp. *coagulans* (JAY, 2005).

Segundo Jay (2005), entre as espécies coagulase positiva, o S. *intermedius* é conhecido por produzir enterotoxina, sendo que essas espécies são encontradas nas fossas nasais e na pele de carnívoros e cavalos, mas raramente em humanos.

O *Staphylococcus aureus* é indicador de falha de cuidados na manipulação dos alimentos, já que pode ser encontrado em seres humanos e animais de sangue quente, estando presente principalmente nas vias nasais, garganta, pele e cabelos, além do úbere de vacas contaminadas, ocorrendo contaminação do leite (SILVA, 2007).

Esse microrganismo pode causar intoxicação alimentar, onde ocorre ingestão de alimentos contendo toxinas microbianas pré-formadas. Estas toxinas são produzidas durante a intensa proliferação dos microrganismos patogênicos no alimento (FRANCO, 2008).

#### 3.9.5 Salmonella sp.

O gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceaee* e compreende bacilos Gram-negativos não produtores de esporos. São anaeróbios facultativos, produtores de gás e ácido a partir de glicose e a sacarose. A temperatura ótima de crescimento é de aproximadamente 38°C e temperatura mínima de crescimento é de 5°C (FORSYTHE, 2002). Segundo Evangelista (2005) a contaminação de salmonelas por via digestiva pode se dar antes, durante e depois do preparo de alimentos, que após a ingestão destes chegam por via linfática aos órgãos onde se multiplicam.

Uma ampla variedade de alimentos contaminados é oriunda de salmonelas, incluindo a carne bovina crua, aves domésticas, ovos, leite e derivados, dentre outros. A contaminação do alimento ocorre devido ao controle inadequado de temperatura, de práticas de manipulação ou por contaminação cruzada de alimentos crus com alimentos processados (EVANGELISTA, 2005).

Esse microrganismo pode causar infecção alimentar, quando são ingeridos alimentos contendo células viáveis de microrganismos patogênicos, pelo qual se aderem à mucosa do intestino humano, colonizando-o. Em seguida pode ocorrer à invasão da mucosa e penetração do intestino, ou ainda a produção de toxinas que alteram o funcionamento do tecido gastrintestinal (FRANCO, 2008).

Os principais sintomas são: diarreia, náusea, dor abdominal, febre branda e algumas vezes, vômitos, dor de cabeça e fraqueza (FORSYTHE, 2002). Os sintomas da gastrenterite ocorridos nas salmoneloses são atribuídos à endotoxina celular libertada de bactérias destruídas e a presença provoca irritação intestinal (EVANGELISTA, 2005).

#### 4 MATERIAL E MÉTODOS

#### 4.1 Coleta e preparo das amostras

Foram coletadas no período de junho a julho de 2013, oito amostras de queijos coloniais na microrregião de Francisco Beltrão-PR. Do total, duas amostras foram de fabricação artesanal (sem inspeção) coletadas em supermercados, sendo de dois produtores diferentes. Duas amostras com inspeção municipal (SIM) foram coletadas em feiras-livres, oriundas de duas queijarias distintas. Duas amostras de queijos com inspeção estadual (SIM) e duas amostras com inspeção federal (SIF) de marcas distintas foram coletadas em supermercados (Tabela 3).

Tabela 3. Amostras de queijos coloniais conforme o tipo de inspeção.

TIPO DE INSPEÇÃO	AMOSTRAS	
Sem Inspeção	SI1	SI2
Inspeção Municipal	IM1	IM2
Inspeção Estadual	IE1	IE2
Inspeção Federal	IF1	IF2

As amostras foram transportadas em caixas hermeticamente fechadas, até o Laboratório de Físico-química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR, câmpus Francisco Beltrão, onde foram realizadas as análises físico-químicas. As análises microbiológicas foram realizadas no laboratório terceirizado LAQUA (Laboratório de Análises Agroindustriais) da UTFPR, câmpus Pato Branco.

As amostras foram mantidas sob refrigeração. No preparo das amostras primeiramente foi removida a casca do queijo com uma faca, tomando porções de diferentes pontos da amostra e foi feita a homogeneização em um gral (IAL, 2008).

#### 4.2 Análises Físico-químicas

As análises físico-químicas de pH, acidez, umidade, cinzas, lipídeos e foram realizadas de acordo com as normas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008) e a análise de

proteínas foi realizada de acordo com o método semi-micro Kjeldahl descrito por Tedesco et al. (1995). O cálculo de gordura no extrato seco foi realizada de acordo com o método de Pereira et al. (2001), o extrato seco desengordurado foi calculado de acordo com o método de Andrade (2006), e o cálculo de carboidrato total foi realizado de acordo com os métodos da AOAC (2005).

#### 4.2.1 pH

Pesaram-se10 g da amostra em um béquer e diluiu-se com auxílio de 100 mL de água. Agitou-se o conteúdo até que as partículas ficassem uniformemente suspensas. O pH foi determinado em pHmetro digital, previamente calibrado.

#### 4.2.2 Acidez em ácido lático

Foram pesados aproximadamente 10g da amostra de queijo colonial e transferidos para um balão volumétrico de 100 mL com álcool 95% neutro. Em seguida completou-se o volume e deixou-se em contato com a solução por 6 horas. Filtrou-se e tomou-se uma alíquota, posteriormente adicionou-se 5 gotas da solução de fenolftaleína e titulou-se com solução de Hidróxido de sódio 0,1M, até coloração rósea.

O cálculo da acidez foi efetuado a partir da seguinte equação (1):

$$\frac{\mathbf{V} \times \mathbf{f} \times \mathbf{0.9}}{\mathbf{A}} = \text{ácido lático (\%, m/m)} \tag{1}$$

Onde:

- V: número de mL de solução de Hidróxido de sódio 0,1 M gasto na titulação;
- f: fator da solução de Hidróxido de sódio 0,1 M;
- A: número de gramas da alíquota da amostra usado na titulação;

#### 4.2.3 Umidade

Primeiramente tararam-se os pesa filtros em estufa a105 °C durante uma hora, e transferiu-se para o dessecador por 15 minutos. Pesaram-se os pesa filtros vazios, após tarados e pesou-se cerca de 2 a 10g de amostra de queijo colonial. Em seguida colocou-

se o pesa filtro em estufa por 3 h, a uma temperatura 105 °C. Passado o tempo, colocaram-se os pesa filtros em dessecador por 15 minutos para esfriar, pesando-os em seguida. Após realizaram-se os cálculos de percentagem da umidade das amostras.

O cálculo da percentagem de umidade foi obtido pela seguinte equação (2):

$$\frac{100 \text{ x N}}{P} = \text{umidade ou substâncias voláteis a 105 °C (\%, m/m)}$$
 (2)

Onde:

- N: número de gramas de umidade (perda de massa em gramas);
- P: número de gramas de amostra.

#### 4.2.4 Proteínas

Pesou-se aproximadamente 0,2 g da amostra de queijo colonial em papel de seda e transferiu-se para tubo de digestão (papel + amostra). Adicionou-se 2 mL de ácido sulfúrico concentrado, 1mL de peróxido de hidrogênio e cerca de 0,7 g da mistura catalítica. Em seguida deixou-se esfriar por 15 minutos e colocou-se no bloco digestor, na capela, elevando gradativamente a temperatura até 375°C. Quando a solução se tornou azul-esverdeada e livre de material não digerido (pontos pretos) aqueceu-a por mais uma hora. Deixou-se esfriar. Adicionou-se 15 mL de água destilada ao tubo de digestão e o ligou imediatamente ao conjunto de destilação. Mergulhou-se a extremidade afilada do refrigerante em 5 mL de ácido bórico 4%, contido em frasco erlenmeyer de 250 mL com 3 gotas do indicador misto (vermelho de metila + verde de bromocresol). Adicionou-se ao frasco que continha a amostra digerida, por meio de um funil com torneira, 10 mL de solução de hidróxido de sódio a 40% até garantir um ligeiro excesso de base. Aqueceu-se à ebulição e destilou-se até obter cerca de 50 mL do destilado. Por fim, titulou-se o excesso de (ácido bórico 4% + destilado) com solução de ácido clorídrico 0,05 M, até a solução mudar a coloração de verde para rósea.

