

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
MESTRADO PROFISSIONAL EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

JAQUELINE LAURINDO

**TEOR DE NATAMICINA, CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA,
PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS E ÍNDICES DE QUALIDADE LIPÍDICA
EM QUEIJO AZUL E TIPO GORGONZOLA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

LONDRINA
2017

JAQUELINE LAURINDO

**TEOR DE NATAMICINA, CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA,
PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS E ÍNDICES DE QUALIDADE LIPÍDICA
EM QUEIJO AZUL E TIPO GORGONZOLA**

Dissertação de mestrado, apresentado ao Curso de Mestrado Profissional em Tecnologia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, campus Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ivane Benedetti Tonial
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Silvane Morés

LONDRINA
2017

TERMO DE LICENCIAMENTO

Esta Dissertação está licenciada sob uma Licença Creative Commons *atribuição uso não-comercial/compartilhamento sob a mesma licença 4.0 Brasil*. Para ver uma cópia desta licença, visite o endereço <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/> ou envie uma carta para Creative Commons, 171 Second Street, Suite 300, San Francisco, Califórnia 94105, USA.



Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca UTFPR - Câmpus Londrina

L385t Laurindo, Jaqueline

Teor de natamicina, caracterização físico-química, perfil de ácidos graxos e índices de qualidade lipídica em queijo Azul e tipo Gorgonzola / Jaqueline Laurindo. - Londrina : [s.n.], 2017.

100 f. : il. ; 30 cm.

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Ivane Benedetti Tonial

Coorientadora: Prof^ª Dr^ª Silvane Morés

Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. Londrina, 2017.

Bibliografia: f. 79-89

1. Queijo. 2. Antimicóticos. 3. Físico-química - Análise. 4. Ácidos graxos. I. Tonial, Ivane Benedetti, orient. II. Morés, Silvane, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. IV. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. V. Título.

CDD: 664

TERMO DE APROVAÇÃO

TEOR DE NATAMICINA, CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS E ÍNDICES DE QUALIDADE LIPÍDICA EM QUEIJO AZUL E TIPO GORGONZOLA

por

JAQUELINE LAURINDO

Esta dissertação foi apresentada como requisito para obtenção do título de **MESTRE EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS** – Área de Concentração: Tecnologia de Alimentos, pelo Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos (PPGTAL) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) – Campus Londrina, às 14h do dia 24 de fevereiro de 2017. O candidato foi avaliado pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Prof^a. Dra. Ivane Benedetti Tonial
(Orientadora/Presidente - UTFPR)

Prof^a Dra. Tahis Baú
(Membro titular externo - IFSC)

Visto da coordenação:

Prof^a. Dra. Fabiane Picinin de Castro
Cislaghi
(Membro titular interno - UTFPR)

Prof. Fábio Augusto Garcia Coro, Dr.
(Coordenador do PPGTAL)

“A folha de aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Programa de Mestrado Profissional em Tecnologia de Alimentos”.

Aos meus pais e marido, dedico esse trabalho.
Essa conquista, resultado de muita dedicação, é também de vocês!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela perseverança e fé mesmo nos momentos mais difíceis.

A minha orientadora Prof^a. Dr^a. Ivane Benedetti Tonial, pela paciência, sabedoria, e por confiar em meu trabalho.

A minha coorientadora, Silvane Morés, e a professora Naimara Vieira do Prado pelo auxílio em todos os momentos da realização da pesquisa.

Agradeço também à banca, pelas considerações e contribuições com essa dissertação.

Aos meus colegas de turma de mestrado, pelos conselhos e auxílios, são amizades que ficarão para toda vida.

Aos técnicos de laboratório da UTFPR – Campus Francisco Beltrão, da UFFS – Campus Realeza, e a aluna Bruna Casiraghi e Jessica Ribeiro, que me auxiliaram durante os experimentos.

A empresa de queijo tipo Gorgonzola que possibilitou a realização do trabalho e auxiliou no repasse de todas as informações técnicas de produção e armazenamento.

Aos autores Múcio Mansur Furtado e Lourenço Neto que me enviaram seus livros dando o conhecimento técnico e científico necessário para o embasamento desta dissertação.

Gratidão por toda minha vida aos meus pais, que tanto zelam por mim, que são o meu exemplo, meu cerne, fonte de inspiração e amor.

Ao meu marido, pela calma e incentivo e por me dizer em cada momento de desânimo que se fosse fácil todo mundo conseguiria.

Às amigas e colegas de trabalho Jucieli Weber, Vivian Francieli França, e Fernanda Lima por me incentivarem a estudar, pelas ajudas, explicações e recomendações.

Aos meus cãesinhos, que foram meus companheiros nas noites de estudo.

Ao CNPQ pelo incentivo financeiro através do custeio da pesquisa.

Enfim, a todos que de alguma contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

LAURINDO, Jaqueline. **Teor de natamicina, caracterização físico-química, perfil de ácidos graxos e índices de qualidade lipídica em queijo Azul e tipo Gorgonzola.** 101f. Dissertação (Mestrado Profissional em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2017.

A produção e consumo de queijos finos especialmente queijo Azul e tipo Gorgonzola tem intensificado no Brasil. A natamicina é intencionalmente utilizada no processo industrial para este tipo de produto pelo seu potencial antifúngico. O uso da natamicina é permitido pela legislação brasileira na quantidade de até 5 mg/kg na casca, e não deve ser detectável a 2 mm de profundidade. No que se refere ao queijo tipo Gorgonzola são poucas as pesquisas direcionadas à determinação de natamicina, além de pouca fiscalização sobre seu uso e quase nenhuma análise sobre o perfil nutricional destes queijos. O objetivo deste estudo foi determinar a concentração, migração e declínio do teor de natamicina, assim como avaliar as características físicas de cor, físico-químicas e químicas além de avaliar o perfil de ácidos graxos do queijo Azul industrializado e tipo Gorgonzola comercializado na Região Sudoeste do Paraná e Oeste de Santa Catarina. Para isto, foram coletadas oito amostras de queijo tipo Gorgonzola de diferentes marcas em distintos municípios pertencentes a estas regiões, e na indústria foram coletadas amostras de queijo Azul ao longo da maturação. Na determinação de natamicina, foi utilizada espectrofotometria UV na terceira derivada na casca e internamente a cada 2 mm até a profundidade de 8 mm em queijo Azul e tipo Gorgonzola. Para a caracterização físico-química foram realizadas análises de umidade, cinzas, proteínas, lipídeos, carboidratos e valor calórico. Na avaliação química determinou-se o pH, atividade de água e concentração de sódio total. Para avaliação da cor utilizou-se o método instrumental CIELAB e o perfil de ácidos graxos foi determinado por cromatografia em fase gasosa. Do total de amostras de queijo avaliadas, os resultados da quantificação de natamicina mostraram que 50% das marcas apresentaram concentração na casca acima da quantidade preconizada pela legislação, enquanto que na massa do queijo 87,5% das marcas avaliadas ultrapassaram a concentração máxima de natamicina permitida. Em queijo Azul, houve declínio da natamicina ao longo da maturação, e a concentração de 1,5% do banho de imersão em natamicina foi ideal para que a partir dos 25 dias o queijo estivesse adequado para consumo. Por meio da caracterização físico-química de queijo tipo Gorgonzola foi possível observar que as marcas diferenciam-se sob a maioria dos aspectos, porém, ainda assim, todas tiveram valores baixos de umidade e altos percentuais de lipídeos e consequentemente elevado valor energético. Do perfil de ácidos graxos, foi possível constatar que majoritariamente, estes queijos são constituídos de ácidos graxos saturados (principalmente ácido Palmítico, ácido Esteárico e ácido Mirístico). Na maturação de queijo Azul houve redução da umidade, atividade de água, aumento do teor de sódio, cinzas e do pH. Na avaliação da cor observou-se que houve alterações com redução da luminosidade e aumento da predominância do verde sobre o amarelo.

Palavras-chave: *Penicillium roquefort*. Caracterização. Pimaricina. Delvucid.

ABSTRACT

LAURINDO, Jaqueline. **Natamycin content, physico-chemical characterization, fatty acid profile and lipid quality indices in Blue cheese and Gorgonzola type.** 101f. Dissertation (Master in Food Technology) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2017.

The production and consumption of fine cheeses especially blue cheese and Gorgonzola type has stepped up in Brazil. Natamycin is intentionally used in the industrial process for this type of product for its antifungal potential. The use of natamycin is allowed by Brazilian legislation in the amount of up to 5 mg/kg in the bark, and should not be detectable at 2 mm depth. Regarding to the type cheese gorgonzola there are few researches directed to the determination of natamycin, besides the little supervision over its use and almost no analysis on the nutritional profile of these cheeses. The objective of this study was to determine the concentration, migration and decline of natamycin, as well as assess the physical characteristics of color, physical chemistry and chemistry in addition to assessing the fatty acids profile of blue cheese and Gorgonzola type sold in the southwest region of Paraná and west of Santa Catarina. For this, it was collected eight samples of cheese gorgonzola type of different brands in different municipalities belonging to these regions, and in industry were collected repetitions of blue cheese along the maturation. In the determination of natamycin, was used UV spectrophotometry in the third derived in the bark and internally to each 2 mm to a depth of 8 mm in blue cheese and Gorgonzola type. For the physico-chemical characterization were performed analyzes of moisture, ashes, proteins, lipids, carbohydrates and caloric value. In the chemical evaluation it was determined that the pH, water activity and concentration of sodium. For evaluation of the color we used the method CIELAB instrumental and the fatty acids profile was determined by gas chromatography. The total number of samples of cheese evaluated, the results of the quantification of natamycin showed that 50% of the brands showed, in the skin, concentration above of the quantity recommended by legislation, while the mass of the cheese 87.5% of registered evaluated exceeded the maximum concentration of natamycin allowed. In blue cheese, there was a decrease of natamycin along the maturation, and the concentration of 1.5% of the immersion bath in natamicyn was ideal for that from the 25 days the cheese was suitable for consumption. Through the physico-chemical characterization of cheese gorgonzola type it was possible to observe that the brands differ in most aspects, however, still, all had low levels of moisture and high percentages of lipids and consequently high energy value. From the fatty acids profile, it was established that mostly, these cheeses are made up of saturated fatty acids (mainly Palmitic acid, stearic acid and myristic acid). In the maturation of blue cheese, there was a reduction of moisture and the water activity, increased sodium content, ash and pH. In the evaluation of the color, it was observed that there have been changes with reduction of brightness and increased prevalence of green on the yellow.

Keywords: *Penicillium roquefort*. Characterization. Pimaricina. Delvucid.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Consumo per capita de queijo no Brasil e projeção	20
Figura 2 - Fluxograma resumido do processo de produção de queijo Azul e tipo Gorgonzola.....	26
Figura 3 - Diagrama de cores para análise no colorímetro.	28
Figura 4 - Reações de oxidação e descarboxilação de ácidos graxos na maturação de queijo Azul.....	32
Figura 5 - Estrutura química da natamicina.....	35
Figura 6 - Imersão de queijo Azul em solução de natamicina	38
Figura 7 - Curva de Calibração da Natamicina.....	50
Figura 8 - Terceira Derivada da Espectrofotometria UV-VIS para determinação da concentração de natamicina em queijo tipo Gorgonzola.	51
Figura 9 - Porosidade do queijo tipo Gorgonzola	53
Figura 10 - Registro fotográfico das marcas de queijo tipo Gorgonzola.....	65
Figura 11 - Registro fotográfico da falta de uniformidade do mofo na marca D.	66
Figura 12 - Registro fotográfico das amostras de queijo Azul fresco (0 dia) e maturado (45 dias).	67
Figura 13 - Cromatograma de identificação de ácidos graxos de uma das amostras de queijo tipo Gorgonzola.....	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Aquisição per capita anual de laticínios.....	19
Tabela 2: Países onde há autorização mundial para o uso de Natamicina.....	40
Tabela 3: Concentração das soluções padrão de natamicina e suas respectivas médias de absorvância utilizadas na construção da curva de calibração.	50
Tabela 4: Concentração de natamicina na casca e na massa em queijo tipo Gorgonzola comercializado no Sudoeste do Paraná e Oeste de Santa Catarina.	51
Tabela 5: Concentração de natamicina (mg/kg) na casca e na massa em queijo Azul imerso em solução de 3% de natamicina ao longo da maturação.	54
Tabela 6: Concentração de natamicina (mg/kg) na casca e na massa em queijo Azul imerso em solução de 1,5% de natamicina ao longo da maturação.	55
Tabela 7: Caracterização físico-química de queijos tipo Gorgonzola comercializados no Sudoeste do Paraná e Oeste de Santa Catarina.....	57
Tabela 8: Atividade de água (Aw), pH e concentração de sódio de diferentes marcas de queijos tipo Gorgonzola comercializados no Sudoeste do Paraná e Oeste de Santa Catarina.....	57
Tabela 9: Caracterização físico-química e química em base úmida de queijo Azul ..	58
Tabela 10: Análise de cor (CIELAB) de diferentes marcas de queijo tipo Gorgonzola comercializado no Sudoeste do Paraná e Oeste de Santa Catarina	66
Tabela 11: Análise de cor em queijo Azul fresco e aos 45 dias de maturação.....	67
Tabela 12: Perfil de Ácidos graxos de diferentes marcas de queijo tipo Gorgonzola comercializados na região Sudoeste do Paraná e Oeste de Santa Catarina.....	70
Tabela 13: Somatórios, razões de ácidos graxos e Índices de Qualidade Lipídica de diferentes marcas de queijo tipo Gorgonzola comercializados na região Sudoeste do Paraná e Oeste de Santa Catarina.	71
Tabela 14: Perfil de Ácidos graxos de queijos Azul fresco e maturado.....	72
Tabela 15: Somatório e razões de ácidos graxos e Índices de Qualidade Lipídica dos queijos Azul fresco e maturado.	73

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

ABIQ	Associação Brasileira de Queijos
AGI	Ácidos graxos insaturados
AGPI	Ácidos graxos poli-insaturados
AGS	Ácidos graxos saturados
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
Aw	Atividade de água
CG	Cromatografia gasosa
CHO	Carboidratos
CIELAB	Espaço de cor
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CONAB	Companhia Nacional do Abastecimento
DAD	Detector de arranjos de diodos
EM	Espectrômetro de massa
GES	Gordura no extrato seco
HCl	Ácido Clorídrico
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HTST	Alta temperatura e curto tempo
IAL	Instituto Adolfo Lutz
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
LD	Limite de detecção
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LIP	Lipídeos
LQ	Limite de quantificação
Na	Sódio
NaCl	Cloreto de sódio
N-3	Ômega-3
N-6	Ômega-6
pH	Potencial de hidrogênio
POF	Pesquisa de Orçamentos Familiares
PTN	Proteínas
UV	Ultra violeta

VET	Valor energético total
WHO	World Health Organization

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 OBJETIVO GERAL	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3 REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1 PANORAMA DA PRODUÇÃO LEITEIRA NACIONAL.....	17
3.2 DERIVADOS LÁCTEOS E QUEIJOS: CONSUMO E HISTÓRIA NO BRASIL	18
3.3 LEGISLAÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DE QUEIJOS	21
3.4 QUEIJOS AZUIS	22
3.5 QUEIJO AZUL BRASILEIRO E TIPO GORGONZOLA	24
3.5.1 Processo de fabricação de queijo Azul e tipo Gorgonzola	24
3.5.2 Características físico-químicas de queijo Azul e tipo Gorgonzola	25
3.5.3 Sistema CIELAB e Cor em queijos Azul e tipo Gorgonzola.....	27
3.5.4 Ácidos graxos em queijos Azul e tipo Gorgonzola	29
3.5.5 Métodos para determinação de ácidos graxos nos alimentos.....	32
3.5.6 Defeitos e contaminações em queijo Azul e tipo Gorgonzola.....	33
3.6 NATAMICINA.....	35
3.6.1 Utilização de natamicina em produtos alimentícios	37
3.6.2 Métodos analíticos para determinação de natamicina em alimentos	41
4 MATERIAIS E MÉTODOS	43
4.1 AMOSTRAGEM	43
4.2 QUANTIFICAÇÃO DE NATAMICINA, AVALIAÇÃO DA MIGRAÇÃO INTERNA E DECLÍNIO AO LONGO DA MATURAÇÃO.....	43
4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS QUEIJOS	44
4.3.1 Umidade	45
4.3.2 Cinzas	45
4.3.3 Proteínas totais	45
4.3.4 Lipídios Totais	46
4.3.5 Carboidratos.....	46
4.3.6 Gordura no Extrato Seco.....	46
4.3.7 Valor Calórico.....	46

4.3.8 Atividade de água.....	47
4.3.9 pH.....	47
4.3.10 Sódio	47
4.3.11 Análise de cor.....	47
4.3.12 Perfil de ácidos graxos e Índices de qualidade lipídica	47
4.4 TRATAMENTO DOS DADOS	48
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
5.1 QUANTIFICAÇÃO DE NATAMICINA E AVALIAÇÃO DA MIGRAÇÃO INTERNA EM QUEIJOS TIPO GORGONZOLA.....	50
5.2 DECLÍNIO DA NATAMICINA AO LONGO DA MATURAÇÃO DE QUEIJO AZUL ...	53
5.3 CARACTERIZAÇÃO DE QUEIJOS TIPO GORGONZOLA E EVOLUÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS NA MATURAÇÃO DE QUEIJO AZUL	55
5.3.1 Cor em queijo tipo Gorgonzola e na maturação de queijo Azul.....	65
5.3.2 Perfil de ácidos graxos e Índices de Qualidade Lipídica em queijos tipo Gorgonzola e em queijos Azul fresco e maturado	68
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	77
REFERÊNCIAS.....	79
APÊNDICES	90

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, o consumo de derivados lácteos tem crescido consideravelmente nos últimos anos, o que permitiu a ampliação da produção queijeira e exigiu a melhoria da qualidade e sofisticação, tanto dos queijos coloniais, quanto industrializados (SCARCELLI, 2015). Por ter preço consideravelmente alto e características sensoriais específicas, o conceito de qualidade buscado pelo consumidor abrange principalmente os queijos finos, onde se destaca o queijo tipo Gorgonzola.

Originário no Vale do pó, na Itália, o queijo Gorgonzola possui *flavor* apreciado por pessoas com paladar exigente, característico pelo crescimento do mofo produzido por *Penicilium roquefort*, e vem sendo cada vez mais empregado na gastronomia, sendo aplicado em cremes ou molhos e acompanhando massas, arroz e bolinhos e harmonizando com determinados tipos de vinhos (CPGC, 2015).

No processo de produção do queijo Azul e tipo Gorgonzola, logo após a salga, é aplicada natamicina, um antibiótico natural produzido pela fermentação da bactéria *Streptomyces natalensis*, eficaz no controle de algumas deteriorações microbiológicas e contaminação por micotoxinas fúngicas durante a maturação. A natamicina é aceita como aditivo alimentar em queijos, porém sua presença só pode ser detectada na superfície, no limite de 1 mg/dm² ou 5 mg/kg na casca, não devendo haver migração para o interior do queijo e não sendo detectável a 2 mm de profundidade nos mesmos (BRASIL, 1996).

Porém, análises para verificação da concentração da natamicina no produto final não fazem parte da rotina de muitas indústrias que produzem este tipo de queijo, e mais restrita ainda é a fiscalização do uso deste aditivo pelas autoridades competentes reconhecendo esse tipo de fraude (EVANGELISTA, 2008).

Devido à alta perecibilidade da matéria-prima utilizada e do alto poder antifúngico da natamicina, o uso deste aditivo em altas concentrações pode ser uma forma de mascarar a fragilidade das queijarias com relação à qualidade no processo de maturação.

A natamicina é um medicamento utilizado não somente para fins medicinais (tratamentos oftalmológicos) como também é aplicado na forma de aditivos químicos

em alguns alimentos e sua ingestão em grandes quantidades pode causar reações negativas no organismo, como náuseas, vômito e diarreia (SULLOF, 1999).

Assim, torna-se necessário investigar e avaliar a concentração de natamicina em produtos alimentícios que fazem uso deste antibiótico, dentre os quais o queijo Azul e tipo Gorgonzola, objetos deste estudo.

A pesquisa traz avanços no campo nutricional, caracterizando o perfil lipídico e físico-químico destes queijos, pois lacunas de estudo são encontradas nesse aspecto.

O conhecimento do teor de natamicina, bem como de sua migração, e a caracterização físico-química, auxilia e direciona indústrias a melhorar seus processos produtivos e aplicar o antifúngico de diferentes formas ou concentrações, desde que o produto chegue ao consumidor com seus aditivos dentro dos limites estabelecidos pela legislação e com as características físico-químicas e sensoriais desejáveis.

Desta forma, este trabalho objetiva avaliar o teor de natamicina em queijo tipo Gorgonzola bem como caracterizá-lo através de parâmetros físico-químicos e perfil de ácidos graxos além de verificar o declínio de natamicina e as principais variações que ocorrem ao longo da maturação do queijo Azul.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a concentração de natamicina na casca e a migração interna de natamicina, bem como caracterizar através de parâmetros físico-químicos e perfil de ácidos graxos queijos tipo Gorgonzola comercializados na Região Sudoeste do Paraná e Oeste de Santa Catarina, além de verificar o declínio de natamicina ao longo da maturação do queijo Azul e as variações físico-químicas e lipídicas decorrentes do crescimento fúngico.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a concentração de natamicina na casca de queijo tipo Gorgonzola;
- Verificar a capacidade de migração interna de natamicina em queijo tipo Gorgonzola;
- Caracterizar quanto à composição proximal, concentração de sódio, Potencial de Hidrogênio (pH), atividade de água (Aw), cor e valor energético os queijos tipo Gorgonzola comercializados da Região Sudoeste do Paraná e Oeste de Santa Catarina;
- Determinar o perfil de ácidos graxos das diferentes marcas de queijo tipo Gorgonzola comercializadas na Região Sudoeste do Paraná e Oeste de Santa Catarina;
- Avaliar o declínio do teor de natamicina ao longo da maturação em queijo Azul;
- Determinar as diferenças na composição proximal, concentração de sódio, pH, Aw, cor e valor energético de queijo Azul antes e após a maturação;
- Comparar os resultados encontrados com limites estabelecidos pela legislação ou relatados por livros técnicos;
- Comparar o perfil de ácidos graxos do queijo Azul antes e após a maturação.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 PANORAMA DA PRODUÇÃO LEITEIRA NACIONAL

O leite é um alimento líquido que contém 86% de água e que possui em sua composição uma mistura de lactose, minerais, vitaminas, gorduras emulsionadas, proteínas e gases (ORNELLAS, 2006). Segundo o conceito da legislação brasileira “entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo de ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas” (BRASIL, 2011).

Em 2014 o Brasil produziu 35,17 bilhões de litros de leite, aumentando em 2,7% sua produção comparada ao ano anterior e ficando em 5º lugar na produção mundial leiteira, atrás somente da União Europeia, Índia, Estados Unidos e China. A região Sul do país foi pela primeira vez a que produziu maior percentual no ano (34,7%) seguida pela região Sudeste (34,6%), Centro-Oeste (14,1%), Nordeste (10,1%) e Norte (5,5%) (IBGE, 2014).

Perante a produção nacional de lácteos, o Estado de Minas gerais lidera com 26,6% do total produzido (9,3 bilhões de litros de leite), seguido pelo estado do Rio Grande do Sul com 13,3% (4,7 bilhões de litros), do Paraná com 12,9% (4,5 bilhões de litros), Goiás com 10,5% (3,7 bilhões de litros) e Santa Catarina com 8,5% da produção nacional (3 bilhões de litros) (IBGE, 2014).

No quarto trimestre de 2015, a aquisição e industrialização de leite dos estabelecimentos que possuem algum tipo de inspeção (federal, estadual ou municipal) foram de 6,28 bilhões de litros enquanto que no 1º semestre de 2016 foram de 5,86 bilhões de litros, resultando em uma queda de 6,8% sobre a quantidade de leite captada. A redução da captação ocorreu por condições climáticas que afetaram as principais regiões produtoras do país, principalmente a região Sul, com redução de 4,8% de captação (IBGE, 2016).

A menor oferta resultou em aumento dos preços repassados ao consumidor, e o leite longa vida foi um dos produtos com maior alta, sendo encontrados 10,16% mais caro em junho de 2016 comparado com maio de 2016 (IBGE, 2016).

Em janeiro de 2016, o Brasil importou US\$ 21,1 milhões em lácteos – principalmente leite em pó integral da Argentina, Paraguai e Uruguai, além de outros leites e cremes em pó, seguida por soro de leite – e exportou US\$ 8,5 milhões – leite

em pó integral, leite condensado e queijos fundidos – resultando em déficit de US\$ 12,6 milhões na balança comercial de lácteos, porém menor em relação ao comparativo do ano anterior (déficit de US\$ 29,7 milhões) (CONAB, 2016).

3.2 DERIVADOS LÁCTEOS E QUEIJOS: CONSUMO E HISTÓRIA NO BRASIL

Os derivados lácteos são os produtos que têm como principal matéria-prima o leite, no qual se destacam os cremes, a manteiga, o queijo, iogurte, doce de leite, dentre outros (MORETTO et al., 2008).

O guia alimentar brasileiro para adultos orienta o consumo diário de três porções de leite e/ou derivados, que se encontram no terceiro nível da pirâmide, complementando o grupo de alimentos ricos em proteínas (AMÂNCIO; PHILIPPI, 2007).

Medeiros et al. (2004) relata a importância do consumo de leite e derivados no fornecimento de nutrientes essenciais ao crescimento, pois dieta ausente desses alimentos resultou em ingestão significativamente menor em termos de energia, proteínas, lipídeos, cálcio e fósforo em crianças do que aquelas que tiveram dieta normal.

A alimentação representa a segunda maior despesa domiciliar das famílias brasileiras, atrás apenas das despesas com habitação. Neste âmbito, a distribuição do orçamento com produtos alimentícios tem maior proporção para a aquisição de carnes, vísceras e pescados (21,9%) seguida pela aquisição de leite e derivados (11,5%) (POF, 2010).

Segundo a Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF, 2010) entre os anos de 2008 e 2009, a região Sul do país foi a que realizou maior aquisição alimentar *per capita* de laticínios anual, em torno de 67 kg; aproximadamente 55% maior que a média brasileira de 43 kg/laticínios/ano *per capita*. A Tabela 1 apresenta a aquisição *per capital* anual de leite e derivados pelos brasileiros e por região do país no período.

Leite e derivados representaram em média 5,8% do valor calórico dos produtos consumidos pelos brasileiros, chegando a 7,7% do valor energético total (VET) da dieta dos sulistas que habitam a zona rural, mas de modo geral, o consumo de leite e derivados aumenta diretamente de acordo com a renda familiar,

variando de 4% do VET de pessoas com salários menores ou iguais a R\$ 830,00 até 8,1% do VET para brasileiros com salários acima de R\$ 6.225,00 (POF, 2010).

Tabela 1: Aquisição *per capita* anual de laticínios

Produtos	Aquisição alimentar domiciliar <i>per capita</i> anual (kg)					
	Grandes Regiões					
	Brasil	Norte	Nordeste	Sudeste	Sul	Centro-Oeste
Laticínios	43,707	23,999	27,477	50,464	67,412	42,175
Leite e creme de leite	38,433	21,143	23,537	44,362	60,221	37,661
Creme de leite	0,384	0,272	0,204	0,414	0,712	0,385
Leite condensado	0,666	0,534	0,380	0,808	0,907	0,629
Leite vaca fresco	9,792	11,804	12,858	5,671	14,178	10,737
Leite vaca pasteurizado	25,641	6,017	7,517	35,698	43,062	24,831
Leite em pó desengordurado	0,110	0,122	0,199	0,080	0,058	0,036
Leite em pó integral	0,800	1,837	1,551	0,386	0,248	0,236
Leite pó não especificado	0,083	0,201	0,151	0,036	0,036	0,054
Outros	0,956	0,355	0,678	1,270	1,021	0,754

Fonte: Pesquisa de Orçamentos Familiares (2010).

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

Apesar de não conhecer com exatidão a origem do queijo, sabe-se que este surgiu em épocas pré-históricas, enquanto o homem armazenava o leite em estômagos secos de animais domesticados durante longas viagens. Pouco depois, o coalho ainda presente nos estômagos coagulava o leite acidificado em temperatura ambiente, formando duas partes: soro e coalhada. O soro era descartado, porém a coalhada era muito agradável ao paladar e podia ser consumida fresca ou até mesmo após longos períodos estocados. Com o passar do tempo, o homem identificou as enzimas responsáveis pela fermentação e coagulação, descobriu a composição do leite e cada produtor de leite fabricava o queijo que consumia (ALBUQUERQUE, 2002).

No Brasil, a produção queijeira começou a se estabelecer após a imigração de dinamarqueses e holandeses para o estado de Minas Gerais, a partir da década de 20. Furtado (1991) aponta que em 1983 o Brasil contava com 495 fábricas e que em 1987 a produção de queijos foi de 240.798 toneladas sem incluir o requeijão, sendo que os queijos predominantes eram: o Prato, Muçarela e o Minas. Os queijos finos ainda não tinham muito espaço no mercado.

O aumento no consumo de queijos se expressa em todas as faixas sociais e manifesta-se o interesse por queijos finos. Porém desde 2014 o Brasil teve redução na proporção de aumento de consumo em comparação com os anos anteriores, provavelmente pelo menor poder de compra da população, em função da diminuição de renda *per capita* causada pela crise que o país enfrenta (SCARCELLI, 2015).

A Associação Brasileira de Queijos (ABIQ) contabilizou em 2015 um consumo *per capita* de 5,4 kg/ano de queijo, e 1,105 milhão de toneladas produzidas, um aumento de 2,9% em comparação com 2014. A escassez do leite e a queda no consumo fizeram com que o aumento da produção fosse bem mais modesto em relação aos 8 e 9% de aumento de anos anteriores (MILKPOINT, 2016).