O cálculo da percentagem de proteínas foi obtido pelas seguintes equações (3) e (4):

Equação A: 
$$\frac{V \times N \times f \times 14 \times 100}{m} = \%$$
 (m/m) de nitrogênio total na amostra (3)

Onde:

• V: volume de mL de ácido clorídrico 0,05 M gasto na titulação;

- f: fator de correção padrão;
- N: concentração (mol/L) do padrão (HCl);
- m: massa da amostra (mg);
- P: número de gramas de amostra.

- FE: fator específico para cada alimento (6,38) para leite e derivados;
- N: porcentagem de nitrogênio total na amostra.

#### 4.2.5 Lipídeos

A análise de lipídeos foi realizada pelo método com solvente a quente (Soxhlet). Primeiramente foram pesados de 2 a 5 g de amostra de queijo colonial em papel filtro e fechado cuidadosamente. Transferiu-se o papel filtro com a amostra para o aparelho de Soxhlet, em seguida pesou-se um balão de fundo chato, limpo e seco. Acoplou-se o extrator ao balão de fundo chato previamente tarado.

Na sequência adicionou-se éter de petróleo em quantidade suficiente para um Soxhlet e meio. Adaptou-se a um refrigerador de bolas. Manteve-se a amostra em aquecimento em chapa elétrica, à extração contínua por cerca de 8-16 horas. Retirou-se o papel filtro com a amostra de queijo colonial e destilou-se o éter restante, transferindo o resíduo extraído para uma estufa a 105 °C. Por fim resfriou-se em dessecador até temperatura ambiente. Repetiu-se a operação de aquecimento por 30 minutos e resfriamento até peso constante.

O cálculo do índice de extrato seco etéreo foi obtido pela seguinte equação (5):

$$\frac{100 \text{ x N}}{P} = \text{extrato seco etéreo (\%, m/m)}$$
 (5)

Onde:

- N: número de gramas de lipídeos;
- P: número de gramas de amostra.

#### 4.2.6 Gordura no extrato seco (GES)

A determinação do teor de gordura no extrato seco foi realizada de modo indireto, por meio da razão entre o teor de gordura e o teor de extrato seco total do queijo, conforme a equação (6).

$$GES = G/ES \times 100 \tag{6}$$

Onde:

- GES: teor de gordura no extrato seco em (%);
- G: teor de gordura na amostra em (%);
- ES: teor de extrato seco total na amostra em (%).

#### 4.2.7 Extrato Seco Desengordurado (ESD)

O extrato seco desengordurado foi obtido por cálculo, da seguinte forma:

#### 4.2.8 Cinzas

Primeiramente identificaram-se os cadinhos com as amostras, estes previamente tarados em estufa a 105°C e resfriados em dessecador até a temperatura ambiente e pesou-o em seguida. Pesou-se aproximadamente 5 a 10g de amostra de queijo colonial, e colocou-se no cadinho de porcelana. Em seguida carbonizou-se a amostra de queijo colonial em chapa de aquecimento, evitando o superaquecimento e a formação de chama, e incinerou-se em mufla a 550 °C. Posteriormente resfriou-se em dessecador até temperatura ambiente e pesou-se a amostra. Por fim, realizaram-se os cálculos para determinar-se o percentual de cinzas nas amostras, levando-se em consideração o valor do cadinho inicial e final.

O cálculo da percentagem de cinzas foi obtido pela seguinte equação (8):

$$\frac{100 \text{ x N}}{P} = \text{cinzas (\%, m/m)} \tag{8}$$

Onde:

• N: número de gramas de cinzas;

• P: número de gramas de amostra.

#### 4.2.9 Carboidratos Totais

Os carboidratos totais foram obtidos por diferença, através da seguinte equação (9):

**Carboidratos totais** (%) = sólidos totais – (lipídeos, proteínas, cinzas) (9)

#### 4.3 Análises Microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas de acordo com a metodologia estabelecida pela Instrução Normativa nº 62/2003 do MAPA (BRASIL, 2003).

#### 4.3.1 Mesófilos Aeróbios

Foram pesados 25g de cada amostra de queijo colonial, homogeneizando-as em 225 mL de água peptonada 0,1%, para a realização de diluições decimais. Homogeneizou-se por 60 segundos em "stomacher". Esta é a diluição  $10^{-1}$ . A partir desta diluição efetuaram-se as demais diluições desejadas em solução salina peptonada 0,1%.

Semeou-se 1 mL de cada diluição selecionada em placas de Petri estéreis. Adicionou-se cerca de 15 a 20 mL de Ágar Padrão de Contagem (PCA) fundido e mantido em banho-maria a 46-48°C. Homogeneizou-se adequadamente o ágar com o inóculo. Deixou-se solidificar em superfície plana. Em seguida incubaram-se as placas invertidas a  $36 \pm 1$ °C por 48 horas.

Segundo o tipo de amostra em análise, realizou-se a leitura selecionando as placas que continham entre 25 e 250 colônias.

#### 4.3.2 Bolores e Leveduras

Para a análise de bolores e leveduras, pesou-se 25g da amostra de queijo colonial. Adicionou-se 225 mL de solução salina peptonada 0,1%. A partir da diluição inicial 10<sup>-1</sup>, efetuaram-se as diluições desejadas.

Em seguida inoculou-se 0,1 mL das diluições selecionadas sobre a superfície seca de ágar batata glicose 2% acidificado a pH 3,5. Com o auxílio de alça de Drigalski ou bastão do tipo "hockey", espalhou-se o inóculo cuidadosamente por toda a superfície do meio, até sua completa absorção. Utilizaram-se no mínimo três diluições decimais ou triplicata da mesma diluição.

Incubaram-se as placas, sem inverter, a  $25 \pm 1$  °C, por 5 a 7 dias, em incubadora de B.O.D. Selecionaram-se as placas que continham entre 15 e 150 colônias.

#### 4.3.3 Coliformes Totais e Termotolerantes

Primeiramente foi preparada a primeira diluição (10<sup>-1</sup>), pesando 25g de cada amostra de queijo colonial e colocando-a em um erlenmeyer. Em seguida adicionou-se 225 mL de solução salina peptonada 0,1%. Em seguida pipetou-se 1mL da solução inicial 10<sup>-1</sup> e colocou-se em um tubo com 9 mL de solução salina peptonada 0,1%. Procedeu-se pipetando 1mL da diluição 10<sup>-2</sup> e adicionando a um tubo contendo 9 mL da solução salina 0,1%. Realizou-se este procedimento de acordo com as diluições desejadas.

Em seguida realizou-se o teste presuntivo, pelo qual inoculou-se 1 mL da amostra de cada diluição em tubos no caldo lauril sulfato de sódio, de 24 a 48 h a 35°C. A presença de coliformes é evidenciada pela formação de gás nos tubos de Durhan, produzido pela fermentação da lactose. O teste confirmativo procedeu-se pela inoculação de uma alçada dos tubos positivos, em caldo verde brilhante bile lactose 2% e posteriormente incubou-os a 36°C.

Para a confirmação de coliformes termotolerantes inoculou-se uma alçada dos tubos positivos da prova presuntiva, em caldo *Escherichia Coli* (EC), por 24 a 48 horas à temperatura de 45°C. O resultado foi expresso em NMP/g de amostra de queijo colonial.

# 4.3.4 Staphylococcus coagulase positiva

Para a análise de *Staphylococcus* foram pesados 25g de cada amostra de queijo colonial, homogeneizando-as em 225 mL de água peptonada 0,1%, para a realização de diluições decimais. A alíquota de 1mL foi distribuída em duas placas contendo Ágar Baird-Parker e semeada com o auxílio da alça de Drigalski. Incubaram-se as placas por 48 horas a 36°C, para o crescimento bacteriano.

Para o teste confirmativo, selecionou-se de 3 a 5 colônias de cada tipo, T (negras brilhantes com anel opaco e com um halo claro) e A (negras brilhantes sem halos) e semeou-se cada colônia em tubos contendo meio *Brain heart infusion* (BHI), incubando-as por 24 horas à temperatura de 36°C.

Na realização da prova de coagulase, transferiu-se 0,3 mL de cada tubo de cultivo BHI, para tubos estéreis contendo 0,3 mL de plasma de coelho. Incubaram-se os tubos a 36°C, por 6 horas.

Verificou-se a presença dos coágulos, considerando os seguintes critérios:

- Reação Negativa: Não formação de coágulo;
- Reação 1+: Coágulo pequeno e desorganizado;
- Reação 2+: Coágulo pequeno e organizado;
- Reação 3+: Coágulo grande e organizado;
- Reação 4+: Coagulação de todo conteúdo do tubo, que não se desprenderá quando o tubo for invertido.

Nos casos que a reação de coagulação foi do tipo 3+ e 4+ considerou-se a prova positiva para *Staphylococcus aureus*, nos casos onde ocorreu as reações 1+ e 2+, considerou-se prova negativa para *Staphylococcus aureus*.

## 4.3.5 Salmonella sp.

Na análise de Salmonella sp., pesou-se 25g de amostra de queijo colonial e diluise em solução salina peptonada 1% e tamponada com 1% de Tween 80, por ser um produto gorduroso. Em seguida, realizou-se o pré-aquecimento do meio de incubação das alíquotas, de 16 horas até no máximo 20 horas.

Na sequência enriqueceu-se o meio pipetando 1mL das alíquotas pré-aquecidas e

adicionando a um tubo contendo 10 mL de caldo selenito cistina. Incubaram-se os tubos em banho-maria, com temperatura de 41°C por 24 – 30 horas. Realizou-se o mesmo procedimento para o meio de enriquecimento tetrationado.

Após este período de incubação, a partir dos caldos seletivos, repicou-se sobre a superfície previamente seca de placas com cada meio sólido seletivo, estriando-se de forma a obter colônias isoladas. Desta forma foram obtidas 2 placas de Ágar Verde Brilhante Modificado (BPLS), uma oriunda do caldo de enriquecimento selenito sistina e outro do caldo tetrationado. Incubaram-se as placas invertidas à temperatura de 36°C por 18-24 horas.

As amostras caracterizadas com suspeita de *Salmonella*, inoculadas no Ágar BPLS, com características de colônias incolores ou de coloração rosada, entre translúcidas e ligeiramente opacas, ou então cor verde-amarela na presença de microrganismos fermentadores de lactose, foram selecionadas (de 3 a 10) e repicadas em ágar não seletivo e incubadas à temperatura de 36°C de 18 a 24 horas a fim de verificar sua pureza. Por fim seguiu-se com as demais provas bioquímicas para a identificação de *Salmonella*, como:

- Prova de urease: semeou-se maciçamente em caldo ou ágar ureia, incubando-a por 18 a 24 horas a 36°C.
- Caso negativo para a produção de urease inoculou-se o ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) através de picada profunda e estriamento na superfície do bisel. Em seguida incubou-o a 36°C, de 18 a 24 horas.

## 4.3.6 Análise Estatística

Os resultados das análises físico-químicas dos queijos analisadas foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a 5% de probabilidade, e teste de Tukey, através do *software* Statistica, versão 7.0 (2004, Statsoft, Inc, Tulsa, Ok, EUA). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

# **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

## 5.1 Análises Físico-químicas

Atualmente existem laticínios registrados no MAPA e com inspeção que elaboram queijos coloniais. Geralmente, na fabricação industrial ocorre o emprego de boas práticas de fabricação, a adição de culturas lácticas para uma padronização e uniformidade dos queijos e o leite utilizado é pasteurizado a fim de atender a legislação, uma vez que estes queijos geralmente são consumidos frescos. Isso nem sempre ocorre quando os queijos coloniais são produzidos artesanalmente.

Um fator relevante observado a partir das análises físico-químicas dos queijos coloniais é a falta de padronização do processo de fabricação, ocasionando a oferta de diferentes produtos ao consumidor.

A Tabela 4 apresenta os resultados das análises físico-químicas das amostras de queijos coloniais com e sem inspeção da microrregião de Francisco Beltrão.

Tabela 4. Análises físico-químicas das amostras de queijos coloniais com e sem inspeção, da microrregião de Francisco Beltrão-PR.

Tipo de inspeção	pН	Acidez (% ác. lático)	Umidade (%)	Proteínas (%)	Lipídeos (%)	GES (%)	ESD (%)	Cinzas (%)	Carboidratos totais (%)
SI1	5,48±0,01 <sup>de</sup> (0,18)	0,09±0,01° (6,19)	48,09 ±0,07 <sup>a</sup> (0,15)	16,74±0,19 <sup>f</sup> (1,14)	$24,05 \pm 0,92^{b}$ (3,82)	46,33±0,04 <sup>ab</sup> (0,10)	27,86 ±0,12 <sup>f</sup> (0,44)	4,51±0,03 <sup>d</sup> (0,63)	6,62±0,23 <sup>a</sup> (3,97)
SI2	$5,74\pm0,01^{b}$ (0,17)	0,09±0,01° (11,95)	$47,94 \pm 0,18^{a}$ (0,38)	19,89±0,83 <sup>e</sup> (4,18)	19,33±0,58 <sup>d</sup> (2,99)	$37,14 \pm 0,13^{\rm f}$ (0,35)	$32,73 \pm 0,81^{\circ}$ (2,46)	6,99±0,41 <sup>a</sup> (5,83)	5,85±0,62 <sup>abc</sup> (10,58)
IM1	5,41±0,01 <sup>e</sup> (0,11)	0,09±0,01° (11,09)	47,51 ±0,29 <sup>a</sup> (0,69)	22,12±0,17 <sup>cd</sup> (0,35)	21,36±0,33° (1,51)	40,68±0,12 <sup>de</sup> (0,29)	31,14±0,33 <sup>de</sup> (1,06)	4,03±0,06 <sup>de</sup> (1,44)	4,99±0,59 <sup>bc</sup> (11,86)
IM2	$5,53\pm0,02^{cd}$ (0,28)	0,10±0,01° (9,47)	$47,67 \pm 0,46^{a}$ (0,96)	21,24±0,27 <sup>d</sup> (0,56)	22,11±0,19° (0,87)	42,17±0,29 <sup>cd</sup> (1,34)	30,18±0,36 <sup>e</sup> (1,18)	3,58±0,18 <sup>ef</sup> (4,96)	5,40±0,15 <sup>abc</sup> (2,83)
IE1	5,90±0,01 <sup>a</sup> (0,10)	$0,32\pm0,05^{b}$ (15,25)	$42,02 \pm 0,16^{c}$ (0,37)	$22,48 \pm 0,62^{\circ}$ (2,74)	$25,56\pm0,62^{ab}$ (2,43)	44,09±0,19 <sup>bc</sup> (0,86)	$32,42\pm0,66^{\text{cd}}$ (2,03)	$3,46\pm0,19^{\rm f}$ (5,61)	6,48±0,03 <sup>ab</sup> (0,49)
IE2	5,58±0,01° (0,18)	0,51±0,04 <sup>a</sup> (7,27)	$42,68 \pm 0,01^{bc}$ (0,03)	$22,07 \pm 0,32^{cd}$ (1,44)	26,95±0,80 <sup>a</sup> (2,95)	$47,01 \pm 0,51^{a}$ (1,07)	$30,38\pm0,05^{e}$ (0,17)	$3,06\pm0,02^{\mathrm{f}}$ (0,70)	5,25±0,44 <sup>abc</sup> (8,37)
IF1	5,57±0,06° (1,12)	0,54±0,03 <sup>a</sup> (4,95)	$37,52 \pm 0,45^{d}$ (1,19)	$28,35 \pm 0,20^{a}$ (0,70)	24,02±0,92 <sup>b</sup> (3,83)	$38,86 \pm 0,23^{ef}$ (0,60)	38,47±0,80 <sup>a</sup> (2,10)	$5,81\pm0,06^{b}$ (0,96)	4,31±0,73° (16,99)
IF2	5,51±0,02 <sup>cd</sup> (0,42)	$0,55\pm0,0^{a}$ $(0,0)$	43,17±0,87 <sup>b</sup> (2,01)	26,71±0,18 <sup>b</sup> (0,67)	22,38±0,72° (3,20)	$39,00\pm0,47^{ef}$ (1,20)	34,45±0,31 <sup>b</sup> (0,91)	5,21±0,08° (1,55)	2,53±0,46 <sup>d</sup> (18,26)

SI – sem inspeção; IM – inspeção municipal; IE – inspeção estadual; IF – inspeção federal.

Resultados expressos como média ± desvio padrão (cv %) (n=3). GES- gordura no extrato seco. ESD – extrato seco desengordurado. cv % – coeficiente de variação (desvio padrão/média) x 100.

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias pelo teste de Tukey (p < 0,05).