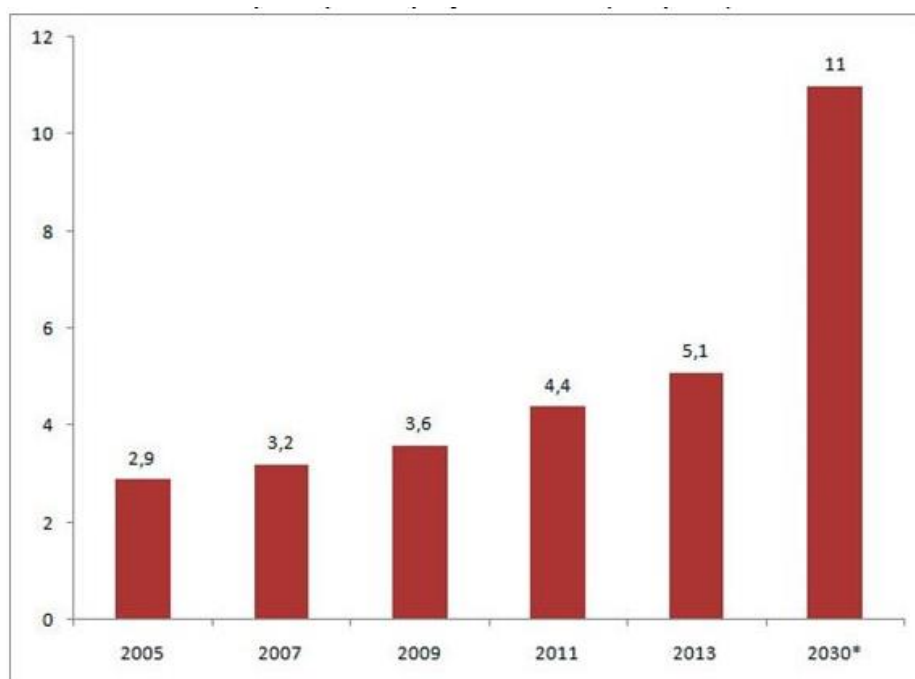


Figura 1 - Consumo per capita de queijo no Brasil e projeção

Uma projeção da ABIQ para os próximos anos é a de que haja um aumento consistente no consumo de queijos, chegando a aproximadamente 11 kg/ano *per*

capita em 2030, conforme mostra a Figura 1, resultado do investimento de empresas estrangeiras que não tem mais mercado para expandir na Europa, por exemplo, onde a média de consumo é de 20 kg/ano ou em países como Argentina, que já consome 11 kg/ano atualmente (MILKPOINT, 2014).

Em maio de 2016, a legislação brasileira autorizou que produtos de origem animal para consumo humano ingressassem em território nacional, desde que esses sejam classificados como não presumíveis de doenças contagiosas, como por exemplo, queijos de maturação longa, limitados a cinco quilos por pessoa (BRASIL, 2016).

3.3 LEGISLAÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DE QUEIJOS

A legislação brasileira por meio do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos - Portaria nº 146 de 07 de março de 1996 classifica os queijos quanto ao conteúdo de matéria gorda no extrato seco e quanto à umidade.

De acordo com o conteúdo de matéria gorda no extrato seco, em percentagem, os queijos classificam-se em:

- Extra gordo ou duplo creme: quando contenham o mínimo de 60%
- Gordos: quando contenham entre 45,0 e 59,9%
- Semigordo: quando contenham entre 25,0 e 44,9%
- Magros: quando contenham entre 10,0 e 24,9%
- Desnatados: quando contenham menos de 10%

De acordo com o conteúdo de umidade, em percentagem, os queijos classificam-se em:

- Queijo de baixa umidade (geralmente conhecidos como queijo de massa dura): umidade de até 35,9%.
- Queijos de média umidade (geralmente conhecidos como queijos de massa semidura): umidade entre 36,0 e 45,9%.
- Queijos de alta umidade (geralmente conhecido como de massa branda ou “macios”): umidade entre 46,0 e 54,9%.
- Queijos de muita alta umidade (geralmente conhecidos como de massa branda ou “mole”): umidade não inferior a 55,0% (BRASIL, 1996).

Lourenço Neto (2013) cita que os critérios mais utilizados no mundo para classificar os queijos são a natureza da matéria-prima (processamento ou não do leite); a origem do leite (tipo de mamífero), composição dos queijos (características físico-químicas), e a tecnologia de fabricação (dessoragem, pH, maturação).

Scott, Robinson, Wilbey (2002) explicitam a dificuldade em se classificar os queijos, pelas distinções de tamanho, forma, peso, cor, o tipo de leite (vaca, cabra, búfalas, ovelhas), textura do queijo (extraduros, duros, semiduros, macios e frescos), tempo de maturação e intensidade do sabor e aroma.

Os queijos também podem ser classificados de acordo com o país de origem: franceses (Brie, Camembert, Roquefort, Boursin e Port-Salut), russos (Tilsit), ingleses (Cheddar), holandeses (Edam e Gouda), portugueses (Serra da estrela), suíços (Emental, Gruyère), italianos (Gorgonzola, Parmesão Parmeggiano e Grana), entre outros (ALVES, 2013).

O Brasil possui muitos queijos tipicamente brasileiros, a maioria deles originários do berço queijeiro do país: Minas Gerais. O queijo Minas Frescal, o Minas Padrão e o Meia Cura além do queijo Prato, queijo do Reino, Requeijão Cremoso e Culinário e o queijo de Coalho são queijos nacionais (FURTADO, 2005).

Quanto à nomenclatura, os queijos diferenciam-se em queijos convencionais, em queijos finos ou especiais e em queijos artesanais. Dentre os queijos convencionais destaca-se a Mozzarella, o Prato e o queijo Minas Frescal. Os queijos finos se diferenciam dos convencionais pela origem da matéria-prima, pelos processos de produção e maturação, pela especificidade (crescimento de fungos/bolores, por exemplo), qualidade superior e diferenciação (para um público específico), onde os principais são os queijos de mofo azul como o Roquefort e Gorgonzola, mofo branco como o Brie e o Camembert, o queijo Parmesão, Gouda, Gruyère, Emental, Provolone e Cheddar (REZENDE, 2004).

Em relação aos queijos artesanais, dois tipos de produção encaixam-se nesta nomenclatura: a produção rústica e informal, sem adequação às exigências higiênico-sanitárias e a produção padronizada, seguindo a legislação e assegurando as características originais do produto (SEBRAE/ESPN, 2008).

Rezende (2004) destaca que o queijo tipo Gorgonzola é o único dos queijos especiais que consegue adentrar a classe C, por seu extenso uso culinário, destino de aproximadamente 26,5% do total de compra deste queijo.

3.4 QUEIJOS AZUIS

Os queijos azuis se caracterizam pelo crescimento de *Penicillium roquefort* no queijo. O mofo azul interno cresce nos espaços de ar da massa, e suas enzimas degradam os compostos do leite, resultando em *flavor* agradável. O leite utilizado para a preparação do queijo Azul pode ser de vaca, cabra ou ovelhas (SCOTT; ROBINSON; WILBEY, 2002).

O *Penicillium roquefort* é um fungo aeróbico, mesofílico e o pH ótimo de crescimento varia entre 5,5 e 7,5, mas podem se desenvolver entre 4,5 e 8,0, sendo seus esporos de coloração esverdeada (LOURENÇO NETO, 2013).

Não é conhecida a origem da produção destes queijos, mas acredita-se que esteja relacionado ao cultivo de centeio em regiões pobres francesas, devido ao *Penicillium* ser parte da flora contaminante do centeio (LOURENÇO NETO, 2013). O primeiro queijo Azul a ser mencionado na literatura foi o queijo Gorgonzola, em 879, posteriormente o Roquefort em 1070 e o Danablu em 1870, mas sabe-se que estes devem ter sido produzidos por muito tempo antes da sua divulgação (DELVES-BROUGHTON et al., 2005).

Scott, Robinson, Wilbey (2002) citam que somente a França, possui aproximadamente 30 variedades de queijo Azul, das quais inclui o conhecido Roquefort, e que a maioria dos países possui um queijo Azul próprio.

Entre as principais variedades de queijo Azul, pode-se citar o Roquefort (queijo Francês, da cidade de Roquefort, fabricado com leite de ovelha), o Gorgonzola (queijo Italiano, do Vale do Pó, fabricado com leite de vaca), o Stilton (queijo Inglês, produzido com leite de vaca), o Danablu (queijo Dinamarquês feito com leite de vaca) e o Blue (queijo Americano produzido com leite de vaca) (FURTADO, 1991). Além desses, pode-se citar o queijo alemão: Edelpilzkäse; o queijo austríaco: Grunschimmelkäse; o queijo espanhol: Cabrales; o queijo polonês: Rokpol; o sueco: Adelost; o búlgaro: Magura; entre outros (SCOTT; ROBINSON; WILBEY, 2002).

Na Convenção Internacional de Stresa, no ano de 1951, um dos acordos firmados resultou na proteção dos nomes e personalidade dos queijos, onde a utilização do nome Roquefort deve ser realizada somente para queijos produzidos na França, assim como a denominação Gorgonzola, somente para queijos produzidos na Itália sendo que queijos com as mesmas características produzidos em outras regiões denominam-se queijo tipo Gorgonzola (SCOTT; ROBINSON; WILBEY, 2002) ou segundo Furtado (2003) teriam que ser chamados de Queijo Azul.

O Regulamento Técnico de Queijo Azul (BRASIL, 2007) classifica o queijo Azul como queijo gordo e de média a alta umidade. Deve ser maturado para atingir suas características específicas (pelo menos 35 dias a uma temperatura inferior a 15 °C).

3.5 QUEIJO AZUL BRASILEIRO E TIPO GORGONZOLA

A denominação Gorgonzola resultou do início da sua fabricação, que aconteceu na Vila de Gorgonzola, próxima a Milão. É produzido com leite de vaca adicionado do fungo *Penicillium roquefort*, que cresce e esporula seu mofo nos furos mecânicos realizados após a salga e aplicação do antifúngico natamicina. Possui sabor e aroma pungente, e textura macia e cremosa (FURTADO, 2013).

No queijo Gorgonzola produzido na Itália, quatro diferentes tipos de características podem ocorrer: queijo doce cremoso, com pouco mofo e coloração verde-amarelada; queijo ligeiramente picante, crescimento abundante de mofo e coloração verde-azulada e massa fundente; queijo picante, crescimento abundante de mofos, cor verde-brilhante, massa quebradiça e queijo muito picante, com coloração verde-escura e massa fundente (FURTADO, 2013).

A textura do queijo tipo Gorgonzola deve ser aberta e apresentar corpo quebradiço, sem elasticidade, se retém à faca quando cortado e dissolve-se quando consumido (FURTADO, 2003).

O queijo Azul ou tipo Gorgonzola é considerado um alimento vivo, por estar maturando e mudando suas características sensoriais constantemente. O consumo é aconselhado logo após a compra, depois de meia hora em temperatura ambiente, para que as características sensoriais sejam ressaltadas e a melhor palatabilidade possa ser explorada (CPGC, 2015).

No Brasil, a diferença entre queijo Azul e queijo tipo Gorgonzola é apenas o tempo de maturação. Queijo Azul é maturado por 35 dias (BRASIL, 2007), enquanto queijo tipo Gorgonzola deve ser maturado por pelo menos 90 dias - 3 meses - segundo o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (BRASIL, 1952).

3.5.1 Processo de fabricação de queijo Azul e tipo Gorgonzola

Durante a produção do queijo tipo Gorgonzola, o leite integral é pasteurizado e posteriormente resfriado até 32 °C, adicionado do fermento láctico mesofílico à base de *Lactococcus lactis*, e do fungo *Penicillium roquefort*, cloreto de cálcio e coalho. Após a coagulação, são feitos cortes em cubos de 2 a 3 cm na coalhada,

que então é agitada e descansa para a dessoragem. Os blocos são triturados manualmente, adiciona-se sal fino, e o queijo é enformado ficando em temperatura ambiente (20 a 25 °C) por um dia para a completa fermentação e adequação do pH, que deve ser em torno de 4,7 – 4,8 e umidade em torno de 47 a 48% (FURTADO, 2013).

No outro dia se realiza a salga, que pode ser feita a seco ou em salmoura e a aplicação de natamicina por pulverização, imersão ou na própria salmoura, na concentração de 0,2 a 0,4% para evitar contaminações com bolores ou leveduras na superfície dos queijos. Após 24 horas, quando essa cobertura estiver seca, os queijos são perfurados mecanicamente (cerca de 150 furos de cada lado) e levados para a câmara de maturação, em temperatura e umidade controlada (temperatura: de 8 °C até 12 °C e umidade próxima aos 95%), em canaletas onde ficam de lado e são virados, inicialmente diariamente e posteriormente a cada dois dias, até completarem os 45 dias de maturação, onde são embalados e recolocados na câmara para aguardar mais um período de maturação, de mais 45 dias ou até 75 dias adicional, completado 90 ou 120 dias de maturação (FURTADO, 2013).

Durante a maturação é que o queijo adquire sua consistência, sabor e aroma, pois o *Penicillium roquefort* produz proteases e lipases, enzimas que realizam a lipólise, que libera ácidos graxos livres, oxida os ácidos graxos e posteriormente os descarboxila formando metil-cetonas, que são as responsáveis pelo aroma e sabor característicos (FURTADO, 2013). A Figura 2 apresenta o fluxograma resumido do processo de produção de queijo Azul e tipo Gorgonzola.

3.5.2 Características físico-químicas de queijo Azul e tipo Gorgonzola

O queijo tipo Gorgonzola é um queijo redondo, com tamanho aproximado de 25-30 cm de diâmetro, 16-20 cm de altura e peso entre 4,3 a 12 kg, porém estas medidas podem ser variáveis (SCOTT; ROBINSON; WILBEY, 2002).

Para Lourenço Neto (2013) a composição físico-química média de queijo tipo Gorgonzola está entre 48 a 52% de umidade (alta umidade), 28 a 30% de gordura no extrato seco (semi-gordo), 3,7 a 4% de sal e de 20 a 22% de proteínas. Segundo Furtado (2003) o tipo Gorgonzola pesa cerca de 3 kg, formato cilíndrico e massa de textura aberta, com umidade entre 45 e 48%, gordura entre 28 a 30%, gordura no extrato seco entre 49 e 55%, sal entre 3,0 e 3,5% e pH entre 5,7 e 5,9.

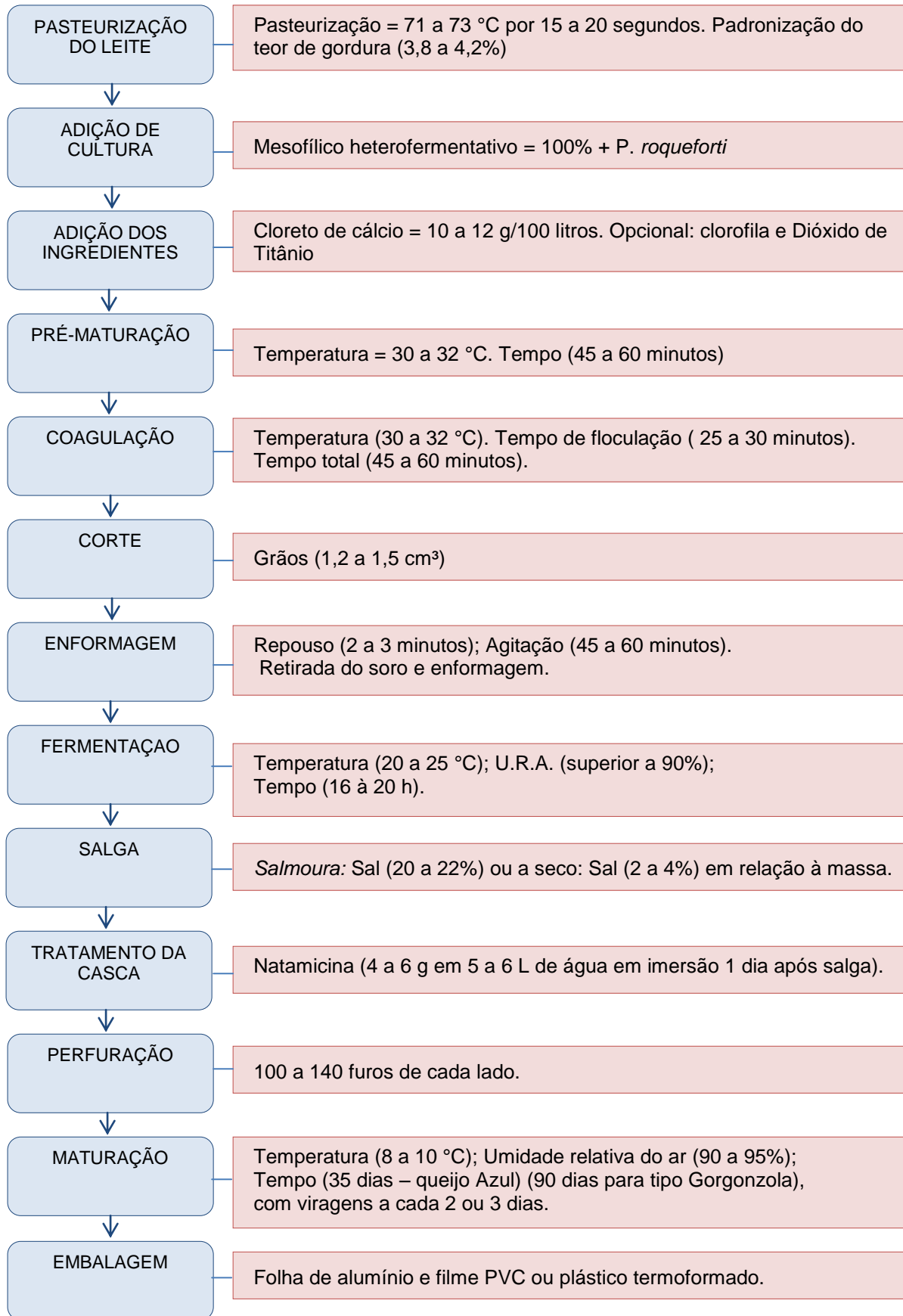


Figura 2- Fluxograma resumido do processo de produção de queijo Azul e tipo Gorgonzola
 Fonte: Modificado de Lourenço Neto (2013).

O queijo tipo Gorgonzola produzido no Brasil, possui as características mais parecidas com o Danablu. Já o Gorgonzola italiano é um queijo gordo, de massa crua, macio, cilíndrico, alto, reto, com face plana, peso em torno de 6 kg podendo chegar até 13 kg, com composição média de 48% de umidade, 30% de gordura, 2 a 3% de sal e 21% de proteína (FURTADO, 2003).

O regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal (BRASIL, 1952) dispõe que o queijo tipo Gorgonzola tem produção idêntica ao Roquefort, porém com a utilização do leite de vaca. Esse queijo deve ser de massa crua, não prensada, maturada por três meses. A cor desse queijo deve ser branco-creme apresentando as formações características verdes azuladas, bem distribuídas, devidas ao *Penicillium roquefort*.

3.5.3 Sistema CIELAB e Cor em queijos Azul e tipo Gorgonzola

A cor de algo é uma questão de interpretação e percepção subjetiva, que influencia no gosto, aceitação e poder de compra de algum objeto ou produto. A percepção da cor depende da luz, visão e do objeto e esta pode ser expressa em termos de tonalidade (amarelo, vermelho, verde, etc.), luminosidade (mais ou menos brilhante) e saturação (cores mais vivas do que outras) (MINOLTA, 1994).

Em 1976, a Comissão Internacional de L'Eclairage (CIE) desenvolveu um método para expressar quantitativamente a cor através do espaço de cor L^* , a^* e b^* (CIELAB), onde L^* indica a Luminosidade (indo de 0 – preto, a 100 – branco), e a^* e b^* indicam a cromaticidade, sendo que $+a^*$ é direcionado ao vermelho e $-a^*$ ao verde, e $+b^*$ direciona ao amarelo enquanto $-b^*$ ao azul. Valores mais altos dos parâmetros a^* e b^* indicam maior saturação. Através desse sistema a real cor de um alimento pode ser obtida através de um colorímetro (MINOLTA, 1994). A Figura 3 mostra a representação gráfica do espaço de cor L^* a^* b^* .

A cor amarelada de queijos tem relação com os carotenóides do leite, oriundos da alimentação animal, em virtude da fotossíntese dos vegetais que fazem parte da dieta destes, e o teor absorvido de pigmentos que é transferido ao leite pelo tecido adiposo. O leite da vaca é mais rico em carotenóides do que leite de cabra e ovelha, e conseqüentemente os queijos de leite de vaca são mais amarelados (FOX et al., 2000 apud MOREIRA, 2011).

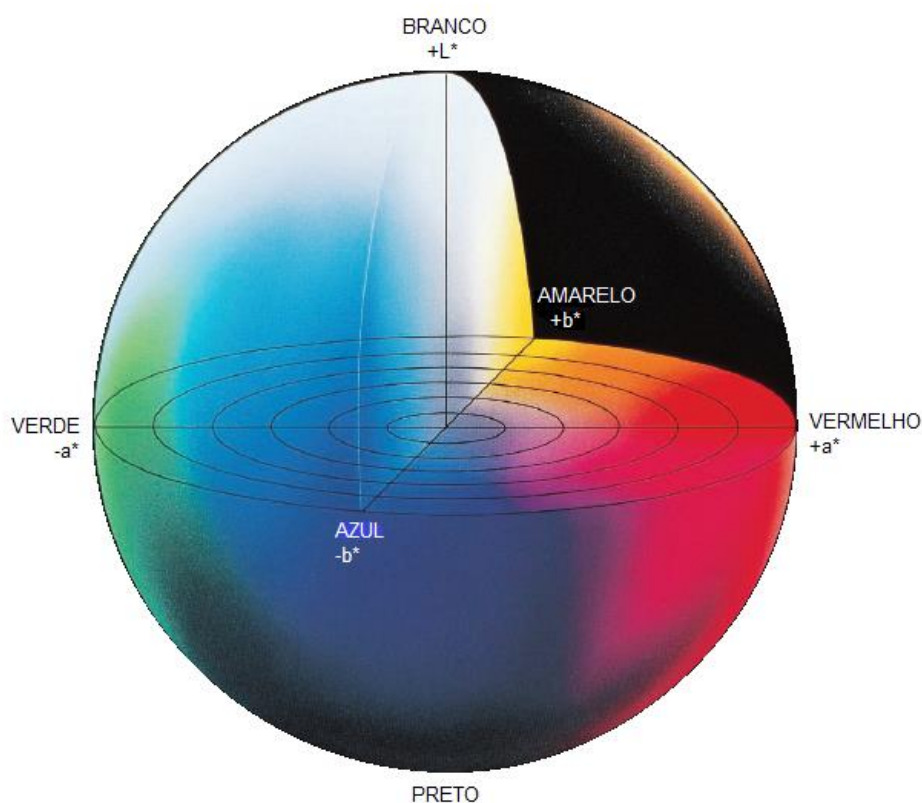


Figura 3 – Diagrama de cores para análise no colorímetro.

Fonte: MINOLTA (1994).

Quando o amarelamento é uma característica desejável também pode ser obtido através da adição de corantes, principalmente o urucum, por outro lado o branqueamento da massa pode ser feito através do tratamento com clorofila, água oxigenada, entre outros (FOX et al., 2000 apud MOREIRA, 2011).

A exposição à luz que ocorre durante o processamento de queijos, principalmente na maturação induz a degradação de lipídeos, vitaminas e proteínas causando mudanças na coloração que podem ser prejudiciais para a qualidade estética do alimento (NOLLET; TOLDRÁ, 2010 apud MOREIRA, 2011).

Em queijo Azul, a cor tende a ser modificada durante a maturação. A Luminosidade (L^*) tende a diminuir significativamente durante as primeiras duas semanas, posteriormente se mantendo constante até o final da maturação, que pode ter relação com a desidratação que o queijo sofre, pela perda de umidade. A coordenada a^* - vermelho ($+a^*$) verde ($-a^*$) – tende a mostrar a predominância da cor esverdeada e os valores negativos vão aumentando consideravelmente conforme a germinação e crescimento de *Penicillium roquefort*. Já a coordenada b^* -

amarelo (+b*) azul (-b*) – tende a mostrar uma leve tendência ao amarelado, e os baixos valores mostram que as veias verdes do fungo são predominantes sobre a matriz. Esse contraste é desejável e supervalorizado pelos consumidores de queijo Azul (DIEZHANDINO et al., 2016).

3.5.4 Ácidos graxos em queijos Azul e tipo Gorgonzola

Os ácidos graxos são frações lipídicas formadas por cadeias de carbono e grupamento carboxila, e diferenciam-se pelo tamanho da cadeia (de 4 a 8 carbonos – curta; de 10 a 14 carbonos – média; e de 16 a 20 carbonos – longa e mais de 20 carbonos – longuíssima); pelo grau de saturação (saturados – ausente de duplas ligações) ou insaturação (monoinsaturados – uma dupla ligação; poli-insaturados – mais de uma dupla ligação). Salvo algumas exceções, os ácidos graxos saturados são em maior parte sólidos em temperatura ambiente, pois tem ponto de fusão mais alto e os ácidos graxos insaturados são líquidos em temperatura ambiente com ponto de fusão mais baixo (REGITANO-D'ARCE, 2006).

Os ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 (ácido alfa-linolênico – 18:3n-3) e ômega-6 (ácido Linoléico – 18:2n-6) são ácidos graxos de cadeia longa, que não são sintetizados pelo organismo humano, o que os torna essenciais, ou seja, deve ser ofertado através da alimentação. É presente tanto em espécies vegetais como animais, porém as maiores fontes de ômega-3 são os peixes de águas profundas (salmão, linguado, sardinha) que além do ácido alfa-linolênico são ricos em ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosaenóico (DHA) por ingerirem o fitoplâncton marinho. A ingestão de ômega-3 deve ser proporcional com a de ômega-6 (MARTIN et al., 2006).

O teor de alguns ácidos graxos podem influenciar na qualidade lipídica e na relação com a saúde do consumidor, como por exemplo, os índices de aterogenicidade (IA) e trombogogenicidade (IT) que tem grande influência sobre a agregação plaquetária e doenças coronarianas. São considerados aterogênicos os ácidos graxos C12:0 (láurico); C14:0 (mirístico) e C16:0 (palmítico) e trombogênicos os ácidos C14:0; C16:0 e C18:0 (esteárico). Os ácidos graxos insaturados de modo geral, previnem a formação de placas e trombos e são considerados benéficos. Não há um valor de referência para IA e IT, quanto menor o índice, mais saudabilidade o alimento representa (TURAN, SÖNMEZ, KAYA, 2007).

Os ácidos graxos de derivados lácteos são sintetizados na glândula mamária ou provém de lipoproteínas plasmáticas. De 25 a 35% do consumo humano de ácidos graxos saturados são originários de produtos lácteos (CHILLIARD; FERLAY, 2004), porém os derivados lácteos também são boas fontes de ácido linoléico conjugado, um tipo de ácido graxo que tem grande resposta anti carcinogênica, anti obesidade, proteção contra diabetes, aterosclerose e reações anti-inflamatórias, e que são encontradas principalmente em leite orgânico e que não são afetadas pelo aquecimento ou fermentação (BISIG et al., 2007).

O teor de ácidos graxos de leite de vaca é formado principalmente por ácidos graxos saturados como o ácido palmítico, esteárico, butírico e pelo ácido graxo monoinsaturado ácido oleico (REGITANO-D'ARCE, 2006). O perfil dos ácidos graxos do leite compreende 7% de ácidos graxos de cadeia curta – C4 a C8 – 15 a 20% de cadeia média – C10 a C14 – e 73 a 78% de cadeia longa – maiores de C16 – e alguns poucos ácidos graxos ímpares e ramificados (SHAHIDI; SENANAYAKE, 2009).

A I Diretriz sobre o consumo de gorduras e saúde cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia indica que o consumo de gordura total deve representar de 25 a 35% do VET e que a gordura saturada deve limitar-se a até 10% do VET para indivíduos saudáveis e até 7% do VET para pessoas com fatores de risco para doenças cardiovasculares como dislipidemias, hipertensão, entre outros. O consumo além do recomendado para ácidos graxos saturados relaciona-se com alterações do perfil lipídico como aumento do LDL (lipoproteína de baixa densidade) e redução do HDL (lipoproteína de alta densidade), aumento da pressão arterial, riscos de Diabetes *Melittus* e obesidade (SANTOS et al., 2013).

Por sua vez, cada ácido graxo tem efeito diferenciado, o ácido esteárico é considerado neutro em relação à saúde humana, pois tem baixo nível de absorção intestinal. O ácido palmítico, um dos mais abundantes nos alimentos, inclusive no leite humano está relacionado com o aumento de LDL, e juntamente com o ácido mirístico tem ação também sobre o aumento do HDL (SANTOS et al., 2013).

O ácido graxo monoinsaturado oleico, rico em lácteos e derivados assim como em azeite de oliva, possui capacidade de retardar o esvaziamento gástrico, aumentando assim a saciedade, e contém atividades anti-inflamatórias que diminui o risco de artrite reumatoide. Possui atividade hipotensora e diminui a incidência de

doenças cardiovasculares, assim como diminui a resistência insulínica prevenindo a Diabetes *Melittus* (ZAMORA ARDOY et al., 2004).

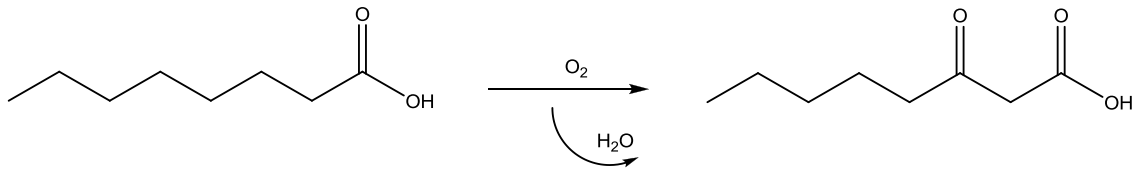
Vários são os fatores que interferem no teor de ácidos graxos do leite e conseqüentemente do queijo, entre eles o tipo e a alimentação do animal (CHILLIARD; FERLAY, 2004) e a estação do ano (inverno e verão) devido à alimentação do animal ser diferente de acordo com a sazonalidade, onde a forragem fresca confere perfil de ácidos graxos mais favorável à saúde (CHION et al., 2010), a altitude da região produtora de leite (região de altas montanhas resultam em laticínios com maiores índices de ácido linoléico conjugado) (COLLOMB et al., 2002), entre outros.