#### 5.1.1 pH

O Potencial Hidrogeniônico (pH) consiste num índice que indica a acidez, neutralidade ou alcalinidade de um meio qualquer (SCOTT, 2002). A medida do pH é interessante, pois indica o grau de deterioração dos queijos (CECCHI, 2003), fator importante na determinação da sua vida útil.

A escala do pH varia entre 1 e 14, e um alimento é tanto mais ácido quanto mais baixo for o seu pH. A acidez é um dos parâmetros mais críticos no que diz respeito à segurança alimentar e ao controle de qualidade do processo de fabricação do queijo. O leite tem um pH próximo de 6,8, o que significa que, em termos de acidez, é um meio adequado ao crescimento da maioria das bactérias. A fermentação natural do leite cru, por ação das bactérias lácticas, conduz à redução significativa do pH, cuja diminuição depende do tipo de bactérias lácticas envolvidas e da tecnologia de produção (NORONHA, 2013).

De acordo com Noronha (2013), a redução do pH do queijo, para valores entre 4,5 e 5,5, contribui para a prevenção do crescimento de bactérias patogênicas e da maioria dos microrganismos implicados na deterioração do queijo. A acidez é assim, mais um fator de segurança dos queijos. O pH dos queijos analisados variou de 5,41 a 5,9 (Tabela 4). Os queijos SI2 e IE1 apresentaram os pHs mais elevados. Segundo Scott (2002), o pH elevado pode ser atribuído à alta adição de sal, fator este que também inibe o crescimento de microrganismo.

Segundo Scott (2002), o pH dos queijos varia entre 5,5 - 5,8 para queijos brandos e 5,3 - 5,4 para queijos semiduros. Os valores médios encontrados nos queijos coloniais variaram de 5,41 - 5,74 entre os queijos classificados como brandos/alta umidade (SI1, SI2, IM1 e IM2), e 5,51 - 5,90 para os queijos semiduros/média umidade (IE1, IE2, IF1 e IF2).

Para os queijos classificados como brandos o pH encontrado está em uma faixa semelhante à descrita por Scott (2002), porém para os queijos classificados como semiduros o pH está acima da faixa estipulada. Segundo o mesmo autor, o que pode ter ocorrido é a prensagem ineficiente com muita retenção de soro, a adição excessiva de sal ou a venda do queijo muito fresco.

A partir dos resultados, pode-se observar que não houve uma variação tão grande no pH quanto a observada em trabalhos similares. Junior et al. (2012) avaliaram

diferentes marcas de queijos coloniais comercializados na região sudoeste paranaense e observaram valores médios de pH que variaram entre 3,92 e 5,81.

#### 5.1.2 Acidez em ácido lático

A acidez em queijos é a quantidade de ácido lático de uma amostra que reage com uma base de concentração conhecida (CECCHI, 2003). Segundo Scott (2002), no processo queijeiro, devido ao tamanho dos grãos de coalhada cortados, atividade dos cultivos láticos presentes no leite, quantidade de sal e método de salga, bem como tempo e temperatura dos queijos prensados, existe uma variação de concentração de ácido lático encontrado em cada queijo, que pode variar inclusive, dentro da mesma batelada. À medida que aumenta a concentração de ácido lático, ocorre a diminuição do pH. Porém, não existe uma correlação entre os valores de acidez e pHs encontrados, uma vez que este mede a quantidade de íons hidrogênio no meio (SCOTT, 2002) e a acidez a quantidade de ácido que está disponível para reagir com uma base (CECCHI, 2003).

Os valores de acidez variaram de 0,09 a 0,55 (% ácido lático) (Tabela 4). Podese observar uma grande variação entre as amostras, sendo que as maiores médias foram apresentadas pelas amostras IF2 (0,55%), IF1(0,54) e IE2 (0,51). A amostra IE1, apesar de ser de inspeção estadual, não apresentou resultado semelhante, sendo que a acidez observada foi de 0,32%. As menores médias de acidez foram das amostras sem inspeção e com inspeção municipal; a baixa acidez, aliada à elevada umidade, favorece o crescimento de microrganismos como os coliformes, o que foi confirmado pelas análises microbiológicas destas amostras de queijos (Tabela 5).

Em estudo realizado por Oliveira et al. (2012), na região sudoeste do Paraná, foram encontrados valores médios entre 0,24 e 1,15% de ácido lático. Junior et al. (2012) também com estudos na região, encontraram médias entre 0,35 e 0,87 % de ácido lático. Em comparação com os resultados obtidos, os queijos com inspeção federal e estadual apresentaram valores dentro dos encontrados por outros estudos na região. Em contrapartida, os queijos sem inspeção e com inspeção municipal obtiveram porcentagens abaixo dos descritos por estes autores. Isso pode ser explicado pelos altos índices de carboidratos encontrados nesses queijos, que ainda não foram convertidos em

ácido lático, em virtude de estes queijos encontrarem-se muito frescos. Além disso, segundo Junior et al. (2012), os queijos artesanais, por serem, na maioria das vezes, prensados manualmente, apresentam retenção de soro desuniforme, interferindo na quantidade de lactose eliminada no soro, o que interfere na acidez final.

Outro fator que pode explicar a baixa acidez apresentada pelos queijos sem inspeção e com inspeção municipal é a não utilização de fermento lático pela grande maioria desses laticínios.

#### 5.1.3 Umidade

Segundo Cecchi (2003) os queijos apresentam umidade entre 40-75%, e a determinação de umidade é uma das medidas mais importantes e utilizadas na análise de alimentos, uma vez que está relacionada com a estabilidade, qualidade e composição dos queijos, podendo afetar o tempo de estocagem, embalagem e processamento.

A umidade dos queijos variou de 37,52 a 48,09% (Tabela 4). As amostras que apresentaram as maiores médias foram as sem inspeção e com inspeção municipal. A menor média foi do queijo IF1, com média de 37,52%.

De acordo com a legislação (BRASIL, 1996), quanto à umidade os queijos sem inspeção e com inspeção municipal foram classificados como queijos de alta umidade/massa branda, com umidade entre 46,0 e 54,9 %. Os queijos com Inspeção Estadual e Federal foram classificados como queijos de média umidade/massa semidura, pois apresentaram umidade entre 36,0 e 45,9 %. De acordo com Scott (2002), a variação do teor de umidade se deve ao tipo de prensagem, tamanho dos queijos e o tempo de maturação dos mesmos.

Diferentes resultados foram encontrados por Oliveira et al. (2012) para queijos coloniais da região, onde os teores de umidade variaram entre 63,34% e 79,88%, sendo classificados como queijos com muito alta umidade/massa mole.

Em comparação com os resultados microbiológicos (Tabela 5), os queijos com maior teor de umidade (SI1, SI2 ,MI1 e MI2) apresentaram elevada contaminação microbiana por coliformes totais e termotolerantes. Segundo Cecchi (2003), queijos com maior umidade são mais propícios à contaminação e desenvolvimento microbiano, deteriorando mais rápido e diminuindo a vida de prateleira.

#### 5.1.4 Proteínas

O conteúdo de proteína das amostras variou de 16,74 a 28,35 % (Tabela 4). A amostra SI1 apresentou a menor quantidade de proteínas em relação às demais (p<0,05), sendo que as amostras com inspeção federal obtiveram as maiores médias. A caseína é a principal proteína do queijo, e as diferentes quantidades no produto final se devem à perda proteica durante o processo de dessora (SCOTT, 2002), ocasionando diminuição do rendimento.

Os valores observados para os queijos das inspeções municipal e estadual foram similares ao encontrado em estudo de Oliveira (2011), no qual o percentual proteico variou entre 17,16 – 23,06% e na pesquisa de Junior (2012), cujas médias variaram entre 16,69 - 22,15%.

Já o estudo de Junior, Penteado e Fariña (2010), que avaliou a qualidade do queijo colonial produzido pela agricultura familiar do oeste e sudoeste do Paraná, encontrou variação de 25,03 - 29,80% de proteína, médias altas e com pouca variação em relação aos resultados encontrados. Em contrapartida na pesquisa de Oliveira et al. (2012) encontrou-se quantidades proteicas muito inferiores, entre 5,01 - 7,04%, em queijos coloniais da região sudoeste do Paraná.

As diferenças no percentual de proteínas podem ser decorrentes das etapas de fabricação do queijo, entre elas, o tipo de salga, o tempo de maturação, bem como a quantidade de coalho adicionada à massa, pois se em excesso, pode ocasionar maior proteólise, implicando na redução do teor de proteínas (SPREER, 1991). Desta forma, juntamente com as demais análises físico-químicas realizadas, pode-se observar a falta de padronização do processo de fabricação, o que resulta em produtos com características desuniformes.

## 5.1.5 Lipídeos

Os teores de lipídeos das amostras de queijos coloniais analisadas variaram entre 19,33% e 26,95% (Tabela 4), resultados semelhantes à Lucas et al. (2012) e Oliveira et al. (2012), que em seus estudos, os teores de lipídeos variaram entre 15,43% - 26,53% e 12,06% - 24,12%, respectivamente. Junior et al. (2012) observaram maiores teores de lipídeos em queijos coloniais, com uma variação de 21,12 - 31,32 %.

Devido ao fato de que o queijo colonial não possui regulamento técnico de identidade e qualidade, cada indústria pode definir sua formulação e tecnologia de fabricação, o que interfere no teor de gordura desses queijos. Segundo Costa et al., (1992) a composição do queijo varia com a composição do leite do qual é obtido, que pode apresentar diferenças significativas no seu teor de gordura se o leite for coletado pela manhã ou à tarde. Isso pode ser mais relevante nos queijos sem inspeção e com inspeção municipal, os quais, na maioria das vezes, são fabricados com o teor de gordura original do leite ou ainda é feito um "desnate natural", através da separação da gordura na superfície devido ao repouso do leite por várias horas, sob refrigeração. Esses laticínios não possuem a desnatadeira, equipamento utilizado para padronização do teor de gordura do leite. As empresas com inspeção estadual e federal, na maioria das vezes, fazem essa padronização, pois o creme resultante pode ser comercializado ou ainda utilizado na elaboração de outros derivados.

#### 5.1.6 Gordura No Extrato Seco (GES)

De acordo com Andrade (2006) o teor de gordura de um queijo é melhor analisado quando expresso em relação ao extrato seco total, impedindo-se que ocorram variações ocasionadas por uma eventual perda de umidade. Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos (BRASIL, 1996), os queijos podem ser classificados quanto ao conteúdo de gordura no extrato seco (%).

De acordo com essa classificação, pode-se observar que os queijos com inspeção municipal e federal, uma amostra de inspeção estadual (IE1) e uma sem inspeção (SI2) são classificados como queijos semi-gordos, uma vez que seus conteúdos de gordura no extrato seco estão entre 25,0- 44,9%, estabelecidos pela legislação. Em contrapartida as outras amostras de queijo sem inspeção (SI1) e com inspeção Estadual (IE2), apresentam-se com valores de gordura no extrato seco de 46,33 % e 47,01 % respectivamente, sendo classificadas desta forma como queijos gordos, pois apresentam conteúdo de gordura no extrato seco entre 45,0 - 59,99%.

No estudo de Lucas et al. (2012), foi observada uma variação de gordura no extrato seco de 32,73 - 48,78 %, uma vez que 3 amostras de queijos coloniais foram classificados como gordos e apenas uma amostra classificada como semi-gordo. Já no

estudo de Junior (2012) houve uma variação entre 42,10 - 59,38 % no teor de gordura no extrato seco, sendo que do total de 24 amostras apenas uma pode ser classificada como queijo semi-gordo, sendo as demais classificadas como queijos gordos.

Assim pode-se concluir, observando os resultados encontrados, que não há uma padronização na composição destes queijos, o que influencia na porcentagem final de gordura e umidade e consequentemente na classificação quanto ao teor de gordura no extrato seco.

## 5.1.7 Extrato Seco Desengordurado (ESD)

A variação do nível de proteína do leite é o principal parâmetro que influencia na quantidade de extrato seco desengordurado presente no queijo, o que evidencia a importância deste parâmetro para a avaliação do rendimento industrial dos queijos (RENEAU et al., 1991 apud VERZA, 2012).

Os valores de ESD variaram de 27,86 a 38,47 (Tabela 4). Pode-se observar que a amostra com maior média de (ESD) foi a IF1 (38,47%), seguida pela amostra IF2 (34,45%). Isso se deve ao fato de que estas amostras apresentaram teores elevados de proteínas, o que refletiu em maiores valores de ESD (p<0,05).

#### 5.1.8 Cinzas

Segundo Cecchi (2003), a composição das cinzas pode variar, sendo que nos queijos e produtos lácteos, há a presença de grandes quantidades de cálcio, fósforo e cloretos, devido aos ingredientes utilizados em sua fabricação e à matéria-prima utilizada.

Pode-se observar na Tabela 4 que o teor de cinzas teve uma variação de 3,06% a 6,99%. Tal variação também foi evidenciada no trabalho de Oliveira et al. (2012), cujo teor médio de cinzas variou entre 2,77% a 5,72% nas amostras de queijo.

O conteúdo de cinzas em produtos lácteos pode variar entre 0,7-6,0% (CECCHI, 2003), assim pode-se observar que as amostras de inspeção municipal, estadual, federal e a amostra SI1, estão em conformidade, porém a amostra SI2 está em desacordo, apresentando um valor de 6,99% de cinzas. Bittencourt (2011) atribui o alto teor de cinzas à quantidade de cloreto de sódio (NaCl) adicionado à massa. Essa pode ser a

causa do elevado teor de cinzas da amostra SI2, visto que não há padronização do processo de fabricação no momento da salga. Como não há um padrão de Identidade e Qualidade do processo de produção de queijos coloniais a adição do cloreto de sódio (sal) se dá de maneira diferenciada em cada laticínio ou queijaria.

Outro fator que pode alterar a quantidade de cinzas é a adição de cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>) durante a fabricação dos queijos, o que é prática comum nos laticínios maiores, mas não é realizada para queijos sem inspeção ou com inspeção municipal, o que pode ser a causa do maior teor de cinzas dos queijos IF1 e IF2, cujos teores foram 5,81% e 5,21%, respectivamente. Segundo Ordoñez (2005) o leite perde algumas de suas propriedades coagulantes após a pasteurização. Parte do cálcio solúvel é perdido durante o tratamento térmico, o que implica atraso no tempo de coagulação. O CaCl<sub>2</sub> aumenta o teor de íons Cálcio no leite, acelerando a coagulação da caseína e ajudando a firmar o coágulo. É utilizado, principalmente, quando o teor de proteína no leite não é o ideal (PERRY, 2004).

#### 5.1.9 Carboidratos

Os queijos contêm carboidratos, sendo o principal destes a lactose. Os queijos maturados não contêm quantidades apreciáveis, pois durante o processo de fabricação esta sai com o soro ou é transformada em ácido lático, sendo que os queijos mais frescos são mais ricos neste carboidrato (SCOTT, 2002).

Os valores médios de carboidratos dos queijos analisados apresentaram grande variação, de 2,53 a 6,62% (Tabela 4). Em estudos realizados na região por Oliveira (2011) e Junior et al. (2012), foi observada uma variação de carboidratos entre 1,01-1,60% e 0,55-4,33%, respectivamente. Nota-se que há uma variação considerável entre os valores encontrados nos estudos, o que pode ser atribuído ao processo utilizado na fabricação dos queijos, que interfere na quantidade de soro eliminada e na quantidade de ácido lático presente no produto final, uma vez que queijos mais frescos e com menor dessora possuem maior quantidade de carboidrato (SCOTT, 2002).

## 5.2 Análises Microbiológicas

Os queijos são, em geral, produtos muito manipulados e, por este motivo, passíveis de contaminação, especialmente de origem microbiológica. Estas condições podem ser agravadas quando processados com leite cru, sem o emprego das Boas Práticas e tecnologia adequada, ou sem se observar o tempo mínimo de maturação. A pesquisa microbiológica permite, muitas vezes, inferir as condições sob as quais um produto foi produzido, sendo fundamental ao auxílio na garantia da saúde do consumidor (PINTO, 2009).

Observando o alto consumo de queijos coloniais frescos na região de Francisco Beltrão, os quais na sua maioria, não respeitam o mínimo de 60 dias de maturação como recomenda a legislação (BRASIL, 1996), faz-se necessária a avaliação da qualidade desses queijos, através das análises microbiológicas pertinentes, uma vez que estes podem veicular microrganismos patógenos, que não devem estar presentes, ou ainda outros microrganismos acima da quantidade prevista em legislação, caracterizando-os como alimentos impróprios para o consumo.