Queijos de coloração amarelada tem maior relação com grandes quantidades de gordura saturada, porém a idéia de que queijos brancos são lipidicamente adequados não é correta, visto os corantes e processos industriais, devendo o consumo de qualquer queijo ser realizado com precaução dando preferência aos com menor teor de gordura saturada (SANTOS et al., 2013).

Uma análise comparativa de queijos brancos (Coalho e Ricota) com queijos amarelos (Muçarela e Prato) comercializados no Brasil provou a independência da cor dos queijos em relação ao perfil lipídico, visto concentrações parecidas de gordura saturada em ambos os tipos. Além disso, a Ricota apresentou índices menores de ácidos monoinsaturados e poli-insaturados em relação aos queijos amarelos (GUILHERME, 2010).

Porém, no queijo Azul ou tipo Gorgonzola, o *Penicillium roquefort* produz lipases que degradam os triglicerídeos, liberando ácidos graxos livres através da ruptura da ligação éster e esses ácidos graxos são β -oxidados, liberando água e formando cetoácidos que são descarboxilados por descarboxilases fúngicas e se convertem em metil-cetonas (principalmente 2-pentanona, 2-heptanona e 2-nonanona) que são compostos aromáticos responsáveis pelo *flavor* de queijo Azul (FURTADO, 2013). As reações químicas podem ser observadas na Figura 4.

Em queijos Azuis muito maturados, os ácidos graxos livres podem reagir com sódio formando estearato de sódio ou com potássio formando palmitato de potássio, causando a reação de saponificação e prejudicando o sabor do queijo (FURTADO, 2013).



Inicialmente o ácido caprílico, liberado pela ação lipolítica do *Penicillium glaucum* ou *Penicillium roquefort* sofre uma oxidação (oxigênio livre existente, facilitado pelas perfurações) no carbono beta, e se transforma em um ácido beta-cetônico ou cetoácido, com liberação de água.

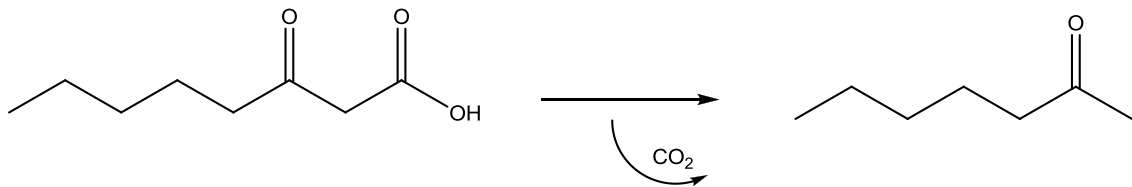


Figura 4 – Reações de oxidação e descarboxilação de ácidos graxos na maturação de queijo Azul

Fonte: Modificado de Furtado (2013).

3.5.5 Métodos para determinação de ácidos graxos nos alimentos

Várias metodologias podem ser utilizadas para a separação e posterior identificação de ácidos graxos em alimentos e outros produtos. Dentre estas formas estão a cromatografia em fase gasosa (CG) e a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com o uso de diferentes detectores e a eletroforese capilar com diferentes técnicas (LIMA, 2009).

Na cromatografia gasosa, as substâncias precisam ser volatilizadas, os ácidos graxos de cadeia curta podem ser analisados diretamente, porém os de cadeia longa necessitam derivatização em virtude de que o ponto de ebulição e o peso molecular são próximos da decomposição do mesmo. Apesar dos diferentes detectores que podem ser utilizados, como o espectrômetro de massas por exemplo, o detector de ionização de chamas é o mais útil, pois, gera pirólise na chama e produz íons no processo, provocando melhor identificação das substâncias e rapidez da análise (LIMA, 2009).

A baixa absorvidade molar dos ácidos graxos torna difícil a detecção ultravioleta (UV) no método CLAE, sendo necessários tipos específicos de detectores. Na eletroforese capilar (técnica de separação onde há migração por diferença de espécies iônicas em campo elétrico) há dificuldade para analisar ácidos graxos, devido estes não serem sensíveis por falta de grupos cromóforos intensos e solubilidade limitada em sistemas aquosos. Vários estudos tem sido realizados para viabilizar a utilização destes dois métodos (LIMA, 2009).

Na cromatografia em fase gasosa, a amostra é injetada no cromatógrafo, e essa precisa ser gasosa ou líquida volatilizada, então passa por uma fase estacionária (coluna) através de uma fase móvel (gás de arraste). Conforme as moléculas da amostra passam sobre a coluna do cromatógrafo, as mesmas podem ser adsorvidas por sítios ativos ou separadas por partição entre fase móvel e estacionária conforme a afinidade. Os compostos saem da coluna em tempos diferentes (tempo de retenção) e são enviados para um detector (ionização de chama, espectrometria de massa, etc.) que gera os picos em cromatogramas (ARGENTON, 2010).

Os resultados da cromatografia em fase gasosa de ácidos graxos permitem caracterizar leite e queijo e inclusive verificar as diferenças durante a maturação (LESIC et al., 2016), diferenciar queijos legítimos de imitações (KIM et al., 2014), discriminar queijos de diferentes espécies de mamíferos (GONZÁLEZ-MARTÍN et al., 2017), entre outros.

3.5.6 Defeitos e contaminações em queijo Azul e tipo Gorgonzola

Vários são os defeitos que podem ocorrer em queijo tipo Gorgonzola. Segundo Furtado (2003), o crescimento insuficiente do mofo ou a má distribuição deste na massa, que podem estar relacionadas com vários fatores como a massa muito compacta; fungo com baixa atividade biológica; leite pasteurizado em altas temperaturas; sal em concentração maior ou igual a 13% que inibe completamente o crescimento de *Penicillium roquefort*; temperatura de maturação abaixo de 5 °C e presença de antibióticos no leite que não permitem a redução do pH e acidificação necessária. Ao contrário, queijo excessivamente mofado também é um defeito que causa sabor desagradável e pode estar relacionado à adição exagerada de mofo ou a massa muito aberta.

O sal também pode influenciar na ausência de mofo na região periférica, onde *Penicillium roquefort* cresce apenas no centro do queijo, em virtude da concentração de sal ser maior e umidade menor quanto mais próximo à casca. Quando o sal não migra suficientemente para a região interna do queijo, ocorre maior proteólise no centro, ficando o queijo com mancha de coloração creme na região central. Durante a maturação, caso o queijo Azul ou tipo Gorgonzola não seja virado constantemente,

pode ocorrer o crescimento de mofo em apenas metade da massa (FURTADO, 2013).

Algumas contaminações podem interferir no aspecto de queijo Azul e tipo Gorgonzola, como a formação de limo resultante do crescimento de alguns bolores, leveduras e principalmente da bactéria *Brevibacterium linens* que se manifesta com a elevação do pH, o crescimento de mofos contaminantes na casca do queijo, em função das condições de maturação para *Penicillium roquefort* que também facilita a proliferação de mofos contaminantes como *Aspergillus*, *Mucor* e outras espécies de *Penicillium*, e manchas de coloração creme e rosada no interior do queijo, por contaminação durante a perfuração ou posteriormente, geralmente causada pelo mofo *Geotrichum penicillatum*, por *Micrococcus* e leveduras do gênero *Candida*. Em alguns casos, a ausência de crescimento de *Penicillium roquefort* no queijo pode ocorrer pela competição com *Geotrichum candidum*, que tem características de fungo e levedura e utiliza das mesmas características de crescimento (FURTADO, 2013).

Queijo Azul excessivamente ressecado é um dos problemas mais graves e rotineiros da indústria e geralmente está relacionado a baixo teor de umidade da câmara de maturação ou ao baixo teor de gordura no extrato seco, mas também pode acontecer quando a coalhada é cortada em grãos muito pequenos, demora excessiva na enformagem, ou quando a câmara é muito grande em relação aos queijos ou há correntes de ar muito fortes (FURTADO, 2003).

Em massas que não foram suficientemente dessoradas ou com muita lactose, o pH não se eleva rapidamente para a condição ótima de proteólise e lipólise (em torno de pH 6,0) e o queijo fica sem sabor, mesmo que mofado. Já em queijos super maturados, pode ocorrer saponificação, pois os ácidos graxos livres reagem com o cálcio ou potássio e formam sabões, interferindo no sabor. Por outro lado, queijos pouco mofados tendem a ter sabor amargo, pois o pH baixo dos primeiros dias de maturação favorece a ação de *aspartil-proteases* do *Penicillium roquefort* que forma peptídeos amargos, característica que tende a desaparecer após longos períodos de maturação (FURTADO, 2013).

Fungos crescem em alimentos com pH baixo, umidade, atividade de água e baixa temperatura, podendo produzir micotoxinas que tem ação negativa sob a saúde humana, como poder cancerígeno (DELVES-BROUGHTON et al., 2005).

Os fungos mais comuns visualizados em queijos maturados com casca, como o queijo tipo Gorgonzola, são os do gênero *Penicillium*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Monillia* e *Geotrichum*. Apesar da maior parte dos mofos em queijos não serem patogênicos, o gênero *Aspergillus flavus* produz aflatoxina B1, que apesar de não comum, causa sérios danos à saúde dos consumidores. Além do mofo e de leveduras contaminantes, bactérias *corineformes* como *Brevibacterium linens* trazem problemas como casca melosa e avermelhada, causando limo na casca dos queijos e rejeição dos consumidores (FURTADO, 2003).

Formas de evitar o crescimento de fungos indesejáveis nos queijos incluem a viragem regular deste, o tratamento com antifúngicos, como a natamicina, higiene e sanitização das câmaras de maturação e salmoura adequada (FURTADO, 2005).

3.6 NATAMICINA

A natamicina é um antibiótico descoberto em 1955 de um filtrado de *Streptomyces natalensis* em Província Natal da África do Sul, de onde se originou o nome do composto. Sua estrutura completa foi elucidada posteriormente, em 1964, como sendo um macrólido polieno tetraeno (DELVES-BROUGHTON et al., 2005). A Figura 5 mostra a estrutura química da natamicina.

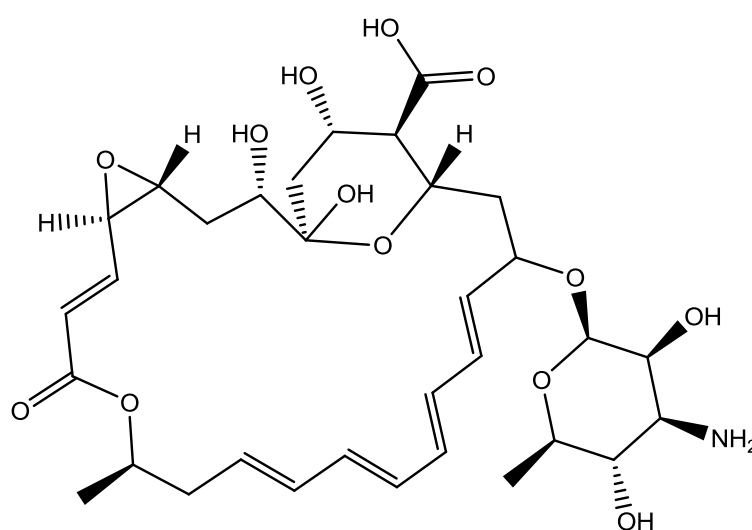


Figura 5 - Estrutura química da natamicina

Fonte: Modificado de Chen; Lu; Du (2008).

A natamicina é também chamada de pimaricina, tenecitina e miprozina (JAY, 2005), podendo ser produzida na natureza por *Streptomyces gilvoporeus* (CHEN; LU; DU, 2008). Entretanto geralmente é produzida por *Streptomyces natalensis*, tendo ação fungicida relevante, mas ineficaz contra bactérias (FURTADO, 1991; JAY, 2005).

A natamicina é um pó branco, praticamente insolúvel em água, pouco solúvel em metanol, e mais solúvel em ácido acético glacial e dimetilformamida (Food Chemicals Codex, 2010-2011). A baixa solubilidade em água (aproximadamente 30 - 50 mg/L) garante que esta permaneça na superfície e não migre para a matriz alimentar.

Composto insípido e inodoro, a natamicina é comercializada com o nome de Delvocid, uma mistura com lactose na proporção 1:1 (Natamicina:Lactose), cuja presença de luz, pH extremo, oxidantes, cloro e metais pesados podem reduzir sua atividade (DELVES-BROUGHTON et al., 2005).

A degradação de natamicina resulta na formação de micosamina, por hidrólise de ligação glicosídica, ou aponatamicina, um composto resultante de degradação ácida (VENTURINI, 2012).

A inativação de bolores e leveduras está diretamente relacionada à concentração da natamicina aplicada e ao método utilizado (RESA; JAGUS; GERSCHENSON, 2014). Os bolores são suscetíveis a concentrações mínimas inibitórias de 0,1 a 10 µg/mL de natamicina, já as leveduras são inibidas de 1 a 5 µg/mL de concentração. Este antibiótico realiza ligação irreversível ao ergosterol celular do fungo levando à formação de canais iônicos e consequentemente aumentando a permeabilidade celular e resultando em morte microbiológica. A ineficácia contra bactérias é útil à indústria alimentícia, pois não interfere na fermentação ou em processos de amadurecimento (DELVES-BROUGHTON et al., 2005).

Na área farmacêutica, a natamicina é um antifúngico tópico usado como medicamento no tratamento de doenças infecciosas oftalmológicas de origem micótica, como por exemplo, a ceratite fúngica, que é uma importante causa de perda visual por perfurações na córnea (SUN et al., 2014).

É um dos poucos antibióticos que pode ser usado como aditivo alimentar (CHEN; LU; DU, 2008). Os aditivos alimentares se caracterizam pelas substâncias não nutritivas adicionadas de forma intencional ao alimento durante algum dos

processos pelo qual passa o produto, modificando sua característica. A natamicina se caracteriza por um aditivo conservador, impedindo ou retardando a alteração de certos alimentos por micro-organismos (GAVA; SILVA; FRIAS, 2008).

3.6.1 Utilização de natamicina em produtos alimentícios

A natamicina é de uso permitido em queijos no Brasil, a partir da resolução nº 04, de 24 de novembro de 1988, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária que aprovou as tabelas de uso intencional de aditivos (BRASIL, 1988), desde que usada com a função de conservante, no limite máximo de 1 mg/dm² ou então 5 mg/kg na superfície, não devendo ser detectada a 2 mm de profundidade em queijos cortados ou fatiados e deve estar ausente na massa; além de doce de leite e requeijão em superfície livre, não superior a 1 mg/dm² (BRASIL, 1996).

A natamicina atua na superfície de queijos e não interfere no crescimento de *Penicillium roquefort* no interior do queijo, o que é desejável (OLIVEIRA et al., 2006). O uso deste antibiótico em superfícies de queijos é permitido em 32 países, mas poucos permitem o uso deste como aditivo alimentar em outros alimentos (KALLINTERI; KOSTOULA; SAVVAIDIS, 2013).

A Resolução nº 28 de 23 de fevereiro de 2001, aprovou o uso da natamicina na superfície de produtos cárneos embutidos, no limite de 1 mg/dm², ausente a 5 mm de profundidade (BRASIL, 2001).

Segundo Pesquisadores Europeus de Aditivos Alimentares e Fonte de Nutrientes Adicionados aos Alimentos - EFSA (2009) a utilização de natamicina em queijos e embutidos não leva à resistência microbiana e seu uso é seguro visto à má absorção e posterior eliminação na forma intacta ou como produtos de degradação. Uma quantidade segura seria a ingestão de até 0,3 mg/kg/dia (JECFA, 2007). Doses orais diárias de 300 a 400 mg resultaram em náuseas, vômito e diarreia (SULLOF, 1999).

Apesar disto, um experimento com ratos resultou na diminuição da atividade dos CYP2E, CYP1A, CYP2B e subfamílias CYP4A do sistema do cromossomo P450 no fígado dos animais, o que indica que a natamicina embora não seja diretamente tóxica, pode levar a toxicidade secundária de outras substâncias que são metabolizadas por estas CYP enzimas. Sendo assim, a aplicação de natamicina não deve ser utilizada em quantidades excessivas (MARTÍNEZ et al., 2013).

Kallinteri, Kostoula e Savvaidis (2013) verificaram que os tratamentos com natamicina isolada ou combinada com nisina inibiram de forma eficiente o crescimento de fungos, levando a um aumento de vida útil de 100% em queijo Galotyri. Além disso, queijos não tratados com natamicina desenvolveram aroma indesejável e textura aquosa (OLIVEIRA et al., 2006).

A aplicação de natamicina pode ser realizada diretamente em alimentos líquidos, ou então na superfície de alimentos sólidos através de imersão, pulverização ou durante a salga (FAJARDO et al., 2010). A Figura 6 demonstra a aplicação de natamicina em queijo Azul pelo método de imersão.



Figura 6 - Imersão de queijo Azul em solução de natamicina

Fonte: Furtado (2013).

O efeito benéfico quando aplicada diretamente em alimentos pode ser reduzido pela interação com outros aditivos ou com componentes da matriz alimentícia (TURE et al., 2011). Seu uso também pode ser conjunto com biopolímeros renováveis em embalagens ativas aos quais a natamicina pode ser liberada gradativamente (BALAGUER et al., 2014), como em biofilmes de natamicina com amido de tapioca (RESA; JAGUS; GERSCHENSON, 2014), com glúten de trigo e metilcelulose (TURE et al., 2011), com celulose (OLIVEIRA et al., 2007) ou quitosana (FAJARDO et al., 2010).

De acordo com Oliveira et al. (2007), a eficácia da barreira antifúngica em filmes dependerá da concentração liberada e da superfície de contato da embalagem com o queijo. Hanusová, Dobiás e Voldrich (2012) criaram uma película de polímero com camada de verniz contendo natamicina para embalar queijos e

verificaram que a eficiência antimicrobiana é maior em uma migração eficiente, que ocorre quanto mais apertado for o contato da embalagem com o produto. Lantano et al. (2014) sugerem que a migração da substância está relacionada com a porcentagem do componente orgânico envolvido na embalagem.

Resa, Jagus e Gerschson (2014) compararam amostra de queijo controle com amostras de queijo com aplicação de natamicina em filme à base de amido de tapioca e de queijo com aplicação de natamicina por pulverização, para o crescimento de *S. cerevisiae*, *Z. rouxii* e *Y. lipolytica*, sendo o método mais eficaz o de aplicação de filme, visto que a pulverização foi efetiva somente nas primeiras 24 horas, retomando o crescimento microbiológico após esse período, semelhante ao caso controle.

Brustolin (2009) percebendo a ineficiência das indústrias brasileiras quanto aos controles na maturação de embutidos, avaliou a ação da natamicina em diferentes concentrações e diferentes formas de aplicação (0,1%; 0,05% e 0,025% aplicado por imersão na tripa e 0,1% sob aspensão em defumação nos dias 0 e 5) em salame italiano, no crescimento de bolores e leveduras. A concentração de natamicina a 0,1% obteve maior controle microbiológico, independente do método de aplicação. Para as análises físico-químicas e sensoriais, não houve nenhuma diferença entre o salame italiano padrão e os adicionados de natamicina. Devido à aspensão ser um processo de difícil realização, e que pode resultar em falhas na aplicação do conservante, o método escolhido para implantação industrial foi o de imersão a 0,1%.

A adição de natamicina em produtos não autorizados ou em quantidades superiores ao estipulado pela legislação se caracteriza como fraude por adulteração, e a comercialização de produtos fraudados deve sofrer sanções penais, porém a fiscalização pelos órgãos competentes é precária (EVANGELISTA, 2008).

A Tabela 2 apresenta a lista dos países e a especificidade de qual alimento pode ser adicionado do conservante natamicina.

Embora a legislação seja bem específica quanto ao uso da natamicina, a indústria também utiliza o antifúngico em produtos não autorizados. Devido o alto crescimento de fungos e leveduras em pH baixo e conseqüente redução do tempo de prateleira, em 78 amostras de iogurte analisadas na Turquia, 33 foram detectadas com o antifúngico, e destas, 3 possuíam natamicina acima do valor recomendado de adição em alimentos (DERVISOGLU et al., 2014).

Tabela 2: Países onde há autorização mundial para o uso de Natamicina

País	Código	País	Código
Argélia	A	Lituânia	A
Argentina	AB	Luxemburgo	AB
Austrália	AB	Mauritânia	AB
Áustria	AB	México	A
Bahrein	A	Marrocos	AB
Bélgica	AB	Holanda	AB
Brasil	AB*	Nova Zelândia	AB
Bulgária	A	Noruega	AB
Canadá	A	Omã	P
Chile	A	Polônia	AB
China	ABCD	Portugal	AB
Colômbia	A	Paraguai	A
Croácia	AB	Qatar	P
Chipre	A	Arábia Saudita	P
República Tcheca	AB	Singapura	A
Dinamarca	AB	República Eslovaca	AB
Equador	A	Eslovênia	AB
Egito	A	Espanha	AB
Eire	AB	África do Sul	ABDEFGHJK
Estônia	AB	Suécia	AB
Finlândia	AB	Suíça	AB
França	AB	Síria	P
Alemanha	AB	Taiwan	AB
Grécia	AB	Tunísia	AB
Hungria	AB	Turquia	AB
Islândia	A	Ucrânia	A
Índia	A	Emirados Árabes	P
Itália	AB	Reino Unido	AB
Jordânia	P	EUA	A
Kuwait	P	Uruguai	A
Letônia	AB	Venezuela	A
Líbano	P	República do Iêmen	P

A = tratamento de superfície de queijo especificado, cascas de queijo (queijo ralado somente nos Estados Unidos); B = tratamento de superfície de carnes processadas especificadas; C = tratamento de superfície de determinadas mercadorias cozidas; D = suco de frutas; E = vinho; F = produtos de peixe; G = iogurte; H = alimentos enlatados; I = creme de leite; J = cream cheese; K = queijo cottage; P = aditivo permitido.

Fonte: Delves-Broughton et al. (2005).

*No Brasil é permitida a adição de natamicina em doce de leite e requeijão em superfície livre não superior a 1mg/dm² (BRASIL, 1996).

Da mesma forma, a adição de natamicina em vinho e suco de uva é permitida na África do Sul, e na China (somente suco), mas não é admitida no Brasil assim como em todo o continente americano e europeu. No ano de 2009 o governo alemão detectou a presença do composto em vinhos importados argentinos cessando a comercialização destes no mercado alemão (VENTURINI, 2012).

Roberts et al. (2011) analisaram natamicina em vinho e dos 190 vinhos analisados, 50 amostras obtiveram resultados positivos, acima de 5 mg/L, mesmo

não sendo permitido a utilização do antibiótico como conservante neste tipo de bebida.

Em Doogh, uma bebida iraniana que segundo a legislação nacional não pode receber adição de conservantes houve detecção de 1,7 mg de natamicina no produto (FAHIM et al., 2012).

3.6.2 Métodos analíticos para determinação de natamicina em alimentos

A análise de natamicina geralmente utiliza solventes orgânicos para a extração do antibiótico da amostra (PASEIRO-CERRATO et al., 2013). Os métodos analíticos para determinação de natamicina podem ser a espectrofotometria UV derivada e a cromatografia líquida de alta eficiência (FAHIM et al., 2012).

A espectrofotometria UV consiste na determinação quantitativa de determinada substância em uma amostra, que colocada sob o caminho óptico do espectrofotômetro mede a absorvância gerada por intermédio da luz que incide em determinado comprimento de onda. Esse método analítico muito utilizado baseia-se na Lei de Lambert-Beer podendo ser aplicado sobre diversos tipos de amostra e com custo relativamente baixo. Alternativas para melhorar a sensibilidade do método como a formação de produtos com maior absorvidade molar, aumento do caminho óptico e separação e concentração do analito que podem trazer maior exatidão aos resultados (ROCHA; TEIXEIRA, 2004).

Para quantificação de substâncias em amostras multicomponentes, como fármacos ou multimisturas, por exemplo, onde a utilização da espectrofotometria convencional forma sobreposições de leitura, é necessário utilizar a espectrofotometria derivada. A derivação individualiza os constituintes através da amplificação do sinal da derivada e diminuição do ruído. Muitas técnicas derivativas podem ser utilizadas, e a amostra não necessita de tratamento prévio (DONATO et al., 2010).

Na validação de um método analítico se deve levar em consideração parâmetros como seletividade, limites de detecção e quantificação, exatidão, precisão, linearidade, curva de calibração, sensibilidade e robustez. Na avaliação de componentes em níveis de traços, o limite de detecção - LD (menor concentração do analito que pode ser detectada) e o limite de quantificação - LQ (menor concentração do analito que pode ser quantificada na amostra) são 3 e 10 vezes o

desvio padrão do branco lido no equipamento, respectivamente, e são fundamentais para determinar a viabilidade da metodologia aplicada (BRITO et al., 2003).

Segundo Fletouris, Botsoglou e Mantis (1995) apesar de haver outros métodos de quantificação de natamicina e possibilidade de quantificá-la por espectrofotometria na 2^o derivada, pouca precisão e alto limite de detecção não tornam esses métodos viáveis. Contudo, a terceira derivada espectrofotométrica obtém boa precisão e limite de detecção de 0,25 mg/kg, inatingível por outros métodos, com exceção da cromatografia líquida.

Para a extração da natamicina da matriz alimentar, o uso de acetonitrila acidificada é fundamental para obtenção de uma boa extração, com filtrado estável, homogêneo e claro, ideal para espectrofotometria. Quanto à leitura dos espectros na terceira derivada, qualquer um dos vales formados a partir da inflexão da linha de base poderia ser relacionado com a concentração de natamicina, porém, em amostras proteicas, os aminoácidos aromáticos, principalmente triptofano e tirosina podem interferir na amostra até 315 nm (FLETOURIS; BOTSOGLOU; MANTIS,1995).

Oliveira et al. (2006) utilizou a espectrofotometria UV na terceira derivada para avaliar queijo tipo Gorgonzola produzido na Universidade Federal de Viçosa, e obteve bons resultados na reprodução do método e análise, verificando que os queijos estavam com concentração de natamicina de acordo com o recomendado pela legislação brasileira.

Por outro lado, o método CLAE, consiste em uma análise mais complexa e sofisticada, porém com maior custo comparado aos métodos analíticos anteriores, pois além do custo do equipamento e da coluna apropriada, requer eluentes de alta pureza. É utilizada tanto para separação quanto quantificação de compostos não voláteis em amostras mais complexas, onde o solvente adequado é impulsionado em direção a uma coluna e a amostra é introduzida nesta fase móvel. Na coluna, ocorre a separação por afinidade e o resíduo da coluna é direcionado para um detector acoplado, que pode ser o UV visível, o Detector de Arranjos de Diodos (DAD) ou o Espectrômetro de massas (EM). O espectrômetro de massas é considerado mais eficaz na técnica qualitativa de identificação (LANÇAS, 2009).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 AMOSTRAGEM

Amostras de oito diferentes marcas de queijo tipo Gorgonzola disponíveis para o consumidor nos municípios que compõem a região Sudoeste do Paraná e Oeste de Santa Catarina, foram coletadas durante a segunda quinzena do mês de abril de 2016. Do total das oito amostras de queijo tipo Gorgonzola, seis (6) eram de procedência nacional e duas (2) importadas, sendo uma da Argentina e outra da Itália (legítimo queijo Gorgonzola Dolce). As amostras foram codificadas com letras do alfabeto brasileiro (A, B, C, D, E, F, G e H), a fim de preservar a identidade de cada marca. Todas as marcas de queijo tipo Gorgonzola disponíveis no comércio da região em estudo foram coletadas em três repetições do mesmo lote, totalizando 24 amostras. As marcas possuíam diferentes tempos de maturação, que variava entre 100 e 120 dias na data de coleta. As amostras foram acondicionadas e transportadas em caixas térmicas até o complexo de laboratórios da Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS Campus Realeza onde foram realizadas as análises em triplicata.

Posteriormente, foi realizada parceria com uma indústria de queijo Azul do Sudoeste do Paraná, que cedeu 3 amostras de queijo Azul de um mesmo tanque e lote, que haviam sido imersos em solução de 3% de natamicina por 2 segundos, e que foram analisados nos dias 0, 35 e 45; e posteriormente outras 3 amostras onde cada queijo havia sido imerso em solução aquosa de natamicina 1,5% por 2 segundos e mantido lado a lado na câmara de maturação, sendo uma cunha de cada queijo coletada nos dias 0, 7, 14, 25, 35 e 45 para verificar o comportamento da natamicina ao longo da maturação.

4.2 QUANTIFICAÇÃO DE NATAMICINA, AVALIAÇÃO DA MIGRAÇÃO INTERNA E DECLÍNIO AO LONGO DA MATURAÇÃO

Para quantificação de natamicina, empregou-se a metodologia elaborada por Fletouris, Botsoglou e Mantis (1995), onde 5 gramas de queijo superficial de espessura de 2 mm foram utilizadas para extração do aditivo. A natamicina foi extraída do queijo (5 g) com a utilização de 25 mL de uma mistura de solventes

acetonitrila e ácido fosfórico 1 mol/L (4:1). Repetições a cada 2 mm foram realizadas para acompanhar a migração na parte interna do queijo, sendo medidas com o auxílio de paquímetro. As amostras de queijo foram misturadas com os solventes, agitadas em agitador magnético (1 minuto de agitação) e filtradas em papel filtro para análise de varredura em espectrofotômetro UV (Thermo Scientific, modelo Evolution 201) com leitura em 316 nm na terceira derivada. A curva de calibração de nove pontos foi obtida pela utilização de uma solução comercial de natamicina (Delvolid - 50% lactose e 50% natamicina) de concentração conhecida. Os resultados encontrados em µg/mL foram transformados em mg/kg por meio da equação 1 e os limites de detecção e quantificação foram determinados pelas equações 2 e 3, respectivamente, conforme metodologia da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2003). O declínio da natamicina ao longo do tempo foi realizado através da quantificação do antifúngico ao longo da maturação do queijo Azul.

$$\text{Concentração de natamicina (mg/kg)} = (\text{Concentração natamicina (µg/mL)} \times 25) / \text{Peso da amostra} \quad (1)$$

$$\text{Limite de Detecção (LD)} = (\text{Desvio padrão do branco} \times 3) / \text{Coeficiente angular da curva analítica} \quad (2)$$

$$\text{Limite de Quantificação (LQ)} = (\text{Desvio padrão do branco} \times 10) / \text{Coeficiente angular da curva analítica} \quad (3)$$

4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS QUEIJOS

As análises físico-químicas das diferentes marcas de queijo tipo Gorgonzola e de queijo Azul antes e após a maturação foram realizadas segundo metodologias oficiais da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1997) e do Instituto Adolfo Lutz (IAL – 2008), conforme descrito a seguir.

4.3.1 Umidade

Os teores de umidade foram determinados conforme as técnicas da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1997), onde as amostras foram colocadas em cadinhos secos na estufa a 105 °C e resfriadas em dessecador até peso constante. O Percentual de umidade foi obtido conforme a equação 4.

$$\%UMIDADE = (\text{Peso da Umidade (g)} \times 100) / \text{Peso da amostra} \quad (4)$$

4.3.2 Cinzas

A determinação do teor de cinzas foi realizada conforme as técnicas da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1997), através da incineração da amostra a 600°C em mufla por 10 horas e o percentual de cinzas calculado conforme equação 5.

$$\%CINZAS = (\text{Peso das Cinzas (g)} \times 100) / \text{Peso da amostra} \quad (5)$$

4.3.3 Proteínas totais

Os teores de proteínas foram determinados pelo método de Kjeldahl (1883) conforme as técnicas da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1997), onde as amostras foram colocadas em tubo de Kjeldahl juntamente com mistura catalítica (sulfato de sódio anidro e cobre pentahidratado (10:1)) e ácido sulfúrico. Então foram digeridas em um digestor de bancada até 400 °C e atingir a coloração azul esverdeada. Posteriormente as amostras foram destiladas em destilador de nitrogênio com hidróxido de sódio e foram recebidas em solução de ácido bórico para então serem tituladas com ácido clorídrico até a viragem de cor. O Percentual de Nitrogênio nas amostras de queijo, foi calculado de acordo com a equação 6 e o percentual de proteína foi encontrado por meio da equação 7.

$$\%N = (\text{Volume de HCl} \times \text{fator de correção} \times 0,0014 \text{ g N} \times 100) / \text{Peso da amostra} \quad (6)$$

$$\% PTN = \%N \times FC \quad (7)$$

FC – Fator de conversão - 6,38 (SILVA, QUEIROZ, 2009).

4.3.4 Lipídios Totais

Na determinação dos lipídios, foi empregado o método de Gerber, conforme o Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008), onde se pesou 3 g de amostra em butirômetro de queijo, adicionou-se 5 mL de água destilada em temperatura de 30 – 40 °C, 10 mL de ácido Sulfúrico e 1 mL de álcool Isoamílico, completando a escala do butirômetro com água destilada. O mesmo foi agitado e imerso em banho maria por 15 min a 65 °C e agitado em centrífuga para butirômetro por mais 15 min. A leitura do percentual de gordura foi feita na escala do butirômetro.

4.3.5 Carboidratos

Os teores de carboidratos foram obtidos por diferença entre 100% e a soma dos percentuais de umidade, cinzas, proteínas e lipídios totais conforme descrito no manual do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008) de acordo com a equação 8.

$$\%CHO = 100 - (\%umidade + \%cinzas + \%LIP + \%PTN) \quad (8)$$

4.3.6 Gordura no Extrato Seco

Para determinação da gordura no extrato seco (GES) empregou-se o método indireto do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008), por meio da equação 9.

$$\%GES = (\%LIP \times 100) / (100 - \%umidade) \quad (9)$$

4.3.7 Valor Calórico

O valor calórico foi obtido pela somatória dos teores de carboidratos e proteínas, multiplicados por quatro, e de lipídeos, multiplicados por nove, de acordo com os coeficientes de Atwater (TAGLE, 1981) conforme equação 10.

$$\text{Valor Calórico (Kcal/100g)} = (\%PTN \times 4) + (\%CHO \times 4) + (\%LIP \times 9) \quad (10)$$

4.3.8 Atividade de água

A atividade de água da parte central de cada queijo foi lida após 15 minutos constante na temperatura de 25 °C em equipamento medidor (Novasina LabMaster).

4.3.9 pH

O pH dos queijos foi obtido por pHmetro de bancada (MS Tecopon mPA210), após a preparação e homogeneização da amostra lavada com água destilada e filtrada em algodão conforme Instituto Adolfo Lutz (2008).

4.3.10 Sódio

A análise de sódio foi realizada por meio de fotometria de chama em fotômetro (Analyser modelo 910MS), a partir de uma curva de calibração de 5 pontos, e a leitura das amostras resultantes das cinzas solubilizadas com ácido clorídrico 1/1 e água ultrapura segundo *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1997).

4.3.11 Análise de cor

A cor dos queijos foi obtida por colorímetro (Konica Minolta CR-400), empregando o sistema CIELAB (CIE – Comissão Internacional de Iluminação e LAB – coordenadas colorimétrica L^* , a^* e b^*), com os valores de luminosidade (L^*) variando do branco ($L = 100$) ao preto ($L = 0$), coordenada vermelho ($+a^*$) e verde ($-a^*$) e coordenada amarelo ($+b^*$) e azul ($-b^*$) que variam de 0 a 60. Para isso, os queijos foram macerados de forma a incorporar o mofo por toda a massa do queijo e assim obter homogeneidade da amostra.

4.3.12 Perfil de ácidos graxos e Índices de qualidade lipídica

Para análise do perfil de ácidos graxos, os lipídios foram extraídos a frio dos queijos pelo método de Bligh-Dyer (1959) e transesterificados para ésteres metílicos

correspondentes de ácidos graxos pelo método da ISO 5509 (1978) com solução de n-hexano e hidróxido de potássio (2 mol/L) em metanol. Para a identificação dos ácidos graxos usou-se a técnica de cromatografia em fase gasosa, utilizando cromatógrafo da marca Shimadzu GC 2010, equipado com injetor *Split/splitless* marca AOC 20i Shimadzu e detector de ionização por chama; coluna capilar de sílica fundida, marca Supelco (F.S.CA.SP-2560), medindo 100 m x 0,25 mm x 20 µm de fase estacionária.

O modo de injeção foi *Splitless*, a temperatura do injetor foi de 260 °C, a temperatura inicial da coluna de 140 °C nos primeiros 5 minutos, aumentando 2,4 °C por minuto até atingir 240 °C por 17 minutos, com vazão do gás de arraste (hélio 5.0) de 1,21 mL/min, e detector de ionização de chama operando a 260 °C utilizando ar sintético e hidrogênio sendo o tempo total de corrida de 60 minutos.

A identificação dos ácidos graxos se deu por comparação do tempo de retenção do mix de padrão analítico da Sigma Aldrich identificado como 18919-1 AMP, o qual apresenta 37 padrões de Metil Ésteres de ácidos graxos e seus valores foram expressos e porcentagem de área de pico corrigido.

Os índices de qualidade lipídica, conhecidos como índices de aterogenicidade e trombogogenicidade foram determinados de acordo com o especificado por Ulbricht e Southgate (1991), conforme as equações 11 e 12.

$$\text{(IA): Índice de aterogenicidade} \\ [(C12:0 + (4 \times C14:0) + C16:0)] / (\Sigma\text{AGMI} + \Sigma n-6 + \Sigma n-3) \quad (11)$$

$$\text{(IT): Índice de trombogogenicidade} \\ (C14:0 + C16:0 + C18:0) / [(0,5 \times \Sigma\text{AGMI}) + (0,5 \times \Sigma n-6) + (3 \times \Sigma n-3) \\ + (\Sigma n-3/\Sigma n-6)] \quad (12)$$

4.4 TRATAMENTO DOS DADOS

A análise estatística de variância (ANOVA) e teste de Tukey foram utilizadas para comparar os resultados da concentração de natamicina entre as marcas de queijo tipo Gorgonzola e antes e após a maturação de queijo Azul, assim como para comparar os resultados de cada parâmetro físico-químico e de cor das diferentes marcas de queijos tipo Gorgonzola e na maturação do queijo Azul.

Para comparação das médias dos ácidos graxos em queijo Azul e nos queijos tipo Gorgonzola estudados, foi utilizado ANOVA e teste de Tukey para alguns ácidos e o teste não paramétrico de Kruskal Wallis para os componentes que não atingiram os pressupostos de normalidade e homocedasticidade.

O teste-t de Student foi utilizado para verificar as médias de natamicina consideradas maiores do que estabelece a legislação Brasileira.

Para todos os testes acima mencionados foi utilizado o intervalo de 95% de confiança. Para aplicação das análises foi utilizado o *software* ACTION®, versão 2015.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 QUANTIFICAÇÃO DE NATAMICINA E AVALIAÇÃO DA MIGRAÇÃO INTERNA EM QUEIJOS TIPO GORGONZOLA

De acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 1996), a natamicina é aceita como aditivo alimentar em queijos, porém sua presença só pode ser detectada na superfície, no limite de 5 mg/kg em sua casca, não devendo haver migração para o interior do queijo e não sendo detectável a 2 mm de profundidade. Para determinação da natamicina utilizou a espectrofotometria UV na terceira derivada a qual foi construída com base nos dados apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Concentração das soluções padrão de natamicina e suas respectivas médias de absorvância utilizadas na construção da curva de calibração.

Concentração Solução Padrão µg/mL	Média da profundidade do vale	Desvio Padrão Relativo
0,0	0,00028	0,00006
0,5	0,00149	0,00018
1,5	0,00436	0,00069
2,5	0,00726	0,00038
5,0	0,01429	0,00023
7,5	0,02125	0,00193
10,0	0,02717	0,00086
15,0	0,04330	0,00129
20,0	0,05519	0,00471

A curva de calibração da natamicina (Figura 7), apresentou boa precisão, com o coeficiente de correlação de Pearson igual a 0,99948, com Limite de Detecção (LD) de 0,24 mg/kg e Limite de Quantificação (LQ) igual a 1,2 mg/kg.

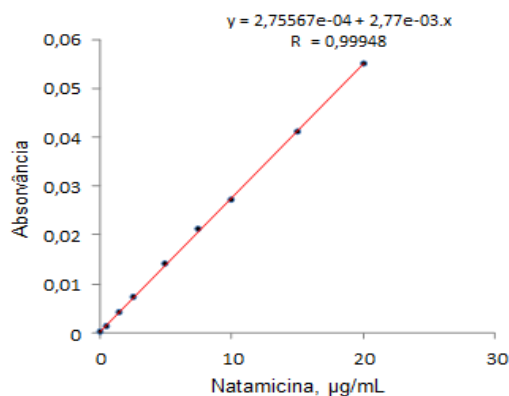


Figura 7 – Curva de Calibração da Natamicina.

Os espectros derivados obtidos na determinação de natamicina para cada amostra de queijo avaliada geraram vales a 316 nm (Figura 8) e os resultados foram comparados com a medida entre a linha de base e o vale, calculado em unidades arbitrárias, e comparados com a curva de calibração.

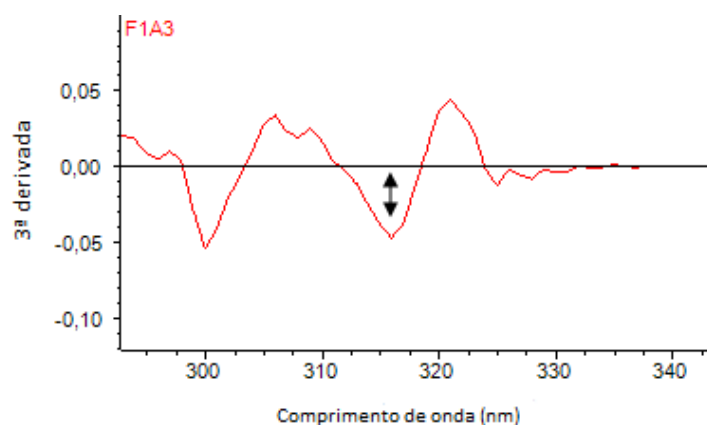


Figura 8 - Terceira Derivada da Espectrofotometria UV-VIS para determinação da concentração de natamicina em queijo tipo Gorgonzola.

Os resultados da concentração de natamicina (mg/kg) em queijos tipo Gorgonzola comercializados nas Regiões Sudoeste do Paraná e Oeste de Santa Catarina são apresentados na Tabela 4. Para atender aos pressupostos da análise de variância (normalidade e homocedasticidade) foi aplicado \sqrt{x} sobre os dados abaixo.

Tabela 4: Concentração de natamicina na casca e na massa em queijo tipo Gorgonzola comercializado no Sudoeste do Paraná e Oeste de Santa Catarina.

ORIGEM	MARCA	Camadas em mm			
		2 mm mg/kg (natamicina)	4 mm mg/kg (natamicina)	6 mm mg/kg (natamicina)	8 mm mg/kg (natamicina)
PR	A	20,43 ± 0,72 ^{c*A}	6,86 ± 3,61 ^{c*B}	1,52 ± 0,40 ^{c*B}	<LQ
MG	B	10,40 ± 2,56 ^{c*A}	4,65 ± 1,21 ^{c*B}	2,06 ± 0,76 ^{c*B}	1,33 ± 0,79 ^{a*B}
MG	C	2,80 ± 0,64 ^{d*A}	2,26 ± 0,40 ^{c*A}	1,60 ± 0,30 ^{c*A}	<LQ
RS	D	2,39 ± 0,34 ^{d*A}	2,37 ± 0,29 ^{c*A}	1,82 ± 0,33 ^{c*A}	1,40 ± 0,19 ^{a*A}
MG	E	2,70 ± 1,58 ^{d*A}	3,77 ± 2,24 ^{c*A}	2,31 ± 1,50 ^{bc*A}	3,63 ± 3,24 ^{a*A}
Argentina	F	45,68 ± 14,05 ^{b*A}	19,96 ± 7,55 ^{b*A}	6,31 ± 2,88 ^{b*A}	2,62 ± 1,98 ^{a*B}
MG	G	73,26 ± 11,11 ^{a*A}	36,17 ± 7,22 ^{a*B}	25,98 ± 0,93 ^{a*B}	18,07 ± 1,49 ^{b*B}
Itália	H	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ

Os resultados acima se referem à média ± desvio padrão de três repetições analisadas em triplicata. Letras minúsculas iguais sobrescritas na mesma coluna representam médias iguais pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). Letras

maiúsculas iguais sobrescritas na mesma linha representam médias iguais pelo teste de Tukey ou Kruskal Wallis ($p > 0,05$).

* média superior ao permitido pela legislação (5 mg/kg na casca ou ausente na massa) segundo teste t Student ao nível de 5% de significância. LD: 0,24 mg/kg. LQ: 1,2 mg/kg.

Para a casca (2 mm de profundidade), os queijos avaliados no presente estudo apresentaram concentrações de natamicina que variaram de 2,39 a 73,26 mg/kg, sendo as amostras A, B, F e G que apresentaram as maiores concentrações e acima do permitido para este alimento. Sendo assim, das oito marcas de queijo tipo Gorgonzola avaliadas, 50% apresentaram quantidade de natamicina na casca superior ao estabelecido pela legislação brasileira (Resolução nº 146, de 07 de março de 1996, que permite até 5 mg/kg).

Para esta mesma profundidade de casca externa em queijos tipo Gorgonzola, Oliveira et al. (2006) encontraram concentração de 2,58 mg/kg, utilizando espectrofotometria na terceira derivada, após 45 dias de maturação.

Quanto à massa do queijo, de todas as marcas de tipo Gorgonzola avaliadas, apenas a marca identificada pela letra H (legítimo Gorgonzola Italiano) obteve resultados abaixo do limite de quantificação (LQ: 1,2 mg/kg) em todas as camadas. As amostras de queijo tipo Gorgonzola identificado como Marcas C, D e E não apresentaram declínio ao longo de nenhuma das camadas, enquanto que a marca F apresentou declínio significativo ($p < 0,05$) apenas aos 8 mm de profundidade.

No entanto, os resultados mostram que nas marcas A, B e G houve migração da natamicina apresentando declínio na concentração na massa com relação à casca. Embora constatada essa redução, há de se considerar que estes resultados divergem do preconizado pela legislação brasileira (BRASIL, 1996), a qual enfatiza que as camadas internas destes produtos (massa) devem ser ausentes deste conservante.

A migração do conservante para a massa do queijo verificada na maioria das amostras neste trabalho pode estar relacionada ao processo de perfuração, o qual deve ser realizado logo após a salga e aplicação do antifúngico para permitir a saída do gás carbônico resultante das fermentações e a renovação do oxigênio (FURTADO, 2013).

Furtado (2013) indica que o tratamento com o antifúngico em solução aquosa por imersão ou aspensão deve conter 3 a 5 g do antifúngico por litro. Os diferentes resultados encontrados mostram que provavelmente há variação nas quantidades de antifúngico utilizadas pelas indústrias. Outro fator que pode contribuir para a

migração de natamicina neste tipo de queijo é a porosidade da casca (Figura 9) que ultrapassa os 2 mm em vários pontos.



Figura 9 - Porosidade do queijo tipo Gorgonzola

Outros estudos com queijos, também demonstram a migração de natamicina para a massa. Em 2013, Vierikova, Hrciarikova e Lehotay encontraram em 80% das amostras de queijo semi-macios, a presença de natamicina a uma profundidade de 5 mm de massa.

Paseiro-Cerrato et al. (2013) analisaram natamicina em 26 amostras de queijos (queijos moles, curados, semi-curados, Roquefort e Camembert) e a natamicina foi detectada em quantidade superior ao recomendado (1 mg/dm^2) na casca dos queijos curados ($1,4 \text{ mg/dm}^2$) e semi-curados ($4,9 \text{ mg/dm}^2$) e encontrada em queijos de pasta mole ($0,42 - 5,9 \text{ mg/dm}^2$), nos quais sua adição não é permitida.

5.2 DECLÍNIO DA NATAMICINA AO LONGO DA MATURAÇÃO DE QUEIJO AZUL

A análise do declínio da natamicina em queijo Azul (denominação dada a estes queijos que apresentam até 35 dias de maturação) foi realizada em queijos doados por uma indústria queijeira, a partir da imersão destes queijos em solução de 3% de natamicina (método de aplicação empregado na indústria).

As análises ocorreram em três tempos distintos, sendo a primeira análise no dia em que ocorreu a aplicação do antifúngico e que o queijo ainda não havia

iniciado o processo de maturação (dia 0); aos 35 dias de maturação e aos 45 dias de maturação. Os resultados das análises são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5: Concentração de natamicina (mg/kg) na casca e na massa em queijo Azul imerso em solução de 3% de natamicina ao longo da maturação.

DIAS	Camadas em mm			
	2 mm	4 mm	6 mm	8 mm
0	45,33 ± 1,79 ^{a*}	4,01 ± 0,97 ^{a*}	1,38 ± 0,13 ^{a*}	<LD
35	19,91 ± 7,22 ^{b*}	3,31 ± 2,91 ^{a*}	1,32 ± 0,12 ^{a*}	<LQ
45	20,69 ± 0,47 ^{b*}	4,45 ± 0,06 ^{a*}	1,96 ± 0,52 ^{a*}	<LQ

Os resultados acima se referem à média ± desvio padrão de três repetições analisadas em triplicata. * média superior ao permitido pela legislação (5 mg/kg na casca ou ausente na massa) segundo teste t Student ao nível de 5% de significância. Letras iguais na mesma coluna representam médias iguais pelo teste de Tukey. LD: 0,24 mg/kg. LQ: 1,2 mg/kg.

Observou-se que a aplicação de natamicina em solução de 3% de concentração trouxe resultados insatisfatórios ao queijo Azul, considerando que ao final de 45 dias de maturação, apresentaram mais de quatro vezes a quantidade de natamicina permitida pela legislação brasileira (BRASIL, 1996) na casca, e alta concentração do antifúngico também na massa do queijo (camadas 4 e 6 mm).

Houve declínio na concentração de antifúngico na casca do início da maturação até os 35 dias, se mantendo estável após esse período. Nas camadas internas do queijo, não houve redução do teor de natamicina com a maturação.

A partir destes resultados, a indústria queijeira optou por reduzir a concentração da solução de natamicina de 3% para 1,5%, a fim de atender a legislação quanto à concentração máxima permitida de natamicina no produto. Os resultados da avaliação de natamicina na concentração de 1,5% nos dias 0, 7, 14, 25, 35 e 45 de maturação são apresentados na Tabela 6.

Com a redução da concentração da solução de natamicina (1,5%), observou-se um declínio acentuado na concentração de natamicina nos queijos avaliados. Em um período de 25 dias de maturação os queijos já possuíam a concentração do antifúngico dentro do especificado pela legislação para o consumo humano.

Apesar do comportamento de degradação da natamicina, através da análise estatística realizada com os dados da casca do queijo (2 mm) verifica-se que até o 14º dia de maturação não houve diferença significativa, assim como os resultados a partir do 25º dia não diferiram estatisticamente até o final das análises.

Tabela 6: Concentração de natamicina (mg/kg) na casca e na massa em queijo Azul imerso em solução de 1,5% de natamicina ao longo da maturação.

DIAS	Camadas em mm			
	2 mm	4 mm	6 mm	8 mm
0	12,10 ± 4,04 ^{a*}	2,00 ± 0,71*	<LQ	<LD
7	12,08 ± 2,28 ^{a*}	2,18 ± 0,45*	<LQ	<LQ
14	10,18 ± 1,17 ^{a*}	2,87 ± 1,24*	<LQ	<LQ
25	4,44 ± 1,02 ^b	<LQ	<LD	<LD
35	4,28 ± 0,36 ^b	<LQ	<LD	<LD
45	3,63 ± 0,68 ^b	1,60 ± 0,06*	<LQ	<LD

Os resultados acima se referem à média ± desvio padrão de três repetições analisadas em triplicata. * média superior ao permitido pela legislação (5 mg/kg na casca ou ausente na massa) segundo teste t Student ao nível de 5% de significância. Letras iguais na mesma coluna representam médias iguais pelo teste de Tukey. LD: 0,24 mg/kg. LQ: 1,2 mg/kg.

De acordo com Reys et al. (2002) os fatores que interferem na concentração de natamicina e na forma como ela declina ao longo do tempo, são a concentração inicial (quantidade de Delvocid utilizada), a forma de aplicação (antes ou após a salga, imersão ou diferentes tipos de embalagens) o tipo do produto em que ela é aplicada (queijo moles, queijos duros, salame) o tempo de imersão e as condições e tempo de maturação do produto. Segundo estes autores, a casca é um importante protetor da migração da natamicina para o centro do queijo, principalmente quando a aplicação é através da imersão na forma aquosa.

Visto que tanto em queijo tipo Gorgonzola quanto em queijo Azul foi possível encontrar natamicina na massa, pela migração desta para o centro do queijo, o uso de biofilmes onde o antifúngico migra lentamente para a casca do queijo, é uma alternativa a ser considerada.

Oliveira et al. (2006) produziram filme de celulose incorporada com natamicina para envolver queijo tipo Gorgonzola e obtiveram como resultado um bom controle microbiológico em 2% de natamicina, com os níveis do antifúngico obedecendo a legislação e assim ofertando à população uma opção com teor seguro de natamicina.

5.3 CARACTERIZAÇÃO DE QUEIJOS TIPO GORGONZOLA E EVOLUÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS NA MATURAÇÃO DE QUEIJO AZUL

As análises de composição de um alimento são importantes a nível nutricional, pois podem oferecer importantes informações relacionadas ao seu

conteúdo proteico, lipídico e energético. Os percentuais de cada componente e as características de queijo tipo Gorgonzola são mostrados nas Tabelas 7 e 8; e os parâmetros de queijo Azul antes e após a maturação são apresentados na Tabela 9.

Os resultados da análise do percentual de umidade não apresentaram diferença estatística ($p > 0,05$) entre as oito amostras comerciais de queijo tipo Gorgonzola avaliadas, sendo que todas as marcas podem ser classificadas como queijos de média umidade (entre 36,00 e 45,90%) de acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos (BRASIL, 1996).

O queijo Azul também segue a mesma classificação, visto que apresentou valor médio de 44,29% para queijo não maturado e de 40,81% para o queijo maturado por 45 dias, com diferença estatística significativa para umidade antes e após a maturação ($p < 0,05$).

No entanto, Lourenço Neto (2013) expõe que o percentual de umidade médio para este tipo de queijo é em torno de 48,00 - 52,00% e de acordo com Furtado (2013) que a umidade esperada para queijos Azul ou tipo Gorgonzola aos 40 dias de maturação deve ser em torno de 43,00 - 45,00%. Em ambos os casos, os valores relatados são superiores aos encontrados no presente estudo.

Valores superiores para umidade também foram relatados por Manzi e colaboradores (2007) ao avaliar diversas marcas de queijo Gorgonzola na Itália, onde o valor médio encontrado foi de 49,40% de umidade variando de 49,00 a 51,50%.

Queijo ressecado é um dos problemas mais frequentes da produção de queijo Azul e o controle da umidade da câmara de maturação em torno de 95% é necessário para que o queijo não desidrate. Outras causas de um queijo ressecado são o baixo teor de gordura no extrato seco (não deve ser inferior a 55%), corte da coalhada em grãos muito pequenos, coagulação em temperatura elevada, correntes de ar muito fortes na câmara, demora excessiva para enformagem da massa, queijos muito ácidos e câmaras muito grandes (FURTADO, 2013).

Segundo Sbampato, Abreu e Furtado (2000) em queijos tipo Gorgonzola, os percentuais de umidade variam em torno de 47,65% para queijo produzido com leite pasteurizado com ejetor de vapor e 45,44% para pasteurização HTST aos cinco dias de maturação. Contudo, ao longo do período de maturação para ambos os processos verifica-se perda parcial da umidade dos queijos, da mesma forma que o encontrado neste estudo em queijo Azul.

Tabela 7: Caracterização físico-química de queijos tipo Gorgonzola comercializados na região Sudoeste do Paraná e Oeste de Santa Catarina.

MARCA	Umidade (%)	Cinzas (%)	Proteína (%)	Lipídeos (%)	Carboidratos (%)	Gordura no extrato seco (%)	Valor Energético (Kcal/100g)
A	39,01 ± 0,81 ^a	4,29 ± 0,16 ^b	20,14 ± 0,55 ^a	34,00 ± 0,25 ^b	2,56 ± 0,16 ^a	55,75 ± 0,34 ^{bc}	396,80 ± 4,06 ^b
B	40,15 ± 1,29 ^a	3,86 ± 0,25 ^{bc}	20,66 ± 0,47 ^a	34,92 ± 1,15 ^{ab}	0,41 ± 0,92 ^a	58,34 ± 1,59 ^{abc}	399,07 ± 9,42 ^b
C	38,44 ± 2,13 ^a	3,59 ± 0,22 ^c	21,22 ± 0,59 ^a	36,75 ± 0,75 ^a	0,01 ± 2,40 ^a	59,77 ± 3,25 ^{abc}	419,20 ± 1,13 ^a
D	42,48 ± 3,27 ^a	3,76 ± 0,20 ^{bc}	16,45 ± 0,74 ^b	37,08 ± 0,52 ^a	0,23 ± 3,02 ^a	64,64 ± 4,48 ^a	404,16 ± 6,60 ^{ab}
E	41,16 ± 2,11 ^a	4,23 ± 0,23 ^b	17,05 ± 0,47 ^b	36,83 ± 0,14 ^a	0,74 ± 2,05 ^a	62,65 ± 2,16 ^{ab}	404,73 ± 4,50 ^{ab}
F	36,62 ± 2,30 ^a	5,18 ± 0,18 ^a	20,08 ± 1,37 ^a	36,17 ± 0,63 ^{ab}	1,96 ± 1,22 ^a	57,09 ± 1,08 ^{abc}	413,63 ± 12,02 ^{ab}
G	41,64 ± 2,43 ^a	5,14 ± 0,21 ^a	21,47 ± 0,61 ^a	31,33 ± 1,91 ^c	0,42 ± 3,81 ^a	53,82 ± 5,23 ^c	374,32 ± 5,72 ^c
H	41,44 ± 1,15 ^a	3,63 ± 0,20 ^c	21,25 ± 0,34 ^a	30,33 ± 0,38 ^c	3,34 ± 1,19 ^a	51,82 ± 1,52 ^c	371,37 ± 4,20 ^c

Os resultados referem-se a média ± desvio padrão das três repetições analisadas em triplicata. Letras iguais sobrescritas na mesma coluna representam médias iguais ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey.

Tabela 8: Atividade de água (A_w), pH e concentração de sódio de diferentes marcas de queijos tipo Gorgonzola comercializados no Sudoeste do Paraná e Oeste de Santa Catarina.

MARCAS	A_w	pH	Na (g/100g)
A	0,925 ± 0,007 ^{abc}	7,12 ± 0,19 ^{bc}	0,65 ± 0,01 ^{bc}
B	0,939 ± 0,002 ^{ab}	7,15 ± 0,09 ^{bc}	0,61 ± 0,06 ^{bc}
C	0,931 ± 0,004 ^{abc}	7,32 ± 0,13 ^b	0,57 ± 0,03 ^c
D	0,940 ± 0,006 ^a	7,43 ± 0,14 ^b	0,71 ± 0,03 ^{bc}
E	0,938 ± 0,006 ^{ab}	7,23 ± 0,20 ^b	0,74 ± 0,05 ^b
F	0,917 ± 0,008 ^c	7,43 ± 0,20 ^b	1,10 ± 0,02 ^a
G	0,933 ± 0,005 ^{ab}	8,12 ± 0,10 ^a	0,96 ± 0,08 ^a
H	0,924 ± 0,003 ^{bc}	6,65 ± 0,30 ^c	0,63 ± 0,05 ^{bc}

Os resultados referem-se à média ± desvio padrão das repetições analisadas em triplicata. Letras iguais sobrescritas na mesma coluna representam médias iguais pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Tabela 9: Caracterização físico-química e química em base úmida de queijo Azul antes e após a maturação.