Pode-se observar também, que alguns dos queijos são produzidos sem inspeção de nenhuma natureza e comercializados informalmente em feiras livres e até em supermercados, apresentando uma grande procura e aceitação pelos consumidores. Dessa forma, há a preocupação de verificar a qualidade destes queijos, não somente para garantir a saúde dos consumidores, mas também para avaliar se estes produtos, que até então não poderiam ser vendidos de forma alguma, estão ou não de acordo com a legislação. Caso comprovada a sua inocuidade, estes produtos poderiam ser legalizados e comercializados formalmente, o que acarretaria no benefício dos produtores e da economia local.

A qualidade microbiológica dos queijos coloniais está relacionada a vários fatores, como a qualidade da matéria-prima, que é influenciada pela sanidade do rebanho e higiene na obtenção do leite, o beneficiamento, que envolve o preparo da matéria-prima, tratamento térmico, higiene de equipamentos, manipulação e armazenamento, bem como a distribuição do produto e sua conservação (ROOS et al., 2005).

Os resultados das análises microbiológicas dos queijos coloniais, com diferentes esferas de inspeção, comercializados na microrregião de Francisco Beltrão, estão demonstrados na Tabela 5.

Tabela 5. Análises microbiológicas das amostras de queijos coloniais com e sem inspeção, da microrregião de Francisco Beltrão- PR

Tipos de inspeção	Mesófilos aeróbios (UFC/g)	Bolores e Leveduras (UFC/g)	Coliformes totais (NMP/g)	Coliformes T. a 45 °C (NMP/g)	Estafilococos Coagulase Positiva (UFC/g)	Salmonella sp.
SI1	$2,3x10^3$	$1,9x10^3$	>11.000,0	150,0	$<1,0x10^{1}$	Ausência
SI2	$1,1x10^3$	$1,5 \times 10^3$	>11.000,0	1.200,0	$<1,0x10^1$	Ausência
IM1	$2,2x10^3$	$7,6x10^5$	>11.000,0	11.000,0	$<1,0x10^{1}$	Ausência
IM2	$1,6x10^3$	$9,2x10^5$	>11.000,0	>11.000,0	$<1,0x10^1$	Ausência
IE1	$1,5x10^5$	$4,3x10^5$	<3,0	<3,0	$<1,0x10^1$	Ausência
IE2	$1,5 \times 10^5$	$2,5x10^2$	<3,0	<3,0	$<1,0x10^{1}$	Ausência
IF1	$1,5x10^7$	$2,0x10^{1}$	9,2	9,2	$<1,0x10^{1}$	Ausência
IF2	$1,1x10^{7}$	$2,4x10^6$	16,0	15,0	$<1,0x10^1$	Ausência

SI – sem inspeção; IM – inspeção municipal; IE – inspeção estadual; IF – inspeção federal.

O queijo colonial não possui padrão de identidade e qualidade, e desta forma não possui limites estabelecidos quanto à contaminação microbiana, portanto, foi utilizado, a fim de comparação, o Regulamento Técnico Geral para a fixação dos requisitos microbiológicos de queijos (BRASIL, 1996). Foram comparados os parâmetros para queijos com média umidade (IE1, IE2, IF1, IF2) e alta umidade (SI1, SI2, IM1, IM2), segundo a classificação das amostras.

## 5.2.1 Mesófilos aeróbios

A contagem total de Mesófilos Aeróbios é o método mais utilizado como indicador geral de população bacteriana em alimentos (SILVA, 2007), sendo que este grupo inclui a maioria dos contaminantes do leite (PERRY, 2004). As médias encontradas para os queijos analisados variaram de 1,1x10<sup>3</sup> (SI2) a 1,5x10<sup>7</sup> (IF1)

UFC/g. Pode-se observar que os queijos com inspeção estadual e federal, obtiveram maiores médias de contagens que os queijos com inspeção municipal e sem inspeção, fator este que demonstra uma controvérsia, pois quanto maior a inspeção maior o nível de exigência de qualidade no processo, sendo que os resultados apontam melhor qualidade dos queijos com menor inspeção, neste aspecto. Existem poucos estudos na região sobre este grupo de microrganismos, porém Dias (2012) em seu estudo obteve resultados similares, com médias entre 5,0 x 10<sup>2</sup> a 2,25 x 10<sup>5</sup> UFC/g, para queijo colonial. Roos et al. (2005) ao avaliarem queijo colonial obtido em feiras livres na cidade de Três Passos-RS observaram resultados superiores que variaram de 1,5 x 10<sup>7</sup> a 2,5 x 10<sup>10</sup> UFC/g.

Não existe padrão na legislação, porém quanto maior o número de bactérias mesófilas, menor será a vida de prateleira do queijo colonial (PERRY, 2004). Elevadas quantidades de mesófilos em alimentos podem indicar que a matéria-prima utilizada estava altamente contaminada, que o processo foi insatisfatório do ponto de vista higiênico-sanitário ou que os alimentos foram armazenados em condições inadequadas de tempo e temperatura (LEITE JUNIOR et al., 2000).

#### 5.2.2 Bolores e leveduras

Embora não exista padrão normativo de contagem de bolores e leveduras na legislação para queijos, pode-se destacar que a presença de bolores e leveduras contaminantes em queijos é indesejável. Quanto maiores as contagens desta classe de deteriorantes, maiores são as deficiências de higiene na planta de processamento. A presença de bolores e leveduras viáveis em um índice muito elevado nos alimentos pode indicar condições higiênico-sanitárias insatisfatórias de equipamentos, multiplicação no produto em decorrência de falhas no processamento ou estocagem e matéria-prima com contaminação excessiva (ZACARCHENCO, 2011). Segundo Feitosa et al. (2003), esse tipo de contaminação compromete a qualidade e a vida de prateleira do produto, uma vez que bolores e leveduras são potenciais deterioradores de produtos láticos.

Entre as amostras analisadas, houve uma variação nos resultados em relação á contagem de bolores e leveduras, sendo que as médias variaram de  $2,0x10^1$  (IF1) a  $2,4x10^6$  (IF2) UFC/g. Essa diferença de contagens de bolores e leveduras no mesmo tipo

de inspeção (federal) se deve ao fato de serem marcas e empresas diferentes, e assim apresentarem processos de fabricação distintos. Dias (2012) obteve contagens de bolores e leveduras que variaram de 1,89 x 10<sup>4</sup> a 3,00 x 10<sup>5</sup> UFC/g, com pouca variação, em comparação aos resultados obtidos.

As altas contagens de bolores e leveduras encontradas sugerem que se faz necessário um controle maior da produção, em todo o processo, a fim de diminuir esses microrganismos no produto, que diminuíram a sua vida útil consideravelmente. De acordo com Zacarchenco (2011), para controle de bolores e leveduras é necessária excelente higiene da planta de processamento, pois estes deteriorantes são contaminantes amplamente distribuídos no ambiente.

## 5.2.3 Coliformes Totais e Termotolerantes

Os coliformes são indicadores de falha de processo ou de contaminação pósprocesso em alimentos. Os coliformes termotolerantes são um sub-grupo que fornece informações concretas sobre a contaminação e condições higiênicas do produto e melhor indicação da eventual presença de enterobactérias originárias do trato intestinal (*Escherichia coli*) (SILVA, 2007).

De acordo com a legislação, o limite máximo de coliformes a 30° C (totais) para queijos com média umidade é 5.000 NMP/g, enquanto que para queijos com alta umidade o máximo é 10.000 NMP/g (BRASIL, 1996). Dentre as amostras analisadas, 4 estavam acima dos padrões estabelecidos pela legislação para coliformes totais, sendo 2 amostras de inspeção municipal e 2 amostras sem inspeção. Com relação aos coliformes termotolerantes, a legislação estabelece o máximo de 500 NMP/g para queijos com média umidade e 5.000 NMP/g para queijos com alta umidade (BRASIL, 1996). A partir dos resultados, observou-se que 2 amostras estavam em desacordo com os padrões da legislação, sendo ambas de inspeção municipal. As amostras sem inspeção, apesar de terem apresentado elevados valores para coliformes totais não apresentaram contagens acima do estabelecido pela legislação para coliformes termotolerantes. Os queijos com inspeção estadual e federal tiveram contagens baixas tanto de coliformes totais quanto de termotolerantes.

Desta forma, 50% das amostras analisadas foram caracterizadas como impróprias para o consumo, devido à elevada contaminação por coliformes. Essa contaminação indica condições higiênico-sanitárias insatisfatórias no processo, bem como uma possível contaminação pós-fabricação.

Além disso, apesar do fato de que o queijo deve ser feito com leite pasteurizado, nos laticínios com inspeção municipal é utilizada a pasteurização lenta e muitas vezes a eficiência dos equipamentos disponíveis não é adequada. Já em relação aos queijos sem inspeção a grande contaminação pode ser devido à utilização de leite cru, como cita Neves (2007) em seu estudo, o qual já pode estar contaminado. Freitas Eduardo (2008) afirma que a falta de conhecimento de boas práticas de fabricação por parte dos produtores, que o fazem artesanalmente, sem controle do processo de fabricação também pode contribuir para a contaminação.

Variações nas contagens de coliformes também foram encontradas por Dias (2012) e Oliveira (2011), em estudos na região sudoeste do Paraná. Para Oliveira, Bravo e Tonial (2012), de 32 amostras analisadas, 50% encontravam-se acima dos padrões da legislação.

#### 5.2.4 Staphylococcus coagulase positiva

O *Staphylococcus* coagulase positiva é um indicador de falha de manipulação. É encontrado em seres humanos e animais de sangue quente, estando presente principalmente nas vias nasais, garganta, pele e cabelos, além do úbere de vacas contaminadas, podendo ocorrer contaminação do leite. É um microrganismo patógeno causador de intoxicação alimentar (FRANCO, 2008). Segundo a legislação, os queijos com alta e média umidade devem possuir contagens inferiores a 1.000 UFC/g. As médias encontradas foram de < 1,0 x 10<sup>1</sup> UFC/g para todas as amostras analisadas, sendo que todas (100%) estão abaixo do máximo exigido pela legislação, desta forma aptas para o consumo. Resultados similares foram observados no estudo de Oliveira (2011), onde todas as amostras estavam em concordância com a legislação. Em contrapartida, em pesquisas realizadas por Antonello (2012) e Oliveira, Bravo e Tonial (2012), 82,14% e 100% das amostras, respectivamente, apresentaram números

superiores a 5x10<sup>3</sup> UFC/g, estando acima dos valores máximos estabelecidos, o que oferece perigo à saúde dos consumidores.

A inocuidade do queijo colonial em relação à presença de *Staphylococcus* coagulase positiva é necessária e imprescindível a este produto, na garantia da qualidade e, principalmente na segurança alimentar do queijo, que é oferecido ao consumidor do sudoeste do Paraná, se fazendo necessário o uso de boas práticas na fabricação e constante treinamento dos colaboradores.

## 5.2.5 Salmonella sp.

Segundo a legislação (BRASIL, 1996), os queijos não devem possuir contaminação por *Salmonella* sp. em 25 g de amostra , uma vez que é um patógeno potencial causador de infecção alimentar (EVANGELISTA, 2005). Dentre as amostras analisadas nenhuma apresentou contaminação pelo microrganismo, estando assim todas (100%) em conformidade com os padrões da legislação vigente. Os mesmos resultados foram encontrados por Oliveira (2011), com estudos na região.

Por outro lado, Dias (2012) Antonello (2012) e Oliveira, Bravo e Tonial (2012) obtiveram 10%, 17,85% e 12,5% das amostras com resultados positivos para *Salmonella*, respectivamente. Assim pode-se destacar a importância de boas práticas de fabricação e controle na produção de queijos coloniais, uma vez que estudos realizados na região indicaram a presença do patógeno, que deve estar isento no produto, o que contraria a legislação.

# 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando os resultados encontrados, observou-se que existe uma heterogeneidade entre os diferentes níveis de inspeção avaliados. As inspeções federais e estaduais apresentam melhor padronização em seu processo e produto, qualidade e segurança alimentar do queijo colonial, entretanto os resultados mostraram contaminação por coliformes em todas as amostras de queijos com inspeção municipal e sem inspeção.

A elevada contaminação das amostras indica procedimentos higiênicos insatisfatórios durante a fabricação, transporte e comercialização dos queijos, manutenção em temperatura inadequada e ao uso de matéria-prima de baixa qualidade higiênica, como leite não pasteurizado, o que causa preocupação por ser um risco à saúde do consumidor.

Desta forma, é muito importante a elaboração de um regulamento técnico de identidade e qualidade do queijo colonial, sendo este amplamente comercializado e consumido não só no estado do Paraná, mas no restante da região Sul do Brasil. Assim se tornaria mais simples avaliá-lo quanto a sua inocuidade, bem como a padronização do seu processo de fabricação, com consequente padronização do produto, uma vez que houve variação entre a maioria dos aspectos físico-químicos avaliados, interferindo diretamente na composição, sabor, aroma e textura final deste tipo de queijo.

Outro aspecto interessante e necessário é o treinamento e implantação de boas práticas de fabricação para produtores com inspeção municipal e sem inspeção, uma vez que é muito difícil cessar o comércio de produtos sem registro, o que melhoraria a qualidade do queijo colonial oferecido aos consumidores da microrregião de Francisco Beltrão.

# REFERÊNCIAS

ABIQ. **Benefícios nutricionais dos queijos**. Associação Brasileira das Indústrias de Queijo, 2013. Disponível em: <a href="http://www.abiq.com.br/nutricao">http://www.abiq.com.br/nutricao</a> 7.asp. Acesso em 15 de fevereiro de 2013.

ALBUQUERQUE, L. C. de. **Os queijos no mundo: os queijos em suas mãos**- vol IV. Juiz de Fora: Minas Gerais. 2003.

ALBUQUERQUE, L. C. De. **Os queijos no mundo: origem e tecnologia-** vol II. Juiz de Fora: Minas Gerais.2002.

ANDRADE, A.A. de. **Estudo do perfil sensorial, físico-químico e aceitação de queijo de coalho produzido no estado do Ceará**. 104p. 2006. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

ANTONELLO, L; KUPKOVSKI, A.; BRAVO, C.C. Qualidade microbiológica de queijos coloniais comercializados em Francisco Beltrão, Paraná. **Revista Thema**, v.9, n.1, 2012.

AQUARONE, E.; BORZANE W.; SCHMIDELL W; LIMA A. L. de. **Biotecnologia industrial**. São Paulo: Bluncher, 2001- vol. 4.

AOAC INTERNATIONAL. **Official methods of analysis**. 18<sup>a</sup> ed., 3<sup>a</sup> rev. Arlington, VA, EUA: AOAC International, 2005.

BEHMER, M. L. A.. Tecnologia do leite: leite, queijo e manteiga, caseína, iogurte, sorvetes e instalações. 13° edição. São Paulo: Nobel, 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializar os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF,18 setembro 2003, sec.1, p.14.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Portaria n°146, de 07 de março de 1996. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 11 março 1996, sec.1, p.3977.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Aprovar 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, 29 de dezembro de 2011, anexo 1, p. 1.

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Produto final.** Disponível em: <a href="http://www.agricultura.gov.br/animal/produto-final">http://www.agricultura.gov.br/animal/produto-final</a>. Acesso em 18 de março 2013.
- BITTENCOURT, R. H F.P.M. Requeijão Marajoara e Queijo Minas Frescal Produzidos Com Leite De Búfalas (*Bubalus Bubalis*, Lin.) no estado do Pará. 2001. Tese (Doutorado) Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária. Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2001.
- CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos.** 2° ed-Campinas, SP: Editora da Unicamp, 2003.
- COSTA, F. M. A; D'ALESSANDRO W.T.; CARVALHO, A.L.; ROCHA J.M.; TANEZINI, C.A.; PONTES, I.S.; FERREIRA M.L.; SOTÉRIO, N.M.F. Variação do teor de gordura no leite bovino cru. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 5, p. 763-769, mai. 1992.
- DIAS, V.A. Qualidade microbiológica do queijo colonial produzido e comercializado na região Sudoeste do Paraná. 2010. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) Curso Superior de Economia Doméstica. Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Francisco Beltrão, 2010.
- EVANGELISTA, J. Alimentos: um estudo abrangente; nutrição, utilização, alimentos especiais e irradiados, coadjuvantes, contaminação. São Paulo: Atheneu, 2005.
- FARIÑA L.O.; KURUMIYA R; TAQUANO D; MOUSQUER C; FALCONE F. A.; BUENO F.G.; FERREIRA R.; PAEZ C.M.P.; TAVARES B.; DALLABRIDA S.F. **Análise de composição e avaliação da acidez do queijo colonial produzidos por agricultores familiares de Céu Azul- PR**. In: 3° Congresso De Ciências Farmacêuticas e 3° Simpósio Em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Mercosul, Céu Azul, 2012.
- FEITOSA, T.; BORGES M.F.; NASSU R.T; AZEVEDO E.H.F; MUNIZ C.F. Pesquisa de *Salmonella* sp., *Listeria* sp. e microrganismos indicadores higiênico-sanitário em queijo de coalho produzido no Estado do Rio Grande do Norte. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, p.162-165, 2003.
- FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002.
- FRANCISCO BELTRÃO, Prefeitura Municipal. **Secretaria da Agricultura: agroindústria (SIM/SIP).** Disponível em: <a href="http://www.franciscobeltrao.pr.gov.br/agricultura/agroindustrias/">http://www.franciscobeltrao.pr.gov.br/agricultura/agroindustrias/</a>. Acesso em 7 de março de 2013.
- FRANCO, B. D. G. M.. Microbiologia de alimentos. São Paulo: Atheneu, 2008.