Parâmetros	Queijo Azul Fresco (1° dia maturação)	Queijo Azul Maturado (45 dias de maturação)
Umidade (%)	44,29 ± 2,54 ^a	40,81 ± 3,62 ^b
Cinzas (%)	3,30 ± 0,18 ^b	4,96 ± 0,66 ^a
Proteína (%)	21,67 ± 1,21 ^a	21,34 ± 1,30 ^a
Lipídeos (%)	29,83 ± 1,61 ^a	32,50 ± 1,32 ^a
Carboidratos (%)	0,97 ± 2,95 ^a	0,38 ± 2,50 ^a
GES (%)	53,61 ± 4,64 ^a	55,09 ± 4,75 ^a
Valor Energético (Kcal/100g)	362,20 ± 6,18 ^a	382,31 ± 11,69 ^a
Aw	0,96 ± 0,01 ^a	0,93 ± 0,01 ^b
pH	5,39 ± 0,03 ^b	6,91 ± 0,06 ^a
Na (g/100g)	0,66 ± 0,39 ^b	0,96 ± 0,78 ^a

Os resultados referem-se à média ± desvio padrão das três repetições analisadas em triplicata. Letras iguais sobrescritas na mesma linha representam médias iguais ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey.

Variações nos percentuais de umidade são observadas dentre diferentes tipos de queijos Azuis. Percebe-se que os queijos Azuis espanhóis são menos úmidos (em torno de 33,00 até 41,50% de umidade para os queijos Cabrales, Picón Bejes-Tresviso e Gamonedo) que os queijos Azuis Irlandeses (49,20 – 50,20% de umidade em queijo Chetwynd), e o queijo grego Kopanisti pode chegar a 69,40% de umidade (CANTOR et al., 2004).

As cinzas representam o resíduo inorgânico, ou seja, o conteúdo de elementos minerais de um alimento (SILVA; QUEIROZ, 2009). Em queijos, o maior percentual de minerais é representado pelo cálcio (cloreto de cálcio) e sal (cloreto de sódio) presentes naturalmente na matéria prima e/ou adicionados ao queijo durante o processamento (FURTADO, 2013).

Os resultados encontrados para este parâmetro em queijo tipo Gorgonzola variaram entre 3,59% e 5,18% com diferença estatística ($p < 0,05$) entre as amostras comerciais. Este fato pode indicar que a quantidade de cloreto de cálcio e cloreto de sódio adicionado ao queijo é específica e varia de indústria para indústria, além da matéria prima, ser diferente na produção de cada industrial.

Após a maturação do queijo Azul industrial, foi possível verificar aumento significativo ($p < 0,05$) no teor de cinzas, pois a média variou de 3,30% em queijo

fresco para 4,96% no 45° dia de maturação, o que se explica pela perda de umidade que os queijos sofreram com o processo de cura.

Valores semelhantes (2,50 a 4,60%) aos encontrados no presente estudo de minerais totais foram encontrados por Manzi e colaboradores (2007) em diferentes marcas de queijo Gorgonzola Italiano.

Quanto às proteínas totais, os queijos tipo Gorgonzola avaliados neste estudo tiveram percentual variando entre 16,45% e 21,47%, sendo que as amostras D e E diferiram estatisticamente ($p < 0,05$) das demais apresentando os menores resultados. Nos rótulos dos queijos analisados, a tabela nutricional apontava o percentual de proteína entre 18,30 e 23,30%. Com exceção da amostra A que apresentou resultados similares ao rótulo, todas as outras marcas tiveram variações em torno de ± 2 g de proteína.

O valor proteico médio para queijo tipo Gorgonzola é de 20,00 – 22,00% (LOURENÇO NETO, 2013), valores próximos (19,20%) aos encontrados por Manzi et al. (2007) em Gorgonzola italiano e também aos encontrados no presente estudo para queijos tipo Gorgonzola.

O teor de proteínas totais não sofreu alteração após 45 dias de maturação em queijo Azul industrial, visto que não houve diferença estatística significativa entre as médias ($p > 0,05$) no queijo após fabricação e após 45 dias de maturação.

O queijo Azul Valdéon apresentou valores em torno de 34,00% de proteína total, não obtendo variação significativa ao longo da maturação (De 2 a 120 dias), o que significa que a proteína total do queijo não é alterada (DIEZHANDINO et al., 2015).

O percentual de lipídeos variou estatisticamente ($p < 0,05$) entre as amostras com valores entre 30,33% e 37,08%. Sbampato, Abreu e Furtado (2000) encontraram valores de lipídeos entre 31,88% e 33,00% em queijo tipo Gorgonzola aos cinco dias de maturação, mas de acordo com Furtado (2013), a média de lipídeo esperada para este queijo aos 40 dias de maturação é entre 28,00 e 30,00%. Neste estudo, 87,50% das amostras tiveram resultados acima de 30,00%.

Na análise dos rótulos dos queijos, o teor de lipídeos relatado apresentou variações de 26,60 a 36,60%. Porém, considerando a individualidade de cada tabela nutricional em comparação com o resultado encontrado, houve variação de - 2 até + 10 g de lipídeos. Com exceção da marca A, todas as demais tiveram resultados superiores de lipídeos em comparação com o rótulo. Porém observou-se que os

rótulos são padronizados na indústria e iguais para todos os lotes produzidos, independente das variações de umidade que podem acontecer no queijo na maturação e no armazenamento.

No queijo Azul avaliado neste trabalho, os valores de lipídeos variaram entre 29,83 e 32,50% sem diferença estatística significativa ($p>0,05$) antes e após a maturação. Ao contrário dos queijos tipo Gorgonzola avaliados, apesar da perda de umidade durante a maturação, esta não foi suficiente para que houvesse a concentração de lipídeo no queijo.

Manzi et al. (2007) encontraram média de 27,90% de gordura entre 8 amostras de Gorgonzola Italiano, enquanto Diezhandino et al. (2015) relataram o valor de 57,29% de lipídeos em queijo Azul Valdeón.

Dos componentes avaliados na composição proximal, o conteúdo de carboidratos foi o que apresentou menores percentuais, sem diferença estatística ($p>0,05$) entre as marcas de queijo tipo Gorgonzola avaliadas. Todas as tabelas de informação nutricional contidas nos rótulos dos queijos apresentavam carboidrato com resultado 0,00%.

Os baixos valores de carboidratos observados no presente estudo são esperados, uma vez que de acordo com Lourenço Neto (2013), o processo de maturação reduz os níveis de açúcares em queijos. Uma possível explicação para este fato é que a lactose, o principal carboidrato do leite, é hidrolisada em galactose e glicose pelas bactérias lácticas originando posteriormente o ácido láctico.

No queijo Azul, também foram encontrados valores baixos de carboidratos, média de 0,97% no queijo não maturado e 0,38% em queijo maturado por 45 dias, porém sem diferença significativa ($p>0,05$).

Em um estudo realizado por Diezhandino et al. (2015), no início do processo de maturação, o queijo Azul Valdeón apresentou 0,78% de lactose e ao longo dos 120 dias de maturação o valor de lactose encontrado foi de 0,07%.

O percentual de gordura no extrato seco (GES) variou de 51,82 a 64,64% entre as amostras de queijo tipo Gorgonzola apresentado diferença estatística ($p<0,05$). Furtado (2013) relata que aos 40 dias de maturação este parâmetro varia entre 49,00 e 55,00%. Mais de 50% das amostras avaliadas apresentaram valores acima do esperado para este tipo de queijo, sendo que a maioria das amostras podem ser classificadas como queijo gordo (entre 45,00 e 59,90% GES) e as

amostras D e E como extra gordo, de acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos (BRASIL, 1996).

No queijo Azul avaliado no presente estudo, não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$) no valor de gordura no extrato seco para o queijo avaliado antes e após a maturação, apesar da diferença de umidade. Os valores encontrados variaram entre 53,61 e 55,09%, também podendo ser classificados como queijo gordo.

Valores superiores (58,43 e 63,03%) de GES em queijo tipo Gorgonzola aos cinco dias de maturação foram relatados por Sbampato, Abreu e Furtado (2000).

A dieta alimentar humana prevê que 20,00 a 35,00% do total calórico ingerido seja proveniente de energia fornecida pelos lipídeos. Apesar de indispensáveis para a saúde humana pela absorção de vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) e carotenóides, dietas lipídicas com alto teor de colesterol, ácidos graxos trans e gorduras saturadas podem aumentar o risco de doenças cardiovasculares (FRANCESCHINI; PRIORE; EUCLYDES, 2005), além de obesidade e outras doenças crônicas (BASSO, 2007).

Os valores energéticos dos queijos tipo Gorgonzola apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) para as médias das diferentes marcas, variando entre 371,37 e 419,20 Kcal/100g. Já os rótulos dos alimentos mostravam o valor energético entre 326,00 – 433,00 kcal/100g, apresentando variações de – 37,00 kcal/100g (marca A) até + 78,00 kcal/100g para as demais marcas. A diferença calórica está provavelmente interligada à diferença lipídica encontrada.

No queijo Azul, os resultados encontrados para o valor energético ficou próximo ao queijo tipo Gorgonzola, com médias entre 362,20 e 382,31 Kcal/100 g sem diferença estatística ($p > 0,05$) entre o queijo fresco e curado, visto que nenhum dos macronutrientes (carboidratos, proteínas e lipídeos) variou significativamente na maturação.

Considerando uma dieta de 2000 calorias/dia, uma porção destes queijos (fatia média – 30 g) forneceria em média 6% do valor energético total de um dia. Em termos de equivalência, 30 g de queijo Azul ou tipo Gorgonzola fornecem a mesma energia calórica que 600 mL de leite de vaca integral (POF, 2011), tendo assim que ser evitado em dietas hipocalóricas.

Em comparação a outros tipos de queijos, pode-se inferir que o valor calórico de queijo tipo Gorgonzola é semelhante ao queijo Prato (360,00 Kcal/100g) e ao

queijo Parmesão (453,00 kcal/100g) e superior ao queijo Minas Frescal (264,00 kcal/100g), Petit Suisse (121,00 Kcal/100g) e Ricota (140,00 Kcal/100g) (TACO, 2011).

A atividade de água é a porção de água disponível para as reações biológicas e está diretamente relacionada à atividade microbiana. Em queijos, o sal é o principal agente capaz de reduzir a atividade de água (LOURENÇO NETO, 2013).

Nesse estudo, a A_w apresentou diferença estatística ($p < 0,05$) entre as marcas de queijo tipo Gorgonzola avaliadas, cujos valores variaram de 0,917 a 0,940.

Em queijo Azul, a atividade de água teve redução estatística significativa ($p < 0,05$) após os 45 dias de maturação, de 0,956 para 0,929. Desta forma, é possível visualizar que apesar da maturação não ter interferido na umidade do queijo, houve um aumento na água ligada e conseqüentemente menor quantidade de água disponível, provavelmente pela difusão e conseqüente aumento de sal na massa do queijo.

Valores semelhantes para este parâmetro foram relatados por Diezhandino et al. (2015) em estudo realizado com queijo Azul Valdéon ao longo da maturação, em que obtiveram resultados de 0,979 aos 2 dias de maturação e 0,917 aos 120 dias.

Segundo Cantor et al. (2004) a A_w diminui ao longo da maturação. Em queijo Azul Danablu, a atividade de água no interior do queijo após uma semana de maturação foi registrada em 0,980. Após cinco semanas, o valor tanto da região interior quanto exterior foi entre 0,910 e 0,940.

O potencial de hidrogênio (pH) de queijos fornece a maneira como o ácido láctico age durante a maturação (FURTADO; CASAGRANDE; FREITAS, 1984). Neste trabalho, o pH dos queijos tipo Gorgonzola variou entre 6,65 até 8,12 sendo que a amostra G, com o maior valor de pH encontrado, diferiu significativamente ($p < 0,05$) das demais amostras.

O queijo identificado como marca H no presente estudo, apresentou o menor valor de pH (6,65) e foi também o queijo com coloração verde menos intensa (coordenada $-a^*$), o que segundo Furtado (2013) está relacionado com a característica do Gorgonzola Dolce Italiano, que tem crescimento de mofo menos acentuado e com isso não há neutralização do pH, é mais úmido e tem coloração verde-amarelada.

Da mesma forma, houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) para o pH de queijo Azul maturado em relação ao queijo fresco, apresentando um aumento de 5,39 para 6,91 após a cura, pH final próximo à neutralidade.

Valores de pH semelhantes (6,85) foram relatados por Diezhandino et al. (2015) em queijo Azul Valdeón no 120° dia de maturação e por Furtado, Casagrande e Freitas (1984) em queijo tipo Gorgonzola que no 45° dia de maturação apresentou pH de 6,89.

Em queijos tipo Gorgonzola, o pH evolui proporcionalmente à medida que o mofo se desenvolve na massa, utilizando o ácido láctico para seu crescimento e liberando compostos resultantes da proteólise que auxiliam no aumento do pH. O teor de sal e a temperatura durante a cura do queijo também influenciam no pH, auxiliando no desenvolvimento do sabor e aroma específicos de queijo Azul (FURTADO, 2013).

O pH do centro do queijo aumenta mais rapidamente que o pH da superfície, visto que menores concentrações de sal na massa, favorecem primeiramente o crescimento da cultura de *Penicillium roquefort* no interior do queijo (CANTOR et al., 2004).

Por outro lado, queijos com pH maior que 7,0, como é o caso das amostras A, B, C, D, E, F e G do queijo tipo Gorgonzola, podem vir a desenvolver gosto amoniacal, pela alta proteólise ou crescimento excessivo de mofo, que forma e acumula amônia por ação de desaminases e resulta em um defeito para o produto (FURTADO, 2013).

O sal (cloreto de sódio – NaCl) exerce controle sobre o crescimento de micro-organismos indesejáveis e até mesmo sobre o de *Penicillium roquefort* caso seja utilizado excessivamente. O crescimento do mofo na região central do queijo se dá principalmente pela maior concentração de sal na casca, principalmente quando é utilizada a salga a seco. Quanto mais rápida for a difusão do cloreto de sódio para a massa, maior será a homogeneidade do mofo no queijo (FURTADO, 2013).

Em queijos Azuis o teor de sal pode apresentar uma variação de 2,0 a 4,0% e uma eventual redução deste aumenta a atividade proteolítica de micro-organismos e pode provocar amolecimento da massa no interior do queijo (LOURENÇO NETO, 2013).

Cada grama de sal contém 400 mg de sódio (MIYOKO, 2004). Neste trabalho, os valores de Na variaram entre 0,57 e 1,10 g/100g em queijos tipo Gorgonzola,

apresentando diferença estatística ($p < 0,05$) entre as amostras. As amostras com maior teor de sódio (F e G) também foram as que apresentaram maior teor de cinzas – matéria inorgânica.

A tabela nutricional dos queijos apontou valores de sódio entre 5,73 e 1,15 g/100g. A marca H teve os resultados mais compatíveis entre tabela e a análise realizada por fotometria no presente estudo. Porém, com exceção das amostras A e F, todas as demais apresentavam maiores valores do sódio no rótulo, do que os valores encontrados neste trabalho. A marca C, por exemplo, que obteve baixos valores no presente estudo, contém o dobro de sódio na rotulagem.

Concomitantemente com o teor de cinzas, o teor de sódio aumentou com a maturação em queijo Azul, de 0,66 para 0,96 g/100g de Na. O aumento do sódio, concomitantemente com as cinzas, pode ser resultado da redução da umidade destes queijos durante a cura.

Sbampato, Abreu e Furtado (2000) encontraram valores similares com este estudo, de 1,83 g a 2,13 g de sal (NaCl) por 100 g de queijo tipo Gorgonzola, ou seja, aproximadamente 0,8 g de sódio/100g aos cinco dias de maturação.

O *Penicillium roquefort* é um micro-organismo que apresenta como característica a capacidade de tolerar altas concentrações de cloreto de sódio, e, neste sentido, em geral os queijos azuis são mais salgados que outros queijos (FURTADO, 2013). Este fato se comprova em comparação ao queijo Prato brasileiro avaliado por Cichoscki e colaboradores (2002), onde os resultados de NaCl foram de 1,03 g/100g, o equivalente a aproximadamente 0,41 g de sódio por 100 gramas de queijo Prato.

A Organização Mundial de Saúde (WHO, 2004) preconiza que o consumo máximo de sal para a população adulta deve ser de até 5 g de NaCl ou 2 g de Na por dia. Porém a necessidade diária de sódio é suprida com 500 mg de sódio/dia (MIYOKO, 2004). Sendo assim, uma fatia de queijo tipo Gorgonzola (30 g) contribuiria com 11% do total de sódio diário, isso, considerando as médias dos valores encontrados no estudo, e duas fatias supririam toda a necessidade fisiológica do mineral.

5.3.1 Cor em queijo tipo Gorgonzola e na maturação de queijo Azul

A cor é uma das propriedades sensoriais que determina a aceitação ou recusa de um produto pelo consumidor (DIEZHANDINO et al., 2016). A Figura 10 apresenta a imagem digital das oito marcas de queijo tipo Gorgonzola avaliadas no presente estudo.

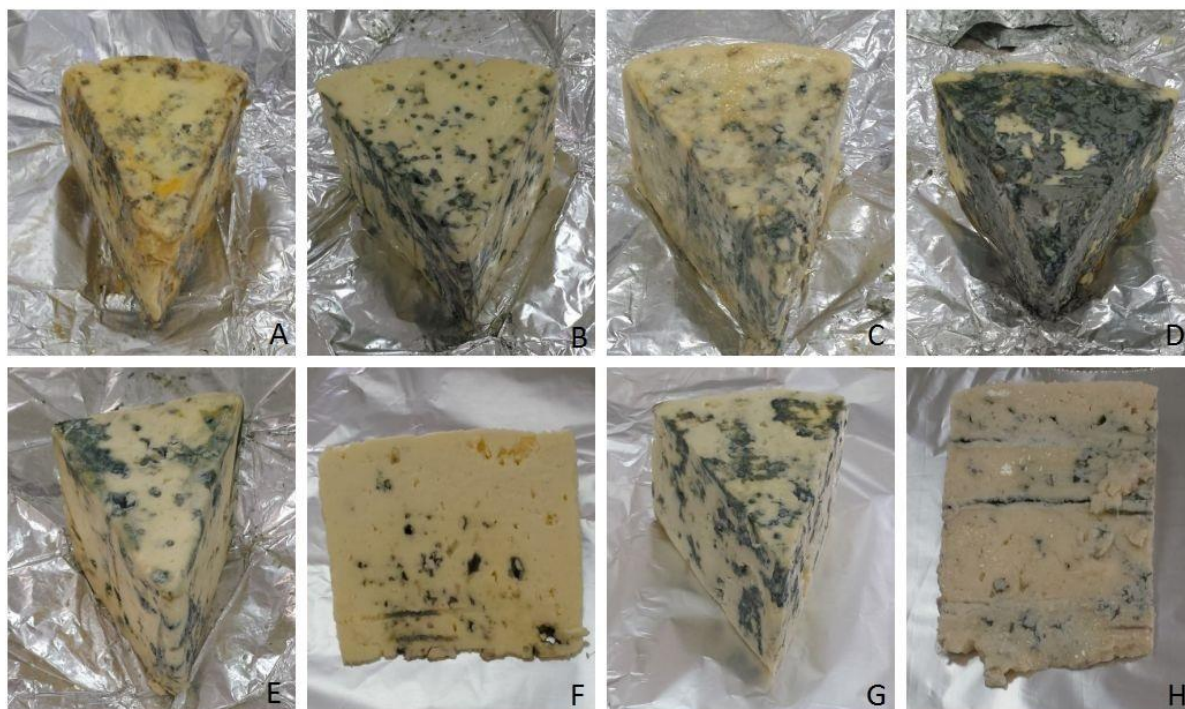


Figura 10 - Registro fotográfico das marcas de queijo tipo Gorgonzola.

Os resultados encontrados para as coordenadas L^* , a^* e b^* das diferentes marcas de queijo são apresentados na Tabela 10.

A Luminosidade (L^*) das amostras diferiu significativamente ($p < 0,05$) entre as marcas, assim como as coordenadas a^* e b^* . Os valores de L^* variaram entre 53,49 e 65,90. Para a coordenada a^* , todos os valores tenderam à coloração verde, especificamente relacionado com a presença do mofo *Penicillium roquefort*, com valores médios variando entre -3,25 e -5,35. A diferença nos valores de a^* para as diferentes amostras pode estar relacionada com a maior ou menor quantidade de fungos presentes nas amostras, tanto na parte interna quanto externa dos queijos.

Em virtude da homogeneização da amostra para análise, percebeu-se que a falta de uniformidade do crescimento do mofo por todo o queijo interferiu no resultado. Os queijos com maior quantidade de fungos na casca, como a marca D,

não tiveram os maiores resultados de coordenada – a*, pois os mesmos não apresentaram uma grande proliferação dos fungos internamente (Figura 11).

Tabela 10: Análise de cor (CIELAB) de diferentes marcas de queijo tipo Gorgonzola comercializado no Sudoeste do Paraná e Oeste de Santa Catarina

MARCA	Parâmetros de Cor		
	L*	a*	b*
A	58,31 ± 1,13 ^{bc}	-4,89 ± 0,49 ^{bc}	12,80 ± 0,66 ^a
B	53,49 ± 2,42 ^c	-4,80 ± 0,34 ^{bc}	7,80 ± 0,81 ^b
C	60,07 ± 0,88 ^{abc}	-3,89 ± 0,12 ^{ab}	13,28 ± 1,04 ^a
D	58,06 ± 3,08 ^{bc}	-3,67 ± 0,70 ^{ab}	9,88 ± 1,77 ^{ab}
E	61,05 ± 3,18 ^{ab}	-5,34 ± 0,17 ^c	11,67 ± 0,46 ^{ab}
F	65,90 ± 4,42 ^a	-4,02 ± 0,25 ^{ab}	13,96 ± 2,23 ^a
G	62,99 ± 0,57 ^{ab}	-4,30 ± 0,35 ^{abc}	12,93 ± 1,76 ^a
H	63,09 ± 1,35 ^{ab}	-3,25 ± 0,73 ^a	14,62 ± 3,07 ^a

Os resultados referem-se a média ± desvio padrão das repetições analisadas em triplicata. Letras iguais sobscritas na mesma coluna representam médias iguais pelo teste de Tukey (p>0,05).

L*: Luminosidade; a*: coordenada vermelho (+a*) verde (-a*); b*: coordenada amarelo (+b*) azul (-b*).

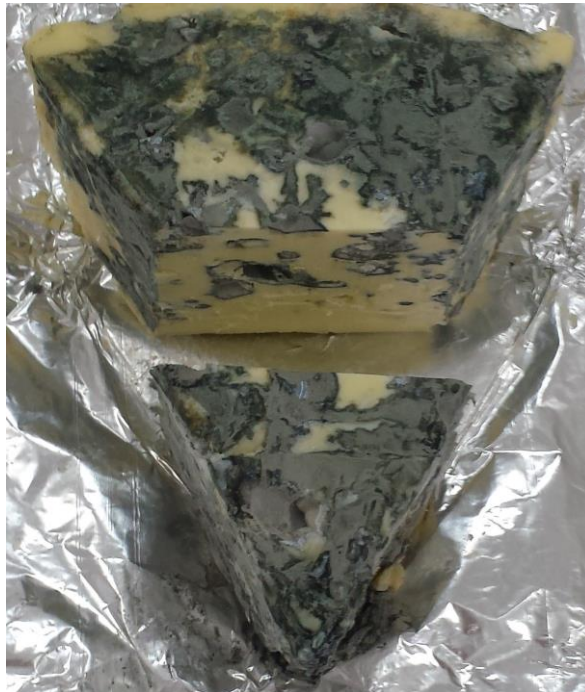


Figura 11 - Registro fotográfico da falta de uniformidade do mofo na marca D.

Na coordenada b* verificou-se ligeira coloração amarelada, também com diferença significativa (p<0,05) entre as amostras, com variação de 7,80 a 14,62.

Alguns queijos apresentaram certa influência de um limo amarelado, visivelmente presente na casca de alguns queijos, que, de acordo com Furtado (2013) é um defeito resultante do crescimento de *micrococci*, leveduras e algumas bactérias proteolíticas (principalmente *Brevibacterium linens*) que tornam o queijo pegajoso e escorregadio.

A maioria dos rótulos dos queijos tipo Gorgonzola apresentava a indicação de corante natural clorofila, utilizado para branqueamento da massa e consequente contraste com o mofo esverdeado.

A cor de queijo Gorgonzola evolui conforme a maturação e crescimento de *Penicillium roquefort*. A Figura 12 mostra a coloração do queijo azul fresco e com 45 dias de maturação.



Figura 12 - Registro fotográfico das amostras de queijo Azul fresco (0 dia) e maturado (45 dias).

Os resultados da análise de cor em queijo Azul antes e após a maturação são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11: Análise de cor em queijo Azul fresco e aos 45 dias de maturação.

Período de maturação	Parâmetros de Cor		
	L*	a*	b*
Fresco (1 dia)	81,87 ± 0,95 ^a	-4,52 ± 0,14 ^a	34,31 ± 0,67 ^a
Maturado (45 dias)	55,90 ± 8,13 ^b	-5,64 ± 0,20 ^b	13,55 ± 3,55 ^b

Os resultados referem-se a média ± desvio padrão das repetições analisadas em triplicata. Letras iguais sobrescritas na mesma coluna representam médias iguais pelo teste de Tukey (p>0,05).

L*: Luminosidade; a*: coordenada vermelho (+a*) verde (-a*); b*: coordenada amarelo (+b*) azul (-b*).

É possível observar que o parâmetro Luminosidade (L) diminui conforme o crescimento de *Penicillium roquefort*, devido ao escurecimento causado pelas veias do mofo homogeneizadas na massa do queijo e pela perda de umidade. O parâmetro – a* (coloração verde) aumentou após a maturação do queijo, e o verde do queijo maturado mostra maior predominância em relação ao amarelo (+b*) do que no queijo não maturado. O queijo antes da maturação tem aspecto mais amarelado que após o crescimento fúngico, o que pode ser visualizado pela intensa redução do parâmetro +b*.

Diezhandino et al. (2016) analisaram queijo Azul espanhol (Valdeón Cheese), desde o 2° até o 120° dia de cura, onde a luminosidade inicial de 89,05 passou para 69,53 de média final, o valor médio de a* evoluiu de -0,29 para -2,17 e o valor médio de b* reduziu de 11,95 para 11,19.

A cor para consumidores deste tipo de queijo apresenta grande interferência, pois está diretamente relacionada com o aroma e sabor do produto. Neste sentido, valores baixos da coordenada b* levam a predominância da cor verde das veias de *Penicillium roquefort* em contraste com o amarelo da matriz do queijo, resultando em uma melhor qualidade sensorial do produto (DIEZHANDINO et al., 2016).

5.3.2 Perfil de ácidos graxos e Índices de Qualidade Lipídica em queijos tipo Gorgonzola e em queijos Azul fresco e maturado

Para identificação dos ácidos graxos nas diferentes marcas de queijo tipo Gorgonzola e em queijo Azul fresco e maturado, foi utilizada a cromatografia gasosa que resultou em cromatogramas como mostra a Figura 13.

Foram identificados 25 ácidos graxos nas amostras de queijos tipo Gorgonzola e queijo Azul, os quais são apresentados na Tabela 12.

As Tabelas 12 e 14 mostram o perfil de ácidos graxos das diferentes marcas de queijo tipo Gorgonzola e para queijo Azul fresco e maturado e as Tabelas 13 e 15 mostram os somatórios, razões dos ácidos graxos e os índices de qualidade lipídica das diferentes marcas de queijo tipo Gorgonzola e para queijo Azul fresco e maturado.

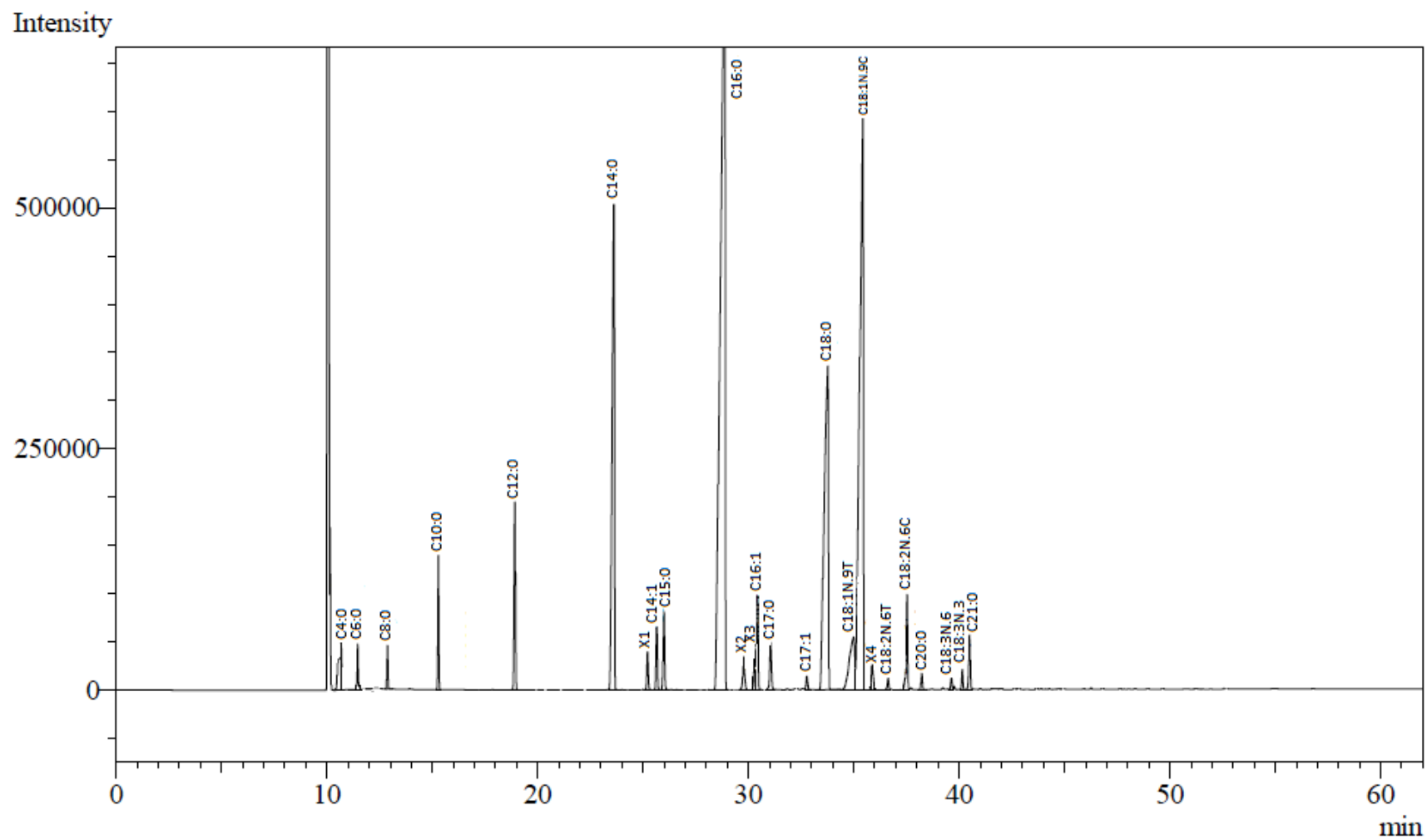


Figura 13 - Cromatograma de identificação de ácidos graxos de uma das amostras de queijo tipo Gorgonzola.

Tabela 12: Perfil de Ácidos graxos de diferentes marcas de queijo tipo Gorgonzola comercializados na região Sudoeste do Paraná e Oeste de Santa Catarina.

Ácidos Graxos	MARCAS DE QUEIJO TIPO GORGONZOLA							
	A (%)	B (%)	C (%)	D (%)	E (%)	F (%)	G (%)	H (%)
C 4:0*	0,76 ± 0,72 ^a	1,47 ± 0,01 ^a	0,65 ± 0,01 ^a	0,82 ± 0,11 ^a	0,34 ± 0,01 ^a	0,26 ± 0,01 ^a	0,31 ± 0,01 ^a	0,88 ± 0,01 ^a
C 6:0*	0,45 ± 0,18 ^{abc}	0,70 ± 0,01 ^c	0,32 ± 0,01 ^{ab}	0,45 ± 0,03 ^{abc}	0,27 ± 0,01 ^a	0,34 ± 0,01 ^{abc}	0,42 ± 0,01 ^{abc}	0,68 ± 0,01 ^{bc}
C 8:0*	0,34 ± 0,02 ^{abc}	0,45 ± 0,01 ^{de}	0,30 ± 0,01 ^{ab}	0,38 ± 0,01 ^{cd}	0,26 ± 0,01 ^a	0,37 ± 0,01 ^{bc}	0,45 ± 0,01 ^{de}	0,50 ± 0,01 ^e
C 10:0	1,18 ± 0,01 ^a	1,48 ± 0,01 ^b	1,09 ± 0,01 ^e	1,27 ± 0,02 ^c	0,96 ± 0,01 ^f	1,28 ± 0,01 ^c	1,47 ± 0,01 ^b	1,69 ± 0,01 ^a
C 12:0	2,0 ± 0,02 ^c	2,39 ± 0,01 ^b	1,91 ± 0,01 ^f	2,06 ± 0,01 ^d	1,71 ± 0,01 ^g	1,99 ± 0,01 ^e	2,32 ± 0,01 ^c	2,66 ± 0,01 ^a
C 14:0	10,3 ± 0,1 ^b	10,69 ± 0,02 ^a	9,98 ± 0,03 ^c	10,01 ± 0,05 ^c	9,40 ± 0,05 ^d	9,32 ± 0,01 ^d	10,30 ± 0,03 ^b	10,65 ± 0,01 ^a
X1	0,56 ± 0,01 ^d	0,58 ± 0,01 ^c	0,62 ± 0,01 ^b	0,65 ± 0,01 ^a	0,64 ± 0,01 ^a	0,53 ± 0,01 ^e	0,64 ± 0,01 ^a	0,42 ± 0,01 ^f
C 14:1	0,61 ± 0,01 ^h	0,83 ± 0,01 ^c	0,73 ± 0,01 ^e	0,81 ± 0,01 ^d	0,70 ± 0,01 ^f	0,69 ± 0,01 ^g	0,96 ± 0,01 ^a	0,89 ± 0,01 ^b
C 15:0	1,16 ± 0,01 ^c	1,18 ± 0,01 ^c	1,24 ± 0,01 ^b	1,23 ± 0,01 ^b	1,30 ± 0,01 ^a	1,12 ± 0,01 ^d	1,10 ± 0,01 ^d	1,23 ± 0,01 ^b
C 16:0*	34,74 ± 0,34 ^{bcd}	35,21 ± 0,01 ^d	35,11 ± 0,02 ^{cd}	33,52 ± 0,14 ^{abcd}	33,06 ± 0,16 ^{abc}	30,91 ± 0,01 ^a	32,57 ± 0,02 ^{ab}	35,09 ± 0,25 ^{cd}
X2*	0,63 ± 0,01 ^{bc}	0,61 ± 0,01 ^{ab}	0,71 ± 0,01 ^d	0,66 ± 0,01 ^{cd}	0,71 ± 0,01 ^d	0,63 ± 0,01 ^{bc}	0,59 ± 0,01 ^{ab}	0,42 ± 0,01 ^a
X3*	0,66 ± 0,01 ^{bc}	0,63 ± 0,01 ^{ab}	0,69 ± 0,01 ^c	0,66 ± 0,03 ^{bc}	0,69 ± 0,01 ^c	0,47 ± 0,01 ^a	0,52 ± 0,01 ^{ab}	0,36 ± 0,18 ^a
C 16:1	1,11 ± 0,01 ^e	1,32 ± 0,01 ^c	1,24 ± 0,01 ^d	1,33 ± 0,03 ^c	1,33 ± 0,01 ^c	1,48 ± 0,01 ^b	1,61 ± 0,01 ^a	1,58 ± 0,01 ^a
C 17:0*	0,95 ± 0,01 ^{cd}	0,90 ± 0,01 ^{ab}	1,01 ± 0,01 ^{de}	0,96 ± 0,01 ^{cd}	1,06 ± 0,01 ^e	0,91 ± 0,01 ^{bc}	0,88 ± 0,01 ^{ab}	0,80 ± 0,01 ^a
C 17:1	0,21 ± 0,01 ^g	0,23 ± 0,01 ^f	0,25 ± 0,01 ^d	0,28 ± 0,01 ^b	0,29 ± 0,01 ^a	0,28 ± 0,01 ^b	0,27 ± 0,01 ^c	0,24 ± 0,01 ^e
C 18:0	17,33 ± 0,16 ^a	13,68 ± 0,03 ^e	15,39 ± 0,01 ^b	14,87 ± 0,03 ^c	17,47 ± 0,08 ^a	14,10 ± 0,01 ^d	13,57 ± 0,02 ^e	11,69 ± 0,01 ^f
C 18:1n9T	3,77 ± 0,03 ^a	2,83 ± 0,01 ^d	3,64 ± 0,01 ^b	3,38 ± 0,02 ^c	3,77 ± 0,02 ^a	ND	ND	2,38 ± 0,01 ^e
C 18:1n9C*	19,85 ± 0,19 ^a	21,25 ± 0,03 ^{ab}	21,24 ± 0,02 ^{ab}	22,99 ± 0,30 ^{bc}	23,04 ± 0,11 ^{bc}	29,97 ± 0,01 ^d	28,08 ± 0,04 ^{cd}	23,25 ± 0,02 ^{cd}
X4*	0,60 ± 0,01 ^d	0,45 ± 0,01 ^a	0,53 ± 0,03 ^{bc}	0,50 ± 0,03 ^{bc}	0,57 ± 0,01 ^{cd}	0,63 ± 0,01 ^d	0,44 ± 0,01 ^a	0,46 ± 0,01 ^{ab}
C18:2n6T*	0,16 ± 0,01 ^{bc}	0,18 ± 0,01 ^{de}	0,17 ± 0,01 ^{cd}	0,16 ± 0,01 ^a	0,15 ± 0,01 ^a	0,27 ± 0,01 ^{de}	0,16 ± 0,01 ^{ab}	0,28 ± 0,01 ^e
C18:2n6C*	1,04 ± 0,01 ^{ab}	1,50 ± 0,01 ^{de}	1,41 ± 0,01 ^{cd}	1,23 ± 0,09 ^{bc}	0,47 ± 0,46 ^a	2,27 ± 0,01 ^{fg}	1,65 ± 0,01 ^{ef}	2,66 ± 0,01 ^g
C 20:0	0,29 ± 0,01 ^a	0,22 ± 0,01 ^e	0,26 ± 0,01 ^b	0,24 ± 0,01 ^c	0,28 ± 0,01 ^a	0,23 ± 0,01 ^d	0,20 ± 0,01 ^f	0,17 ± 0,01 ^g
C18:3n6*	0,16 ± 0,01 ^{bc}	0,16 ± 0,01 ^{ab}	0,17 ± 0,01 ^{de}	0,18 ± 0,01 ^{fg}	0,18 ± 0,01 ^g	0,17 ± 0,01 ^{ef}	0,17 ± 0,01 ^{cd}	0,14 ± 0,01 ^a
C18:3n3*	0,28 ± 0,01 ^{ab}	0,27 ± 0,01 ^a	0,31 ± 0,01 ^{cd}	0,30 ± 0,01 ^{bc}	0,28 ± 0,01 ^{ab}	0,63 ± 0,01 ^e	0,40 ± 0,01 ^{de}	0,34 ± 0,01 ^{cde}
C 21:0	0,90 ± 0,01 ^d	0,81 ± 0,01 ^e	1,03 ± 0,01 ^c	1,03 ± 0,01 ^c	1,07 ± 0,01 ^b	1,16 ± 0,01 ^a	0,91 ± 0,01 ^d	0,53 ± 0,01 ^f

Os resultados referem-se à média da área do pico em percentual ± desvio padrão das repetições analisadas em duplicata. * Ácidos graxos acompanhados de asterisco foram analisados pelo teste de Kruskal Wallis. Letras iguais sobrescritas na mesma linha representam médias iguais pelo teste de Tukey ou Kruskal Wallis ($p > 0,05$).

Tabela 13: Somatórios, razões de ácidos graxos e Índices de Qualidade Lipídica de diferentes marcas de queijo tipo Gorgonzola comercializados na região Sudoeste do Paraná e Oeste de Santa Catarina.

DIFERENTES MARCAS DE QUEIJO TIPO GORGONZOLA								
Somatórios	A	B	C	D	E	F	G	H
Σ AGPI*	1,65 ± 0,01 ^{ab}	2,1 ± 0,01 ^{de}	2,07 ± 0,01 ^{cd}	1,88 ± 0,09 ^{bc}	1,08 ± 0,46 ^a	3,35 ± 0,01 ^{fg}	2,37 ± 0,01 ^{ef}	3,42 ± 0,01 ^g
Σ AGMI	25,54 ± 0,25 ^g	26,46 ± 0,04 ^f	27,1 ± 0,02 ^e	28,79 ± 0,34 ^{cd}	29,13 ± 0,14 ^c	32,42 ± 0,01 ^a	30,91 ± 0,03 ^b	28,35 ± 0,02 ^d
Σ AGS*	70,35 ± 0,28 ^f	69,17 ± 0,05 ^{ef}	68,29 ± 0,06 ^{def}	66,86 ± 0,42 ^{bcd}	67,18 ± 0,30 ^{cde}	61,98 ± 0,01 ^a	64,52 ± 0,04 ^{ab}	66,57 ± 0,22 ^{abc}
Σ X*	2,46 ± 0,03 ^{cd}	2,28 ± 0,01 ^{bc}	2,54 ± 0,03 ^{de}	2,47 ± 0,01 ^{cd}	2,62 ± 0,01 ^e	2,26 ± 0,01 ^{ab}	2,2 ± 0,01 ^{ab}	1,66 ± 0,20 ^a
Σ n-6*	1,37 ± 0,01 ^{ab}	1,83 ± 0,01 ^{de}	1,76 ± 0,01 ^{cd}	1,57 ± 0,09 ^{bc}	0,8 ± 0,46 ^a	2,72 ± 0,01 ^{fg}	1,97 ± 0,01 ^{ef}	3,08 ± 0,01 ^g
Σ n-3	0,28 ± 0,01 ^f	0,27 ± 0,01 ^g	0,31 ± 0,01 ^d	0,3 ± 0,01 ^e	0,28 ± 0,01 ^f	0,63 ± 0,01 ^a	0,4 ± 0,01 ^b	0,34 ± 0,01 ^c
Razões								
n-6/n-3*	4,82 ± 0,04 ^{bc}	6,88 ± 0,01 ^{fg}	5,66 ± 0,01 ^{ef}	5,2 ± 0,35 ^{de}	2,83 ± 1,64 ^a	4,32 ± 0,01 ^{ab}	4,9 ± 0,01 ^{cd}	9,17 ± 0,01 ^g
AGI/AGS*	0,39 ± 0,05 ^a	0,41 ± 0,01 ^{ab}	0,43 ± 0,01 ^{abc}	0,46 ± 0,01 ^{cde}	0,45 ± 0,01 ^{bcd}	0,58 ± 0,01 ^f	0,52 ± 0,01 ^{ef}	0,48 ± 0,02 ^{def}
AGPI/AGS*	0,02 ± 0,01 ^a	0,03 ± 0,01 ^{bc}	0,03 ± 0,01 ^{bc}	0,03 ± 0,01 ^{ab}	0,02 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,01 ^d	0,04 ± 0,01 ^{cd}	0,05 ± 0,01 ^d
Índices de Qualidade								
IA	2,87 ± 0,01 ^a	2,81 ± 0,01 ^a	2,64 ± 0,01 ^b	2,47 ± 0,05 ^{cd}	2,4 ± 0,04 ^d	1,96 ± 0,01 ^f	2,29 ± 0,01 ^e	2,53 ± 0,01 ^c
IT	4,29 ± 0,01 ^a	3,95 ± 0,01 ^b	3,89 ± 0,01 ^b	3,59 ± 0,06 ^d	3,69 ± 0,01 ^c	2,76 ± 0,01 ^g	3,16 ± 0,01 ^f	3,41 ± 0,02 ^e

Os resultados referem-se a média ± desvio padrão das repetições analisadas em duplicata. * Índices de ácidos graxos acompanhados de asterisco foram analisados pelo teste de Kruskal Wallis. Letras iguais sobrescritas na mesma linha representam médias iguais pelo teste de Tukey ou Kruskal Wallis ($p > 0,05$). As somatórias são de ácidos graxos: AGPI (poliinsaturados); AGMI (monoinsaturados); AGS (saturados); X (não-identificados pelo padrão); n-6 (ômega-6) e n-3 (ômega-3). As razões são entre as somatórias dos grupos: ácidos graxos insaturados/saturados (AGI/AGS) ácidos graxos poliinsaturados/saturados (AGPI/AGS) e ômega-6/ômega-3 (n-6/n-3); IA – Índice de Aterogencidade; IT – índice de Tromogencidade.

Tabela 14: Perfil de Ácidos graxos de queijos Azul fresco e maturado.

Ácidos Graxos	Queijo Azul Fresco (1° dia) (%)	Queijo Azul maturado (45° dia) (%)
C 4:0	0,55 ± 0,01 ^a	0,37 ± 0,01 ^b
C 6:0	0,56 ± 0,01 ^a	0,41 ± 0,01 ^b
C 8:0	0,54 ± 0,01 ^a	0,44 ± 0,01 ^b
C 10:0	1,84 ± 0,01 ^a	1,63 ± 0,01 ^b
C 12:0	2,76 ± 0,01 ^a	2,59 ± 0,01 ^b
C 14:0	10,71 ± 0,01 ^a	10,65 ± 0,01 ^b
X1	0,53 ± 0,01 ^a	0,52 ± 0,01 ^b
C 14:1	0,80 ± 0,01 ^a	0,74 ± 0,01 ^b
C 15:0	1,09 ± 0,01 ^a	1,10 ± 0,01 ^b
C 16:0	31,51 ± 0,01 ^b	32,56 ± 0,01 ^a
X2	0,55 ± 0,01 ^b	0,56 ± 0,01 ^a
X3	0,20 ± 0,01 ^a	0,20 ± 0,01 ^a
C 16:1	1,43 ± 0,01 ^a	1,36 ± 0,01 ^b
C 17:0	0,79 ± 0,01 ^b	0,87 ± 0,01 ^a
C 17:1	0,25 ± 0,01 ^a	0,24 ± 0,01 ^b
C 18:0	13,44 ± 0,01 ^b	14,18 ± 0,01 ^a
C 18:1n-9t	ND	3,59 ± 0,01
C 18:1n-9c	28,23 ± 0,01 ^a	23,68 ± 0,01 ^b
X4	0,64 ± 0,01 ^b	0,65 ± 0,01 ^a
C18:2n-6t	0,29 ± 0,01 ^a	0,27 ± 0,01 ^b
C18:2n6c	1,64 ± 0,01 ^b	1,66 ± 0,01 ^a
C 20:0	0,20 ± 0,01 ^b	0,21 ± 0,01 ^a
C18:3n-6	0,15 ± 0,01 ^a	0,14 ± 0,01 ^b
C18:3n-3	0,43 ± 0,01 ^b	0,45 ± 0,01 ^a
C 21:0	0,87 ± 0,01 ^b	0,94 ± 0,01 ^a

Os resultados referem-se à média da área do pico em percentual ± desvio padrão das repetições analisadas em duplicata. Letras iguais sobrescritas na mesma linha representam médias iguais pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Com exceção do ácido butírico (C4:0), observou-se diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os demais ácidos graxos (Tabela 12) assim como para os somatórios, razões e índices de aterogenicidade e trombogenicidade nas marcas de queijo tipo Gorgonzola (Tabela 13), mostrando que as mesmas são bem diferentes em relação às características lipídicas quando comparadas entre si.

Do queijo Azul fresco em comparação ao maturado, houve diferença ($p < 0,05$) em todos os ácidos graxos identificados, indicando que o processo de maturação interfere no percentual, somatórios, razões e índices de qualidade lipídica deixando o queijo com maior potencial aterogênico e trombogênico, e aumentando a

saturação dos ácidos, o que não é desejável para a saúde humana. Percebe-se um aumento significativo ($p < 0,05$) dos saturados, poli-insaturados e do ômega-3, com redução de monoinsaturados e ômega-6.

Apesar disso, a maior parte da composição de ácidos graxos é formada por ácidos de cadeia longa, e nos dois tipos de queijo a maior representação é dada pelos saturados (quase 70% do total), principalmente ácido Palmítico (C16:0 - mais de 30%), ácido Esteárico (C18:0 - mais de 11%) e ácido Mirístico (C14:0 - aproximadamente 9%). De 25 a 32% do total de ácidos graxos dos queijos é composta de ácidos graxos monoinsaturados, com diferença entre as marcas ($p < 0,05$), principalmente ácido oleico (C18:1n-9C – mais de 19% do total de AG); e apenas um pequeno percentual é relacionado com poli-insaturados (de 1 a 3%) da qual fazem parte os ômegas-3 (C18:3n-3) e ômegas-6 (C18:2n-6t; C18:2n-6c; C18:3n-6).

Tabela 15: Somatório e razões de ácidos graxos e Índices de Qualidade Lipídica dos queijos Azul fresco e maturado.

Somatórios de ácidos graxos	Queijo Azul fresco (1° dia)	Queijo Azul maturado (45° dia)
Σ AGPI	2,51 \pm 0,01 ^b	2,53 \pm 0,01 ^a
Σ AGMI	30,71 \pm 0,01 ^a	29,61 \pm 0,01 ^b
Σ AGS	64,86 \pm 0,01 ^b	65,95 \pm 0,01 ^a
Σ X	1,92 \pm 0,01 ^a	1,92 \pm 0,01 ^a
Σ n-6	2,082 \pm 0,0006 ^a	2,078 \pm 0,0003 ^b
Σ n-3	0,43 \pm 0,01 ^b	0,45 \pm 0,01 ^a
Razões de ácidos Graxos		
n-6/n-3	4,84 \pm 0,01 ^a	4,64 \pm 0,01 ^b
AGI/AGS	0,51 \pm 0,01 ^a	0,48 \pm 0,01 ^b
AGPI/AGS	0,0387 \pm 1,30e-05 ^a	0,0383 \pm 0,00001 ^b
Índices de Qualidade Lipídica		
Índice de Aterogenecidade (IA)	2,32 \pm 0,01 ^b	2,42 \pm 0,01 ^a
Índice de Trombogenicidade (IT)	3,11 \pm 0,01 ^b	3,3 \pm 0,01 ^a

Os resultados referem-se a média \pm desvio padrão das repetições analisadas em duplicata. Letras iguais sobrescritas na mesma linha representam médias iguais pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). As somatórias são de ácidos graxos: AGPI (poliinsaturados); AGMI (monoinsaturados); AGS (saturados); X (não-identificados pelo padrão); n-6 (ômega-6) e n-3 (ômega-3). As razões são entre as somatórias dos grupos: ácidos graxos insaturados/saturados (AGI/AGS) ácidos graxos poliinsaturados/saturados (AGPI/AGS) e ômega-6/ômega-3 (n-6/n-3).

A composição média de ácidos graxos dos queijos tipo Gorgonzola e queijo Azul é semelhante aos resultados encontrados por Fuke et al. (2012), que estudaram leite produzido em diferentes regiões do Rio Grande do Sul, e obtiveram

67,71% de ácidos graxos saturados (principalmente mirístico, palmítico e esteárico) e 32,51% de ácidos graxos insaturados, especialmente monoinsaturados, dos quais destaca-se o Ácido oléico (18:1n-9c).

Guilherme (2010), da mesma forma, obteve predominância de ácidos graxos saturados (Palmítico, Mirístico, Esteárico e Láurico) na avaliação de queijo Coalho, Ricota, queijo Muçarela e queijo Prato, apesar da diferença estatística entre os tipos de queijos, com a prevalência de Oleico como ácido graxo monoinsaturado.

Queijos de leite de ovinos também possuem características de ácidos graxos e perfil lipídico semelhantes com leite e queijo de bovinos. Pellegrini et al. (2013) percebeu que apesar de haver diferenças entre o processamento e o tempo de maturação de queijo Pecorino, Feta e Labneh de leite de ovelha, a maior parte dos ácidos graxos são saturados (C10:0; C14:0; C16:0 e C18:0). Em Muçarela de búfala, os principais ácidos graxos identificados foram: ácido palmítico (C16:0), oleico (C18:1n9c), láurico (C12:0) e esteárico (C18:0) sucessivamente (OLIVEIRA et al., 2009).

O ácido essencial ômega-3 (C18:3n-3) foi encontrado em maiores percentuais na marca F e em menores frações nas marcas A e B como indica a Tabela 12. Apesar disso, a razão entre o total de ácidos graxos ômega-6 e ômega-3 variou ($p < 0,05$) nas marcas dos queijos tipo Gorgonzola, entre 2:1 até 9:1, porém a grande maioria dos queijos ficou com razão acima de 4:1. De acordo com Simopoulos et al. (1999) um valor recomendado para esta razão seria de 2:1 ou 3:1, na qual poucos dos queijos avaliados seriam indicados para o consumo, no entanto, a WHO (1995) considera aceitável as razões de 5:1 até 10:1, o que indica que todos os queijos avaliados apresentam razões n-6/n-3 de acordo com o recomendado.

Em queijo Azul fresco e maturado, a razão de ácidos graxos (n-6/n-3) apresentou redução após 45 dias de cura, com diferença estatística ($p < 0,05$) assumindo valores de 4,84 e 4,64, respectivamente. Essa redução se deve à diminuição no percentual de ácidos graxos ômega-6 e incremento no percentual de ácidos graxos ômega-3 melhorando a razão n-6/n-3 conferindo benefícios à saúde com relação à prevenção de doenças. De acordo com Valenzuela et al. (2011), quando associado o aumento da ingestão de ômega-3 com a redução de ingestão de ômega-6, os resultados positivos no combate ao câncer são mais expressivos.

Ainda, de acordo com Martin et al. (2006) a ingestão de ômega-3 deve ser proporcional com a de ômega-6 sendo a razão adequada na ordem de até 4:1.

Segundo Young e Martin (2003), o desequilíbrio entre os ácidos graxos n-6 e n-3 pode também estar associado a casos de depressão e transtorno bipolar, uma vez que grande parte da composição cerebral é composta por fosfolipídeos que por sua vez são formados de ácidos graxos insaturados, estando entre os principais os ômega 3 e 6.

Em outros tipos de queijo, a razão encontrada para n-6/n-3 é menor do que os resultados deste estudo, sendo em queijo Prato de 1,90; em queijo Coalho de 1,95; em Ricota de 2,39 e em queijo Muçarela 2,56 (GUILHERME, 2010).

A relação entre AGI/AGS variou entre 0,39 e 0,58 com diferença significativa ($p < 0,05$) entre as diferentes marcas de queijos tipo gorgonzola. No leite de vaca do Sul do Brasil, esta relação é de aproximadamente 0,48 (FUKE et al., 2012). Em queijos de leite de ovelha, estes resultados variam entre 0,25 e 0,60 (PELLEGRINI et al., 2013). Para a manutenção da saúde do indivíduo e controle de doenças coronarianas e hipercolesterolêmicas, a relação de insaturados para saturados deve ser maior que 1 (National Cholesterol Education Program, 1988). Todas as marcas de queijo tipo Gorgonzola avaliadas, apresentaram valores inferiores ao recomendado. No queijo azul fresco e maturado esta situação se repete, no entanto percebe-se redução no valor desta razão ($p < 0,05$) durante a maturação.

As marcas F e G tiveram os maiores resultados para ácidos graxos poli-insaturados e menores para saturados como mostra a Tabela 13. Ainda assim, todas as marcas de queijo tipo Gorgonzola apresentaram razão AGPI/AGS que variaram de 0,02 a 0,05, e as amostras de queijo Azul fresco e maturado, a razão encontrada foi de 0,0387 e 0,0383, respectivamente, todas com valores inferiores ao recomendado pelo Department of Health and Social Security (1984), que estabelece um valor ideal acima de 0,45.

Demais queijos comercializados no Brasil (Coalho, Ricota, Muçarela e Prato) também tiveram índices inferiores do valor recomendado e próximos ao encontrado neste trabalho (entre 0,03 e 0,05) o que segundo Guilherme (2010) mostra que o consumo destes queijos deve ser moderado.

Queijos Minas frescal também têm resultados semelhantes com este trabalho (de 0,03 a 0,11) distante da orientação saudável da relação de consumo desses ácidos graxos, mesmo utilizando leite de vacas alimentadas com diferentes volumosos (MARTINS et al., 2012).

Ainda assim, é perceptível que a alimentação do animal leiteiro tem influência significativa nos ácidos graxos do leite e conseqüentemente do queijo. Silagem de girassol é uma boa alternativa para a melhoria dos parâmetros e relação entre poli-insaturados e saturados (MARTINS et al., 2012).

Em relação aos índices de aterogenicidade e trombogenicidade, apesar de não existir parâmetro estabelecido para estes, quanto menor o resultado, menor o risco de agregação plaquetária e risco de doenças coronarianas em virtude da maior concentração de ácidos graxos anti-aterogênicos (monoinsaturados e ômega 3 e 6) (TURAN; SÖNMEZ; KAYA, 2007). Em queijo tipo Gorgonzola os resultados variaram entre 1,96 e 2,87 para o fator aterogenicidade e 2,76 a 4,29 para trombogenicidade, sendo que, das marcas de queijos tipo gorgonzola avaliadas, a marca F apresentou o melhor índice, enquanto que marca A não apresentou valores consideráveis. Através da análise do queijo Azul fresco e maturado, foi possível observar que tanto o índice de aterogenicidade quanto o índice de trombogenicidade aumentaram significativamente ($p < 0,05$) após a maturação.

Martins et al. (2012) encontraram em queijo Minas frescal índices de aterogenicidade e trombogenicidade de 1,06 a 3,69 e de 1,65 a 4,28 respectivamente, e provou que a alimentação animal tem a capacidade de melhorar esses índices. Em muçarela de búfala, os resultados encontrados por Oliveira (2015) vão de encontro aos desse trabalho, de aproximadamente 2,70 para aterogenicidade e 4,20 para trombogenicidade.

Os resultados apresentados neste estudo, com relação ao perfil de ácidos graxos, razões e índices de qualidade lipídica, podem ter relação direta com o tipo e a alimentação do animal (CHILLIARD; FERLAY, 2004) a sazonalidade do pasto (CHION et al., 2010) e a região produtora (COLLOMB et al., 2002) dentre outros aspectos que podem interferir na qualidade dos produtos de origem animal.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Quatro das amostras de queijo tipo Gorgonzola avaliadas - 50% - apresentaram concentração de natamicina na casca em quantidades superiores ao estabelecido pela legislação brasileira. Em apenas uma amostra não foi detectada a presença de natamicina na massa deste queijo, o que mostra que a maioria das indústrias está em desacordo com a legislação vigente, confirmando que há migração do antifúngico através da porosidade da casca e da textura característica.

Com a maturação, a concentração de natamicina declina em queijo Azul, visto que a mesma se degrada. A concentração de 1,5% de banho de natamicina pode ser considerada segura para a saúde dos consumidores, visto que de acordo com a data que constava na embalagem, os mesmos já encontrava-se em valores menores que o recomendado pela legislação brasileira tanto na casca quanto na massa.

O método de espectrofotometria UV na terceira derivada se mostrou adequado, apresentando boa linearidade e limites de detecção e quantificação dentro do esperado, e por ser acessível, poderia ser implementado nas indústrias queijeiras e também por órgãos de fiscalização.

Com base nos resultados de natamicina, é importante que haja conscientização por parte das indústrias em relação ao modo correto de aplicação do produto, bem como do uso do conservante em quantidades mínimas necessárias. Novos estudos, testando a aplicação de natamicina em queijo Azul por métodos como pulverização ou então novas concentrações de antifúngico poderiam complementar esse trabalho trazendo novas possibilidades de uso com resultados aceitáveis e dentro da legislação.

A caracterização físico-química mostrou que tanto queijo Azul quanto o tipo Gorgonzola possuem altos teores de proteína e lipídeos e, conseqüentemente, altos valores energético e baixa de umidade comparado a outros estudos científicos e livros técnicos.

Foram observadas variações na concentração de sódio entre as marcas de queijo tipo Gorgonzola estudadas e também incompatibilidade com as concentrações apresentadas na tabela nutricional. Com exceção do ácido butírico, todos os ácidos graxos, assim como os somatório, razões e índices de qualidade lipídica variaram significativamente entre as marcas, sendo o perfil composto em sua

maioria por ácidos graxos saturados, resultando em baixos balores da relação AGPI/AGS.