FREITAS EDUARDO, M. A dinâmica territorial das agroindústrias artesanais de Francisco Beltrão/PR. 2008. 166p. Dissertação (Mestrado em Geografia). Universidade Estadual Paulista, Presidente Prudente, 2008.

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

HILL, J. A.G.; SILVEIRA A.L.F DA., MIGLIORINI F., ZOCULOTTO G, KIYOTA N, VIEIRA J.A.N, HORST J.A, FILIPPSEN L.F, LANÇANOVA J.A.C. Qualidade do leite na região sudoeste do Paraná. Londrina: IAPAR, 2011.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz.** Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 4. ed. São Paulo: IMESP, 2008.

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

JÚNIOR, J.F.S; OLIVEIRA, DF; BRAGHINI, F; LOSS, EMS; BRAVO, CEC; TONIAL, IB. Caracterização físico-química de queijos coloniais produzidos em diferentes épocas do ano. **Revista Instituto de Laticínios "Cândido Tostes"**, v. 67, p. 67-80, 2012.

JUNIOR, S. L. G., PENTEADO, S. T. da S., FARIÑA, L.de O. **Avaliação Da Qualidade Do Queijo Produzido Pela Agricultura Familiar No Oeste E Sudoeste Do Paraná.** In: XIX Encontro Anual de Iniciação Científica, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel - PR, 2010.

LEITE JUNIOR, A.F.S; FLORENTINO E.R.; OLIVEIRA,NE.B.; AS, S.N.E.; TORRANO, A.D.M. Qualidade Microbiológica de queijo tipo coalho comercializado à temperatura ambiente ou sob refrigeração, Campinas Grande – PB. **Revista Higiene Alimentar**, v. 14, p. 53-59, 2000.

LUCAS, S. D.M; SCALCO A.; FELDHAUS S.; DRUNKLER D.A.; COLLA E. Padrão de identidade e qualidade de queijos Colonial e prato, comercializados na cidade De Medianeira – PR. **Revista Instituto de Laticínios "Cândido Tostes"**, v. 67, p. 38-44, 2012.

NEELAKANTAN, S. K MOHANTY K.; KAUSHIK J.A. Production and use of microbial enzymes for dairy processing. **Current Science**, v. 77, n. 1, p. 143 – 148.1999.

NEVES, R. **Queijos com sotaque nacional**. São Paulo. Disponível em: http://www.terraviva.com.br/terraviva/file/1/454.htm. Fonte: Gazeta Mercantil – Edição do dia 06/07/2007. Acesso em 15.mar.2013.

NORONHA, J. F. de. **Segurança alimentar dos queijos tradicionais.** Disponível em: <a href="http://www.esac.pt/noronha/manuais/seguranca\_alimentar\_queijos.pdf">http://www.esac.pt/noronha/manuais/seguranca\_alimentar\_queijos.pdf</a>. Acesso em 10 de agosto de 2013

- OLIVEIRA, D. F.de. Estudo da interferência da sazonalidade na composição centesimal e qualidade microbiológica de queijos coloniais. 2011. 40 f. Trabalho de conclusão de curso (Tecnologia em alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Francisco Beltrão, 2011.
- OLIVEIRA, D.F., BRAVO C.E.C.; TONIAL I. B. et al. Sazonalidade como fator interferente na composição físico-química e avaliação microbiológica de queijos coloniais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.2, p.521-523, 2012.
- ORDÕNEZ, J.A. **Tecnologia de Alimentos. Alimentos de origem animal.**v.2. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- PARANÁ, Secretaria da Agricultura e do Abastecimento. **Serviço de Inspeção do Paraná/Produtos de Origem Animal SIP/POA.** 2013. Disponível em: <a href="http://www.agricultura.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=111">http://www.agricultura.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=111</a>. Acesso em 7 de março de 2013.
- PERRY, K. S. P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**,v.27, p. 293-300, 2004.
- PEREIRA, D. B. C.; SILVA, P. H. F.; OLIVEIRA, L. L.; COSTA JÚNIOR, L. C. G. C. **Físico-química do leite e derivados Métodos analíticos**. 1.ed. Juiz de Fora-MG: Oficina de Impressão Gráfica e Editora Ltda, 2001. 190 p.
- PINTO, M.S., et al. Segurança Alimentar Do Queijo Minas Artesanal Do Serro, Minas Gerais, Em Função Da Adoção De Boas Práticas De Fabricação. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 39, n. 4, p. 342-347, 2009.
- QUEVEDO,P. S., et al. Correlação entre a contagem de mesófilos aeróbicos e a contagem de coliformes totais em leite pasteurizado tipo C. In: XIV CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2006, Pelotas. Anais do XIV Congresso de Iniciação Científica, 2006.
- REZENDE, P. H. L.; MENDONÇA E.P.; MELO, R.T.; COELHO, L.R., MONTEIRO, G.P., ROSSI, D.A. Aspectos sanitários do queijo minas artesanal comercializado em feiras livres. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 65, n. 377, p. 36-42, nov./dez., 2010.
- ROOS T.B; SCHEID F. V,.B; TIMM C.D.; OLIVEIRA D.S. Avaliação microbiológica de queijos coloniais produzidos na cidade de Três Passos, RS. **Higiene Alimentar**, v.19, n.132, p. 94-96, 2005.
- SEBRAE. Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. Queijos Nacionais. Estudo de mercado SEBRAE/ESPM. **Relatório completo**, 2008.
- SCOTT, R. **Fabricación de queso**. 2 edição, Zaragoza- Espanha, 2002.

- SILVA, J. G.. Características físicas, físico-químicas e sensoriais de queijo de minas artesanal da Canastra. 198p, 2007. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos). Universidade Federal de Lavras, UFLA, lavras, 2007.
- SILVA, M. C. da .**Avaliação da Qualidade Microbiológica de Alimentos com a utilização de metodologias convencionais e SimPlate.** 75p. 2002. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade de São Paulo- USP. Piracicaba, 2002.
- SILVA, N. **Manual de Análises Microbiológica de Alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 2007.
- SPREER, E. Lactologia industrial. 2.ed. Zaragoza: Editorial Acribia, 1991. 617.p.
- STATSOFT INC. **Statistical data analysis system version 7.0**. Tulsa: Statsoft Inc., 2004.
- TEDESCO, J. M.; GIANELLO, C.; BISSANI, A. C.; BOHNEN, H. E VOLKWEISS, S. J. (1995). **Análise de solo, plantas e outros materiais (Boletim Técnico.5)**, Porto Alegre, RS.
- TRONCO, V.M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. 2 ed . Santa Maria: Ed. da UFSM, 2003. 106 p.
- VASCONCELOS, M. P.; ARAÚJO, K. G. de L.; VERRUMA-BERNARDI, M. R. Efeito Do pH De Coagulação Do Leite E Do Tipo De Coalho Sobre O Rendimento De Massa Na Produção De Queijo. **Revista brasileira Agrociência**, v.10, n. 4, p. 499-502, out-dez, 2004.
- VERZA, M. Caracterização Do Sistema De Produção De Leite Do Munícipio De Jupiá SC. 2012. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2012.
- WASTRA, P; GEURTS T.J.; NOOMEN A.; JELLEMA A.; BOEKEL M.V. **Dairy techonology: principles of Milk properties and processes**. New York: Taylor & Frances e-library, 1999.
- ZACARCHENCO, P.B. Bolores e leveduras em queijos. **Revista TecnOLAT (ITAL).** Expresso, ano II, n °8, set/ out de 2011.