Após 45 dias de maturação do queijo Azul, os parâmetros que sofreram alterações significativas foram a redução da umidade concomitantemente com o aumento das cinzas, do sódio e da redução da A_w ; a alcalinização do pH e a alteração de cor, com redução da luminosidade e o aumento da prevalência da cor verde sobre a cor amarela.

Em queijo Azul todos os ácidos graxos identificados, assim como os somatórios, razões e e índices de qualidade lipídica sofreram alterações com o processo de maturação, com aumento significativo ($p < 0,05$) dos saturados, poli-insaturados e do ômega-3, e redução de monoinsaturados e ômega-6.

As diferenças na cor entre as marcas de queijo tipo Gorgonzola demonstraram que o crescimento do fungo *Penicillium roquefort* é desigual no próprio queijo.

Assim, com base nos parâmetros de saudabilidade (teor de sódio, gordura, valor calórico, razões de ácidos graxos e índices de qualidade lipídica), pode-se concluir que o queijo Azul e/ou Tipo Gorgonzola precisa ser consumido com moderação de forma a evitar doenças crônicas não transmissíveis.

REFERÊNCIAS

- AMÂNCIO, O. M. S.; PHILIPPI, S. T. **Guias Alimentares**. In: SILVA, Sandra M. Chemim S.; MURA, Joana D'Arc Pereira. Tratado de Alimentação, Nutrição & Dietoterapia. 1. ed. São Paulo: Roca, 2007.
- ALBUQUERQUE, L. C. **Queijos no mundo: Origem e tecnologia**. V. 2. Juiz de Fora: Mago cultural, 2002.
- ALVES, V. O. **Avaliação higiênico-sanitária de amostras de queijos minas frescal artesanais comercializados em feiras livres da cidade de volta redonda - RJ e suscetibilidade antimicrobiana das estirpes patogênicas isoladas**. 2013. 134f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2013.
- ARGENTON, A. **Curso de Cromatografia a gás**. Minicursos CRQ-IV. Conceitos de cromatografia a gás. 2010. Disponível em: <<http://www.usjt.br/arq.urb/arquivos/abntnabr6023.pdf>>. Acesso em: 15 dez. 2016.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official Methods of Analysis**. 16. ed. Gaithersburg, v. 2, p. 1-43, 1997.
- BALAGUER, M. P. et al. Functional properties and antifungal activity of films based on gliadins containing cinnamaldehyde and natamycin. **International Journal of Food Microbiology**, v. 173, n.3, p. 62-71, 2014. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160513005801>>. Acesso em: 10 ago. 2015.
- BASSO, R. **Bioquímica e metabolismo dos lípideos**. In: SILVA, Sandra M. Chemim S.; MURA, Joana D'Arc Pereira. Tratado de Alimentação, Nutrição & Dietoterapia. 1. ed. São Paulo: Roca, 2007.
- BISIG, W. et al. Influence of processing on the fatty acid composition and the conjugated linoleic acid in organic and conventional dairy products – a review. **Le Lait**, v. 87, p.1-19, 2007. Disponível em: <<https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00895628/document>>. Acesso em: 20 dez. 2016.
- BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, p.911-917, 1959.
- BRASIL, A. L. D.; DEVICENZI, M. U.; RIBEIRO, L. C. **Nutrição Infantil**. In: SILVA, Sandra M. Chemim S.; MURA, Joana D'Arc Pereira. Tratado de Alimentação, Nutrição & Dietoterapia. 1. ed. São Paulo: Roca, 2007.
- BRASIL. Decreto Nº 30.691, DE 29 DE MARÇO DE 1952. Aprova o novo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**. Poder executivo, Rio de Janeiro, 29 mar. 1952.
- _____. Instrução Normativa nº 11 de 10 de maio de 2016. Fica autorizado o ingresso no território nacional, dos produtos de origem animal destinados ao uso e

ao consumo humano ou animal, classificados como não presumíveis veiculadores de doenças contagiosas. **Diário Oficial da União**. Poder Executivo, Brasília, DF, 11 maio 2016.

_____. Instrução Normativa nº 45 de 23 de outubro de 2007. Adota o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo Azul, na forma do Anexo a presente Instrução Normativa. **Diário Oficial da União**. Poder executivo, Brasília, DF, 24 out. 2007.

_____. Instrução Normativa nº 62 de 29 de dezembro de 2011. Aprova o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel, em conformidade com os Anexos desta Instrução Normativa. **Diário Oficial da União**. Poder executivo, Brasília, DF, 30 de dezembro de 2011.

_____. Portaria nº146 de 07 de março de 1996. Apresenta o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos. **Diário Oficial da União**. Poder executivo, Brasília, DF, 11 mar. 1996. Seção 1, p. 3977.

_____. Resolução nº 4, de 24 de novembro de 1988. Aprova a revisão das Tabelas I, III, IV e V referente a Aditivos Intencionais, bem como os Anexos I, II, III, IV e VIII todas do decreto 55871, de 26.03.1965. **Diário Oficial da União**. Poder Executivo, Brasília, DF, 19 dez. 1988. Seção 1.

_____. Resolução nº 899, de 29 de maio de 2003. Determinar a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos". **Diário Oficial da União**. Poder executivo, Brasília, DF, 02 jun. 2003.

_____. Resolução nº 28, de 23 de fevereiro de 2001. Aprova a extensão de uso de natamicina (pimaricina) (INS 235), como conservador, para tratamento de superfícies de produtos cárneos embutidos no limite máximo de 1mg/dm², ausente 5mm de profundidade. **Diário Oficial da União**. Poder Executivo, Brasília, DF, 02 mar. 2001.

BRITO, N. M. et al. Validação de métodos analíticos: estratégias e discussão. **Pesticidas: revista de ecotoxicologia e meio ambiente**, v. 13, p. 129-146, 2003.

BRUSTOLIN, J. C. **Uso da natamicina no controle do desenvolvimento de fungos em salame tipo italiano**. 2009. 53 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, 2009.

CANTOR, M.D. et al. **Blue Cheese**. In: FOX, P. F. et al. **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology**, 3. ed. Major Cheese Groups, 2004.

CHEN, G.; LU, F.; DU, L. Natamycin production by *Streptomyces gilvosporeus* based on statistical optimization. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 13, p.5057-5061, 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18537260>>. Acesso em: 20 ago. 2015.

CICHOSCKI, A. J. et al. Characterization of Prato cheese, a Brazilian semi-hard cow variety: evolution of physico-chemical parameters and mineral composition during ripening. **Food Control**, v. 13, p. 329-336, 2002. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713502000397>>. Acesso em: 09 maio 2016.

CHILLIARD, Y.; FERLAY, A. Dietary lipids and forages interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties. **Reproduction Nutrition Development**, v. 44, n. 5, p.467-492, 2004. Disponível em: <<http://rnd.edpsciences.org/articles/rnd/pdf/2004/06/R4504.pdf>>. Acesso em: 12 dez. 2016.

CHION, A. R. et al. Variation of fatty acid and terpene profiles in mountain milk and “Toma piemontese” cheese as effected by diet composition in different seasons. **Food Chemistry**, v. 121, n. 2, p. 393-399, 2010. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030881460901468X>>. Acesso em: 15 dez. 2016.

COLLOMB, M. et al. Composition of fatty acids in cow's milk fat produced in the lowlands, mountains and highlands of Switzerland using high-resolution gas chromatography. **International Dairy Journal**, v. 12, n. 8, p. 649-659, 2002. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958694602000614>>. Acesso em: 13 dez. 2016.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DO ABASTECIMENTO. **Leite e Derivados**. Janeiro, 2016.

CPGC. Consortium for the protection of Gorgonzola Cheese. Disponível em: <<http://www.gorgonzola.com/>>. Acesso em: 10 de setembro de 2015.

DELVES-BROUGHTON, J. et al. **Natamycin**. In: DAVIDSON, Michael P.; SOFOS, John N.; BRANEN, A. L. Antimicrobials in food. 3. ed. Food Science and Technology; v. 143, 2005.

DEPARTMENT OF HEALTH AND SOCIAL SECURITY. Diet and cardiovascular disease. Report on Health and social subjects. **HMSO**, n. 28, p. 443-456, 1984.

DERVISOGLU, M. et al. Natamycin content and quality evaluation of yoghurt from small and large-scale brands in Turkey. **Food Additives & Contaminants: Part B**, v. 7, n. 4, p. 254-260, 2014.

DIEZHANDINO, I. et al. Microbiological, physico-chemical and proteolytic changes I s Spanish blue cheese during ripening (Valdeón cheese). **Food Chemistry**, v. 168, n. 1, p. 134-141, 2015.

_____. Rheological, textural, colour ad sensory characteristics of a Spanish blue cheese (Valdeón cheese). **Food Science and Technology**, v. 65, p. 1118-1125, 2016.

DONATO, E. M. et al. Espectrofotometria derivada: uma contribuição prática para o desenvolvimento de métodos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 31, n. 2, p. 125-130, 2010. Disponível em: < http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien_Farm/article/viewFile/1049/944>. Acesso em: 24 mar. 2016.

EFSA, 2009. Scientific opinion on the use of natamycin (E 235) as a food additive. EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS). **European Food Safety Authority – EFSA**, v.7, n.12, 2009. Disponível em: <<https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1412>>. Acesso em: 17 jul. 2015.

EVANGELISTA, J. **Fraudes em alimentos**. In: _____. Tecnologia de alimentos. São Paulo: Atheneu, 2008.

FAHIM, N. K. et al. LC determination of natamycin in doogh with UV detection. **GIDA**, v. 37, n. 3, p.127-132, 2012.

FAJARDO, P. et al. Evaluation of a chitosan-based edible film as carrier of natamycin to improve the storability of Saloio cheese. **Journal of Food Engineering**, v. 101, n. 4, p. 349-356, 2010. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877410003547>>. Acesso em: 03 ago. 2015.

FLETOURIS, D. J.; BOTSOGLU, N. A.; MANTIS, A. J. Rapid spectrophotometric method for analyzing natamycin in cheese and cheese rind. **Journal of AOAC International**, v. 78, n. 4, p. 1024-1029, 1995.

FRANCESCHINI, S. C. C.; PRIORE S. E.; EUCLYDES, M. P. **Necessidades e Recomendações de Nutrientes**. In: CUPPARI, Lilian. Nutrição Clínica o Adulto. 2. ed. Barueri, SP: Manole, 2005.

FOOD CHEMICALS CODEX, USP United States Pharmacopeial. 7. ed. 2010 – 2011.

FUKE, G. et al. Teor de CLA em leites produzidos em diferentes regiões do Estado do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira Ciência Veterinária**, v. 19, n. 2, p. 109-113, 2012.

FURTADO, M. M. **A arte e a ciência do queijo**. 2. ed. São Paulo: Globo, 1991.

_____. **Queijos Especiais**. 1. ed. São Paulo: Setembro Editora, 2013.

_____. **Queijos Finos Maturados por Fungos**. 1. ed. São Paulo: Milk Bizz, 2003.

_____. **Queijos Típicos de Latinoamérica**. 1. ed. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora, 2005.

_____. **Principais problemas dos queijos: causas e prevenção**. 1. Ed. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora, 2005.

FURTADO, M. M.; CASAGRANDE, H. R.; FREITAS, L. C. G. Estudo rápido sobre a evolução de alguns parâmetros físico-químicos durante a maturação do queijo tipo Gorgonzola. **Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes**, v. 39, n. 231, p. 3-8, 1984.

GAVA, A. J.; SILVA, C. A. B.; FRIAS, J. R. G. **Conservação de Alimentos pelo Uso de Aditivos**. In: _____. Tecnologia de alimentos: princípios e aplicações. São Paulo: Nobel, 2008.

GONZÁLEZ-MARTÍN, M. I. et al. Discrimination between cheeses made from cow's ewe's and goat's milk from unsaturated fatty acids and use of the canonical biplot method. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.56, p.34-40, 2017. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157516302204>>. Acesso em: 04 jan. 2017.

HANUSOVÁ, K.; DOBIÁS, J.; VOLDRICH, M. Assessment of functional properties and antimicrobial efficiency of polymer films with lacquer layer containing natamycin in cheese packaging. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 51, n. 3, p. 145-155, 2012. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/298607303_Assessment_of_functional_properties_and_antimicrobial_efficiency_of_polymer_films_with_lacquer_layer_containing_natamycin_in_cheese_packaging>. Acesso em: 10 nov. 2015.

_____. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Indicadores IBGE. **Estatística da produção pecuária**, 2016.

_____. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção da pecuária municipal**, v. 42, 2014.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos Químicos para Análise de Alimentos**. 2. ed. São Paulo: Instituto Adolpho Lutz, 2008.

ISO – International Organization for Standardization. Geneve: Method ISO 5509, 1978.

GUILHERME, R. C. **Perfil e qualidade nutricional dos lipídeos dos queijos Ricota, Coalho, Mussarela e Prato**. 2010. 112 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição) – Programa de Pós Graduação em Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2010.

JAY, J. M. **Conservação de alimentos por meio de aditivos químicos**. In: _____. Microbiologia de Alimentos. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

JECFA, 2007. Safety evaluation of certain food additives and contaminants. Sixty-seventh meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives – JEFCA. **Toxicological recommendations and information on specifications**, n. 58, 2007.

KALLINTERI, L. D.; KOSTOULA, O.K.; SAVVAIDIS, I. N. Efficacy of nisin and/or natamycin to improve the shelf-life of Galotyri cheese. **Food Microbiology**, v. 36, n. 2, p. 176-181, 2013. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002013001093>>. Acesso em: 30 set. 2015.

KIM, N. S. et al. Discrimination of comercial cheeses from fatty acid profiles and phytosterol contentes obtained by CG and PCA. **Food Chemistry**, v.143, n.15, p. 40-47, 2014. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814613010121>>. Acesso em: 30 dez. 2016.

KJELDAHL, J. Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern, **Analysis Chemistry**. v. 22, p. 366-382, 1883.

LANÇAS, F. M. A cromatografia líquida moderna e a espectrometria de massas: finalmente “compatíveis”? **Scientia Chromatographica**, v. 1, n. 2, p. 35-61, 2009. Disponível em: <<http://www.scientiachromatographica.com/article/537643f31ef1fa6001000000>>. Acesso em: 15 fev. 2016.

LANTANO, C. et al. Natamycin based sol-gel antimicrobial coatings on polylactic acid films for food packaging. **Food Chemistry**, v. 165, p. 342-247, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25038685>>. Acesso em: 27 jul. 2015.

LESIC, T. et al. Chemical and fatty acid composition of cow and sheep milk cheeses in a lamb skin sack. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 46, p.70-77, 2016. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157515002501>>. Acesso em: 27 dez. 2016.

LIMA, C. R. R. C. **Identificação de ácidos graxos presentes no óleo de castanha do Brasil em emulsões cosméticas**. 2009. 127 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós graduação e Fármacos e Medicamentos. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

LOURENÇO NETO, J. P. M. **Queijos: aspectos tecnológicos**. 1. ed. Juiz de fora: Master Graf, 2013.

MANZI, P. et al. Composizione di formaggi DOP italiani. **La Rivista di Scienza dell'Alimentazione**, v. 36, p. 9-22, 2007. Disponível em: <http://www.fosan.it/system/files/u1/363_02_pizzoferrato_05.pdf>. Acesso em: 07 jun. 2016.

MARTIN, C. A. et al . Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 6, p. 761-770, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-52732006000600011>. Acesso em: 05 dez 2016.

MARTINS, S. C. S. G. Rendimento, composição e análise sensorial do queijo minas frescal fabricado com leite de vacas mestiças alimentadas com diferentes volumosos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 4, p. 993-1003, 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982012000400023>. Acesso em: 09 ago. 2016.

MARTÍNEZ, M. A. et al. Effect of natamycin on cytochrome P450 enzymes in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 62, p. 281-284, 2013. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691513006212>>. Acesso em: 05 nov. 2015.

MEDEIROS, L. C. S. et al. Ingestão de nutrientes e estado nutricional de crianças em dieta isenta de leite de vaca e derivados. **Jornal de Pediatria**, v. 80, n. 5, 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/jped/v80n5/v80n5a06.pdf>>. Acesso em: 26 maio 2015.

MILKPOINT. Mercado de queijos cresce no país e atrai estrangeiros. 2014. Disponível em: <<http://m.milkpoint.com.br/cadeia-do-leite/giro-lacteo/mercado-de-queijos-cresce-no-pais-e-atrai-estrangeiros-91686n.aspx>>. Acesso em: 15 de março de 2017.

MILKPOINT. Produção de queijos no Brasil perde fôlego em 2015. 2016. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/industria/cadeia-do-leite/giro-de-noticias/producao-de-queijos-no-brasil-perde-folego-em-2015-100443n.aspx>>. Acesso em: 29 de julho de 2016.

MINOLTA. **Precise color communication: color control from feeling to instrumentation**. Ramsey: Minolta Corporation Instrument Systems Division. 1994.

MIYOKO, N. Sal e hipertensão arterial. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 11, n. 2, p. 95-97, 2004. Disponível em: <<http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/>>. Acesso em: 18 jul. 2016.

MOREIRA, C. P. M. **Desenvolvimento de metodologias analíticas para queijos**. 2011. 71f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Alimentar) – Programa de Pós Graduação em Engenharia Alimentar, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2011.

MORETTO, E. et al. **Introdução à ciência de alimentos**. 2. ed. Florianópolis: Ed. da UFSC, 2008.

NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM. Report of the National Cholesterol Education Program expert painel on detection, evolution, and treatment of high blood cholesterol in adults. **Arquivos of Internacional Medicine**, v. 148, n. 1, p. 36-69, 1988. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3422148>>. Acesso em: 22 dez. 2016.

OLIVEIRA, T. M. et al. Avaliação do teor de natamicina em queijos Gorgonzola através de quantificação espectrofotométrica. **Revista Instituto Laticínio Cândido**

Tostes, v. 61, n. 349, p. 48-50, 2006. Disponível em:
<<http://arvoredoleite.org/pdf/349.pdf>>. Acesso em: 28 abr. 2015.

_____. Development and Evaluation of antimicrobial Natamycin-incorporated film in Gorgonzola cheese conservation. **Packaging Technology and Science**, v. 20, n. 2, p. 147-153, 2007. Disponível em:
<http://www.academia.edu/5808857/Development_and_evaluation_of_antimicrobial_natamycin-incorporated_film_in_gorgonzola_cheese_conservation>. Acesso em: 28 abr. 2015.

OLIVEIRA, R. L. Composição química e perfil de ácidos graxos do leite e muçarela de búfalas alimentadas com diferentes fontes de lipídeos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 3, p. 736-744, 2009. Disponível em:
<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352009000300030>. Acesso em: 13 dez. 2016.

OLIVEIRA, T. P. **Índice de qualidade nutricional da fração lipídica da Muçarela de búfala elaborada a partir de massa fermentada congelada**. 2015. 54 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Programa de Pós Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Itapetinga, 2015.

ORNELLAS, L. H. **Técnica dietética: seleção e preparo de alimentos**. 6. Ed. São Paulo: Atheneu, 2006.

PASEIRO-CERRATO, R. et al. Rapid method to determine natamycin by HPLC-DAD in food samples for compliance with EU food legislation. **Food Control**, v. 33, n. 1, p. 262-267, 2013. Disponível em:
<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095671351300128X>>. Acesso em: 02 mar. 2016.

PELLEGRINI, L. G. Caracterização físico-química e perfil lipídico de queijos produzidos com leite ovino. **Revista Instituto Laticínio Cândido Tostes**, v. 68, n. 394, p. 11-18, 2013. Disponível em:
<<https://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/view/38>>. Acesso em: 14 dez. 2016.

POF. PESQUISA DE ORÇAMENTOS FAMILIARES – 2008-2009. **Aquisição Alimentar Domiciliar Per Capita: Brasil e Grandes Regiões**, Rio de Janeiro, 2010.

_____. PESQUISA DE ORÇAMENTOS FAMILIARES – 2008-2009. **Avaliação Nutricional da Disponibilidade Domiciliar de Alimentos no Brasil**, Rio de Janeiro, 2010.

_____. PESQUISA DE ORÇAMENTOS FAMILIARES – 2008-2009. **Despesas, rendimentos e condições de vida**, Rio de Janeiro, 2010.

_____. PESQUISA DE ORÇAMENTOS FAMILIARES – 2008-2009. **Tabela de composição nutricional dos alimentos consumidos no Brasil**, Rio de Janeiro, 2011.

REGITANO-D'ARCE, M. A. B. **Química básica dos lipídeos**. In: OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Barueri: Manole, 2006.

REPS A. et al. Natamycin in ripening cheese. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 1, n. 5, p.243-247, 2002. Disponível em: <<http://scialert.net/qredirect.php?doi=pjn.2002.243.247&linkid=pdf>>. Acesso em: 16 jul. 2015.

RESA, C. P. O.; JAGUS, R. J.; GERSCHESON, L. N. Natamycin efficiency for controlling yeast growth in models systems and on cheese surfaces. **Food Control**, v. 35, n. 1, p. 101-108, 2014. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713513003320>>. Acesso em: 29 out. 2015.

REZENDE, D. C. **Estratégias de coordenação e qualidade na cadeia dos queijos finos**. 2004. 187f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento, Agricultura e Sociedade, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, 2004.

ROBERTS, D. P. T. Development and validation of a rapid method for the determination of natamycin in wine by high-performance liquid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry. **Analytical Methods**, v. 3, p. 937-943, 2011. Disponível em: <<http://pubs.rsc.org/en/content/articlepdf/2011/ay/c0ay00330a>>. Acesso em: 09 nov. 2015.

ROCHA, F. R. P.; TEIXEIRA, L. S. G. Estratégias para o aumento de sensibilidade em espectrofotometria UV-VIS. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 807-812, 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422004000500021>. Acesso em: 08 mar. 2016.

SANTOS, R.D. et al. I Diretriz sobre o consumo de gorduras e saúde cardiovascular. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 100, n. 1, p. 1-40, 2013 . Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2013000900001&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 27 Jan. 2017.

SBAMPATO, C. G.; ABREU, L. R.; FURTADO, M. M. Queijo Gorgonzola fabricado com leite pasteurizado por ejetor de vapor e HTST: parâmetros físico-químicos e sensoriais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 1, p. 191-200, 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2000000100021> . Acesso em: 12 abr. 2016.

SCARCELLI, F. A evolução do mercado de queijos em 2014 e suas perspectivas. **Leite & Derivados**, v. 1, n. 152, p. 21-23, 2015.

SCOTT, R.; ROBINSON R. K.; WILBEY R. A. **Fabricación de Queso**. 2. ed. Zaragoza: Acribia, 2002.

SEBRAE/ESPM, 2008. Queijos nacionais. **Estudos de mercado SEBRAE/ ESPM**, 2008.

SHAHID, F.; SENANAYAKE, S. P. J. N. **Modificación de lipídios**. In: BLOCK, J. M.; BARRERA-ARELLANO, D. Temas selectos en aceites y grasas. São Paulo: Edgard Blucher LTDA, 2009.

SIMOPOULOS, A. P.; LEAF, A.; SALEM JR., N. Eessentiality of and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids. **Ann. Nutrition Metabolism**, v. 43, p. 127-130, 1999.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos métodos químicos e biológicos**. 3. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2009.

SULLOF, E.C. **Comparative study of semisynthetic derivative of natamycin and the parent antibiotic on the spoilage of shredded cheddar cheese**. Tese (Doutorado) - Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University, 1999.

SUN, C. Q. et al. Association between In Vitro susceptibility to natamycin and voriconazole and clinical outcomes in fungal keratitis. **Ophthalmology**, v. 121, n. 8, p. 1495-2000, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24746358>>. Acesso em: 03 set. 2015.

TACO – **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. 4. ed. Campinas: UNICAMP, 2011.

TAGLE, M.A. **Nutrição**. São Paulo: Editora Artes Médicas. 1981. 233p.

TURAN, H.; SÖNMEZ, G.; KAYA, Y. Fatty acid profile and proximate composition of the thornback ray (*Raja clavata*, L. 1758) from the Sinop coast in the Black Sea. **Journal of Fish Science**, v. 1, n. 2, p. 97-103, 2007. Disponível em: <<http://www.hsj.gr/medicine/fatty-acid-profile-and-proximate-composition-of-the-thornback-ray-raja-clavata-l-1758-from-the-sinop-coast-in-the-black-sea.pdf>>. Acesso em: 16 dez. 2016.

TURE, H. et al. Effect of biopolymers containing natamycin against *Aspergillus niger* and *Penicillium roqueforti* on fresh kashar cheese. **International Journal of food science e Technolgy**, v. 46, n. 1, p. 154-160, 2011. Disponível em: <<http://web.iyte.edu.tr/~ferdasoyer/uploads/Soyer/Ture%20et%20al.%202011.pdf>>. Acesso em: 27 out. 2015.

ULBRICHT, T. L. V.; SOUTHGATE, D. A. T. Coronary 38.heart disease: seven dietary factors. **The Lancet**, v. 338, n. 8773, p. 985-992, 1991. Disponível em: <[http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PII0140-6736\(91\)91846-M/abstract](http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PII0140-6736(91)91846-M/abstract)>. Acesso em: 28 nov. 2016.

VALENZUELA, B. R. et al. Ácidos grasos ômega-3 y cáncer, una alternativa nutricional para su prevención y tratamiento. **Revista chilena de nutrición**, v. 38, n. 2, p. 219-226, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182011000200012>. Acesso em: 02 dez. 2016.

VENTURINI, A. T. **Natamicina: análise e controle em sucos de uva e vinhos nacionais e importados comercializados no Brasil**. 2012. 57f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2012.

VIERIKOVA, M.; HRNCIARIKOVA, E.; LEHOTAY, J. Determination of natamycin content in cheese using ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 36, n. 20, p. 2933-2943, 2013.

WHO – WORD HEALTH ORGANIZATION. Diet, nutrition and prevention of chronic diseases. **International Journal of Epidemiology**, v. 33, n. 4, p. 924-915, 2004.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Joint Consultation: fats and oils in human nutrition. **Nutrition Reviews**, v. 53, n. 7, p. 202 – 205, 1995.

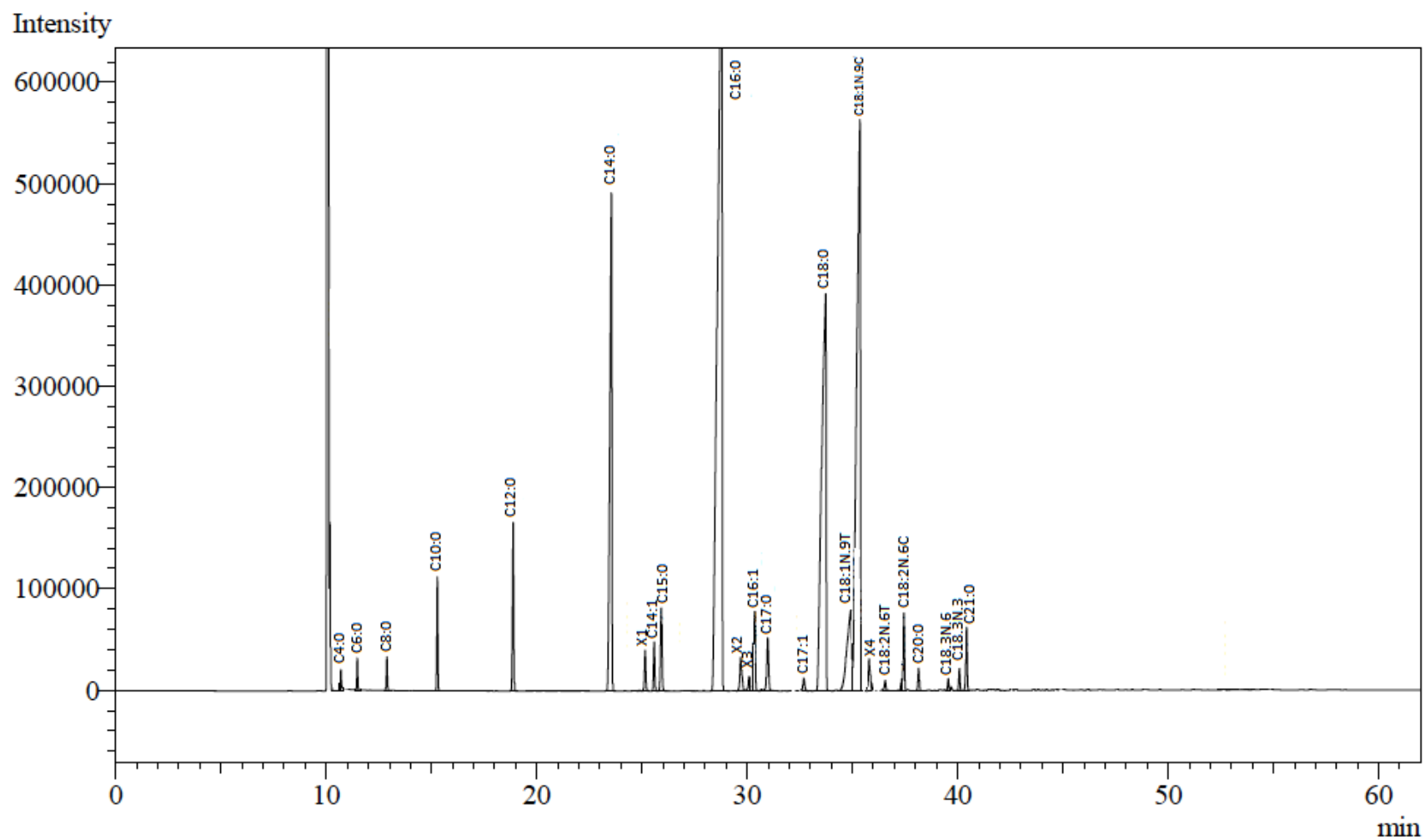
YOUNG, Christopher; MARTIN, Andrés. Ômega-3 fatty acids in mood disorders: an overview. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 25, n. 3, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-44462003000300012>. Acesso em: 13 dez. 2016.

ZAMORA ARDOY, M. A. et al . Aceite de oliva: influencia y beneficios sobre algunas patologías. **Anais Medicina Interna (Madrid)**, v. 21, n. 3, p. 50-54, 2004 . Disponível em: <http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-71992004000300010&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 27 jan. 2017.

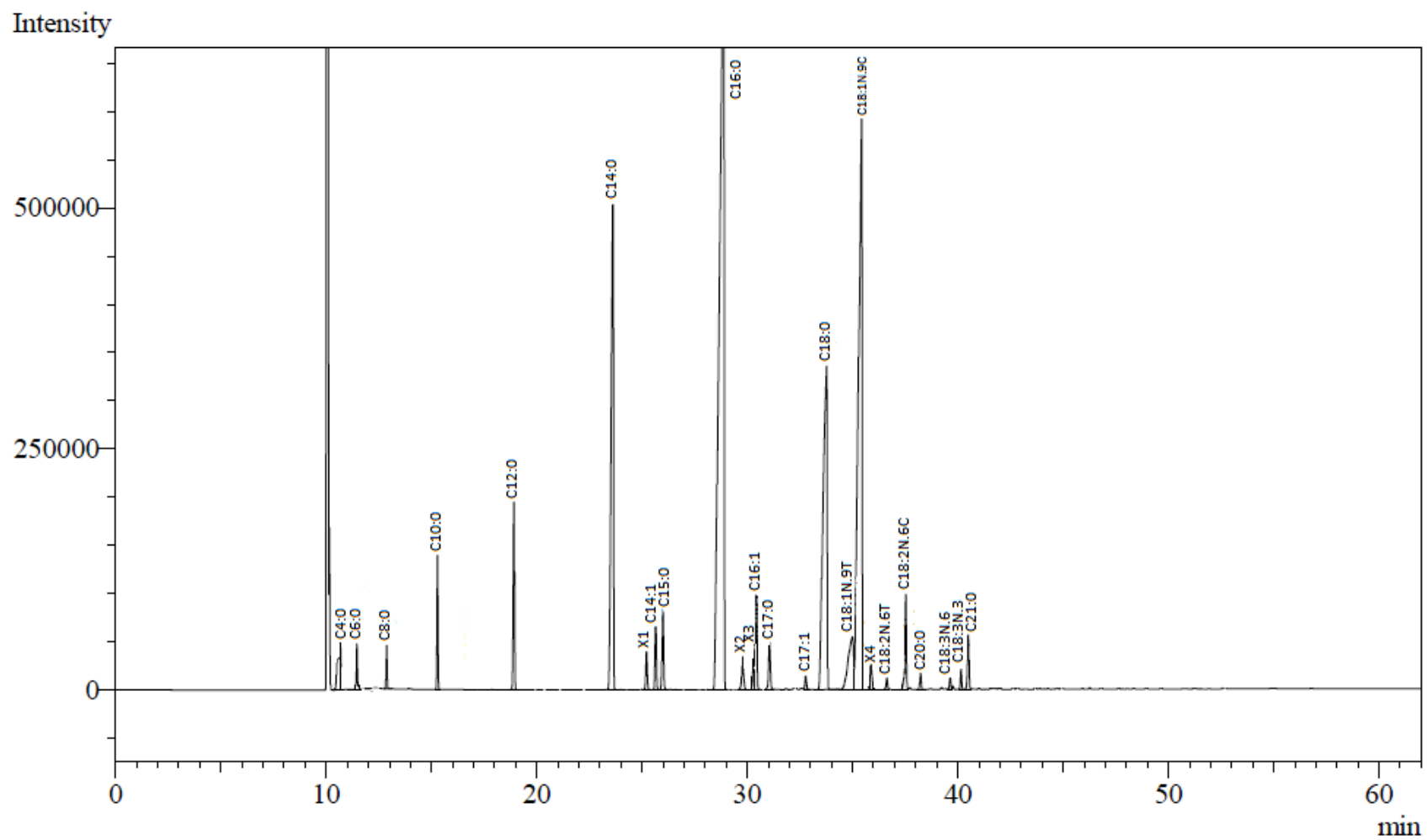
APÊNDICES

A - Cromatogramas

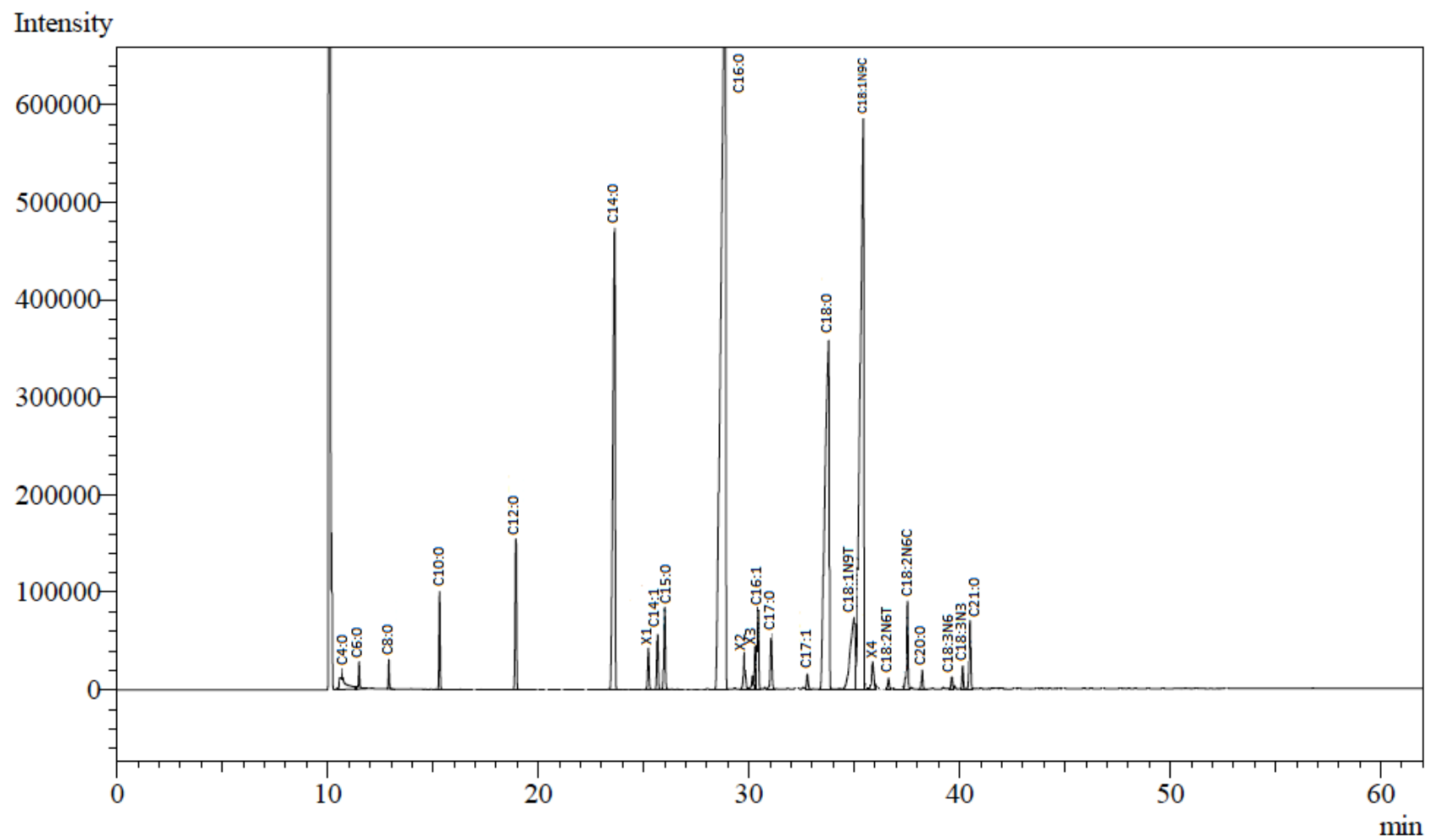
RÉPLICA DA AMOSTRA A

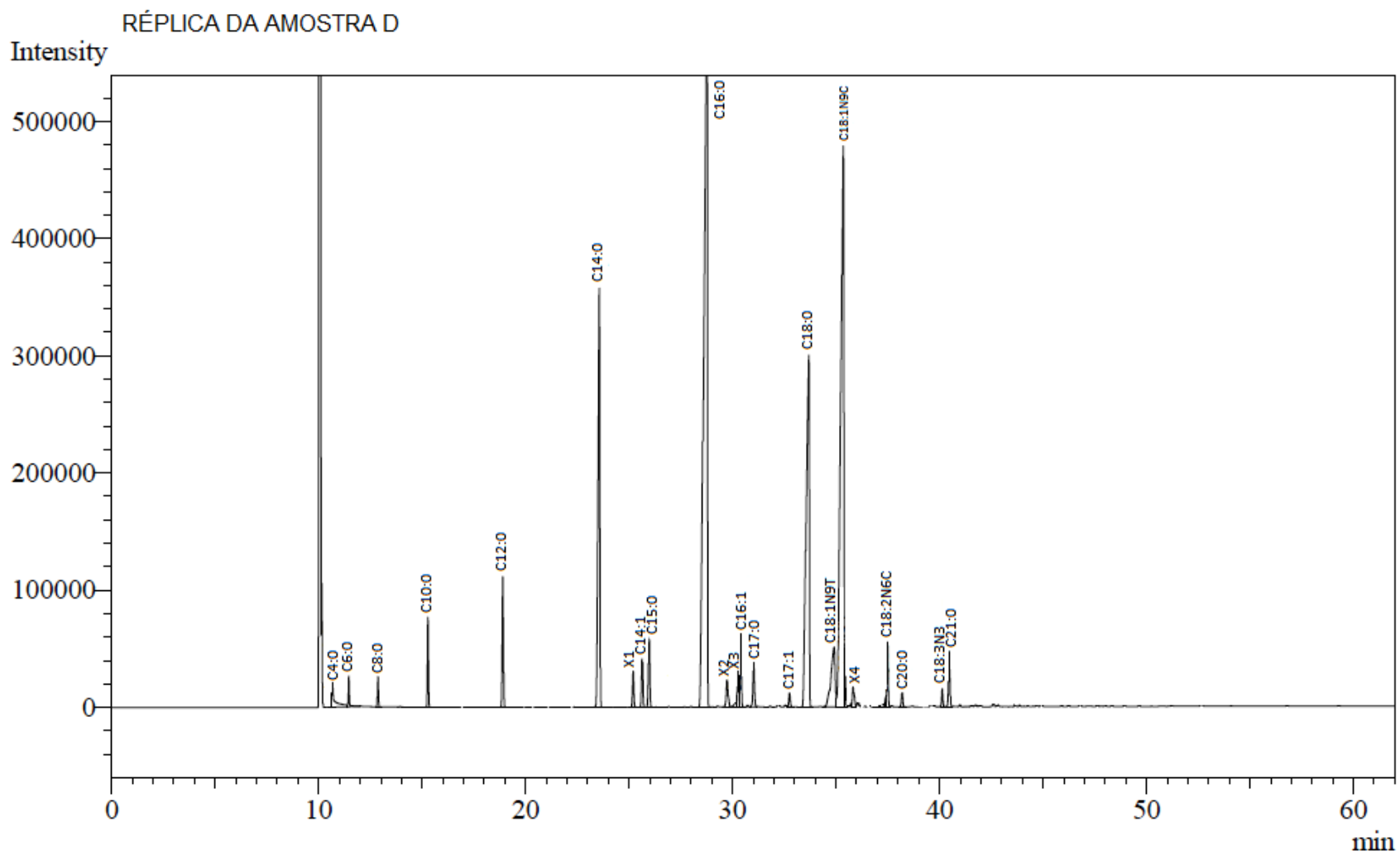


RÉPLICA DA AMOSTRA B

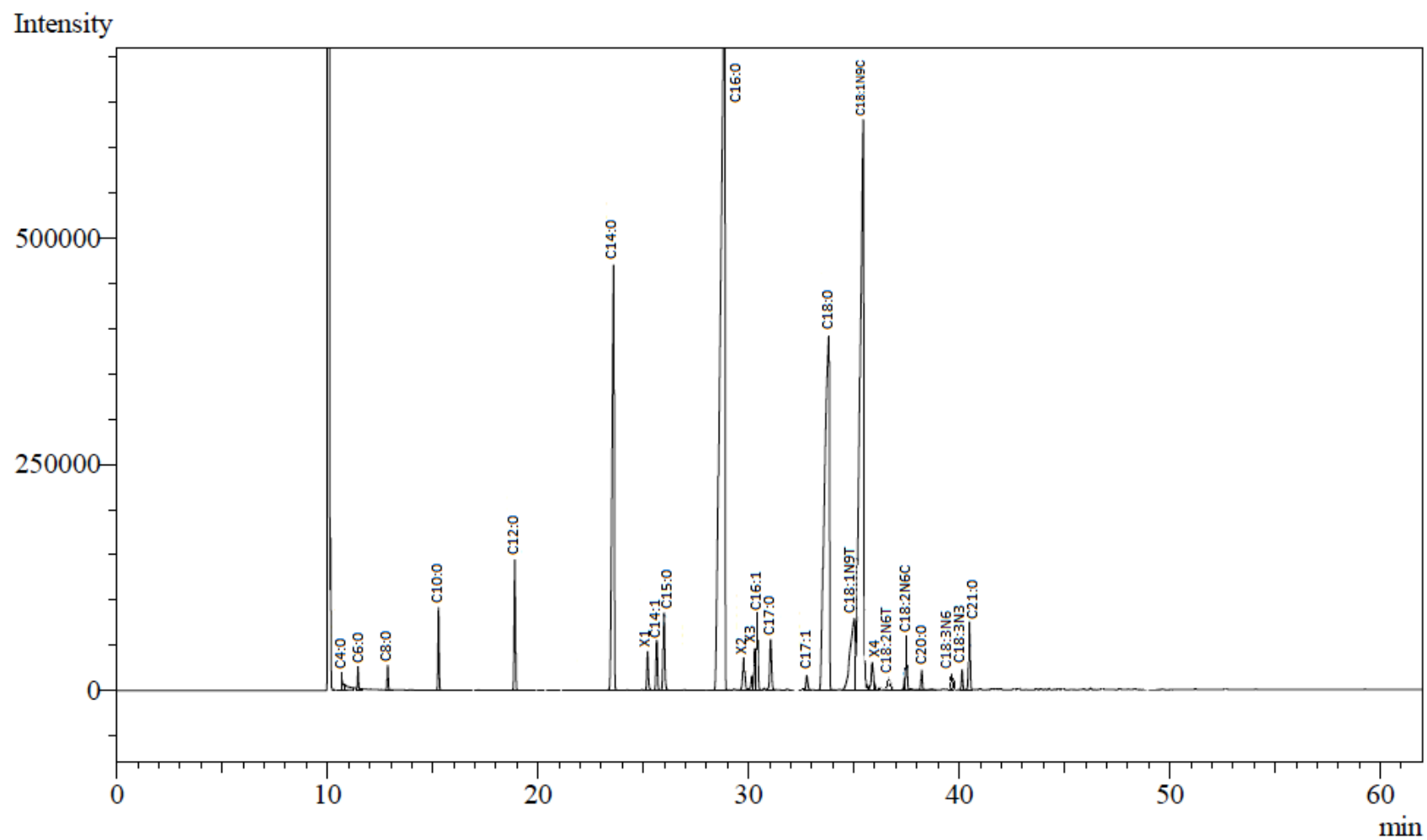


RÉPLICA DA AMOSTRA C

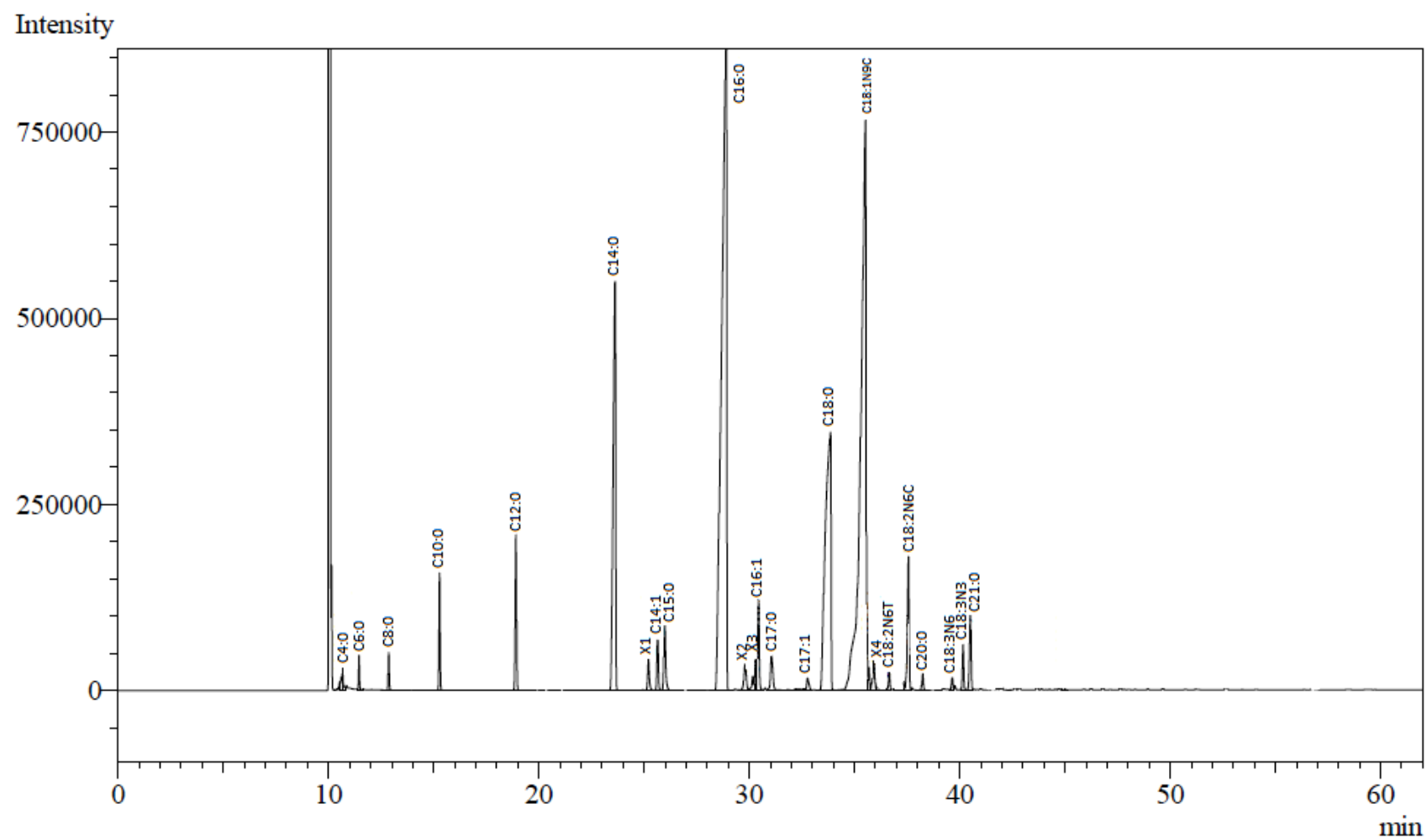




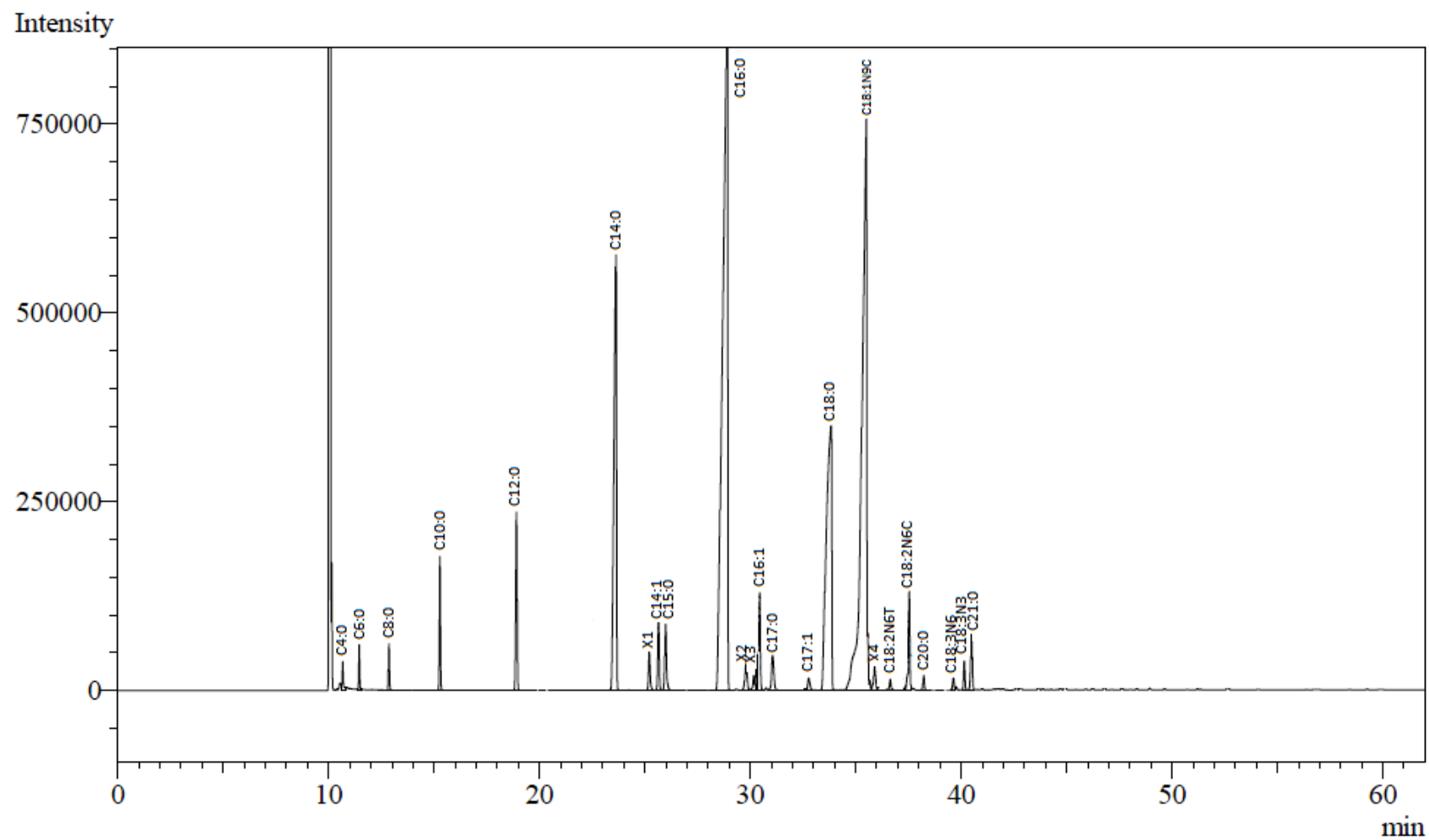
RÉPLICA DA AMOSTRA E



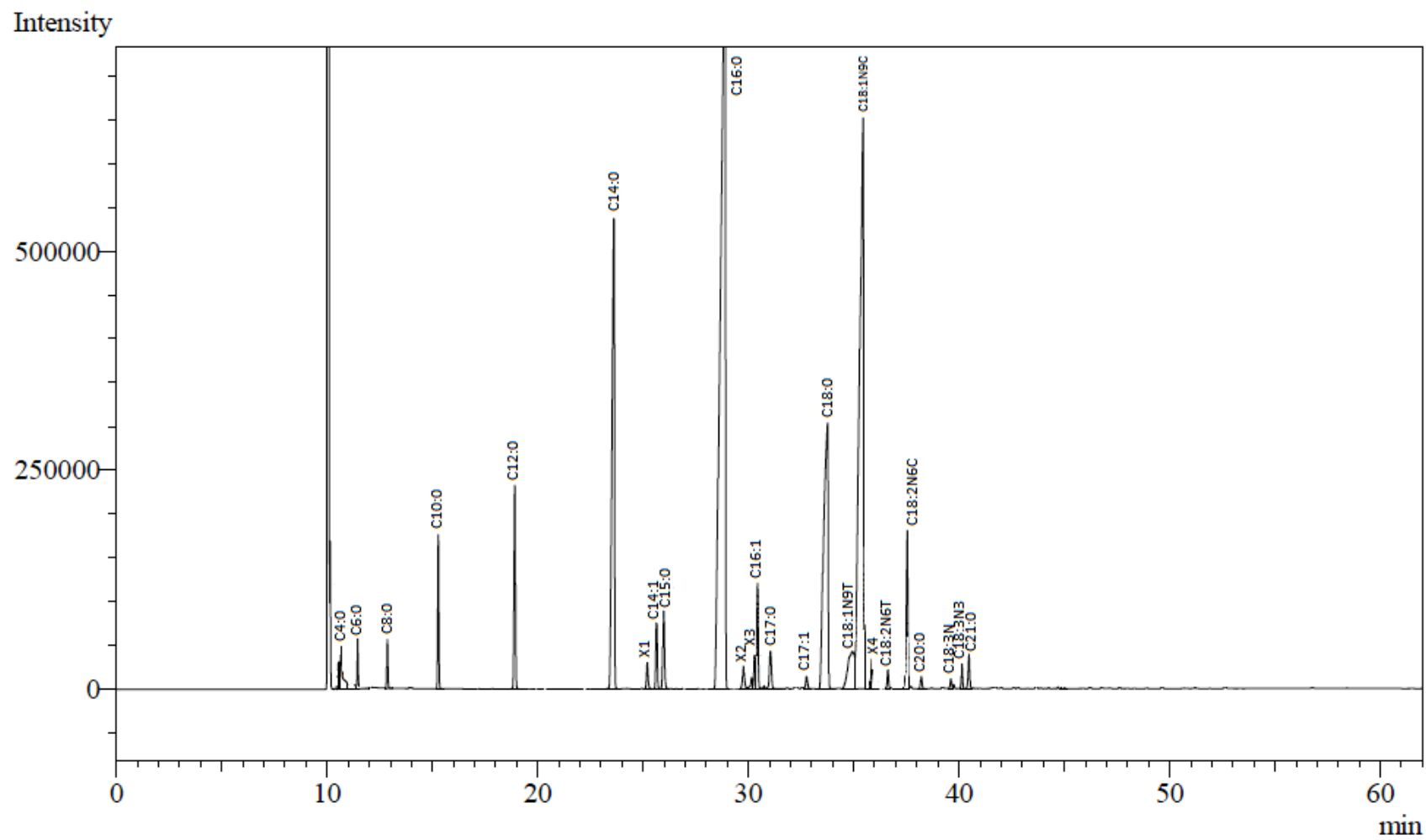
RÉPLICA DA AMOSTRA F



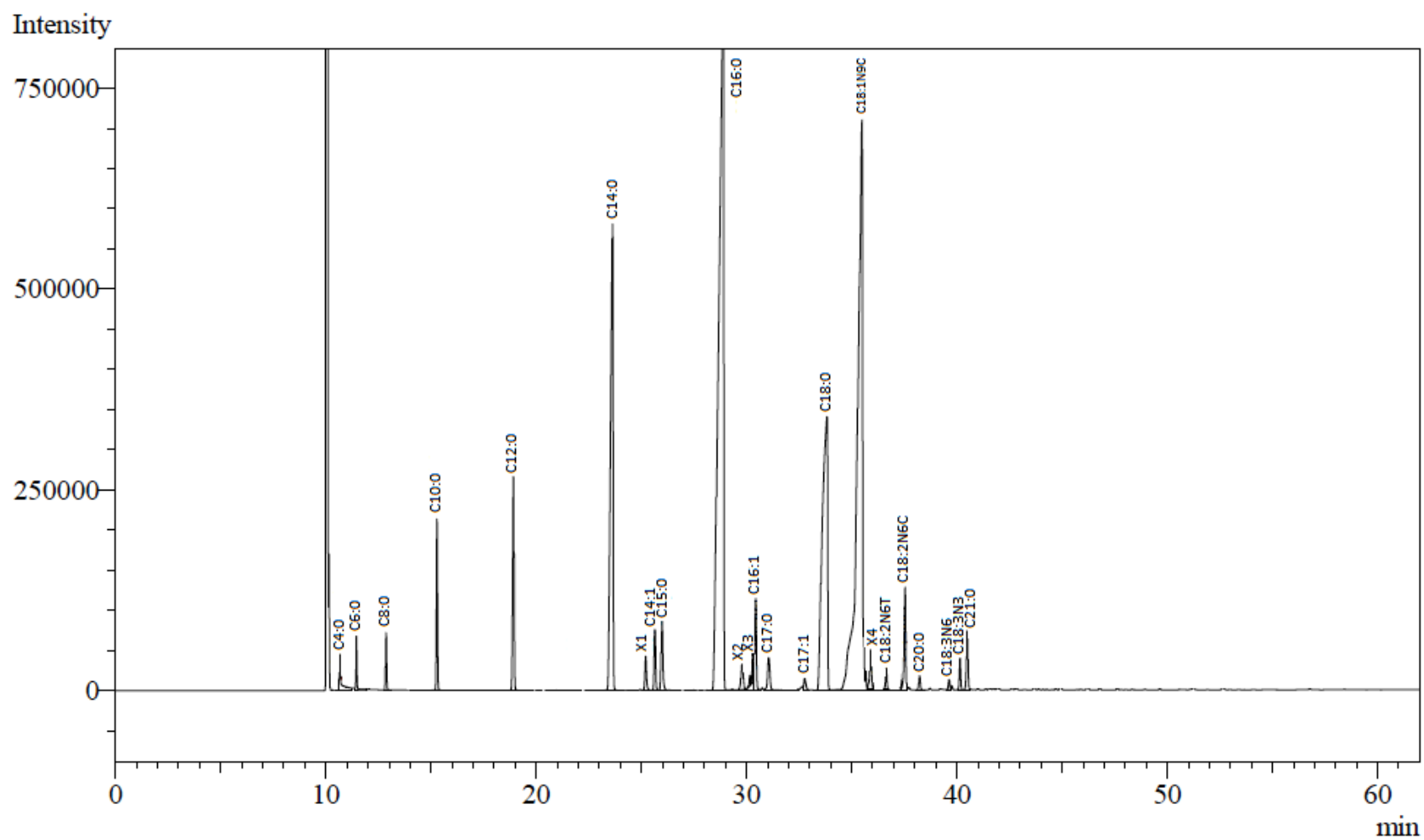
RÉPLICA DA AMOSTRA G



RÉPLICA DA AMOSTRA H



RÉPLICA DA AMOSTRA DE QUEIJO AZUL FRESCO



RÉPLICA DA AMOSTRA DE QUEIJO AZUL MATURADO

