

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA GOIANO – CÂMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**ESTUDO DO *SHELF LIFE* DO QUEIJO MINAS FRESCAL
ARTESANAL E INDUSTRIAL**

Autora: Thamiris Evangelista Silva

Orientadora: Prof^a. Dra. Priscila Alonso dos Santos

Rio Verde - GO
Setembro - 2015

ESTUDO DO *SHELF LIFE* DO QUEIJO MINAS FRESCAL ARTESANAL E INDUSTRIAL

Autora: Thamiris Evangelista Silva
Orientadora: Prof^a. Dra. Priscila Alonso dos Santos

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Rio Verde - Área de concentração Zootecnia /Recursos Pesqueiros.

Rio Verde - GO
Setembro - 2015

Aos meus pais Eliezer da Costa Silva e Doris Evangelista Ferreira, às minhas irmãs Thamara Evangelista Silva e Thaynara Evangelista Silva e à minha avó Terezinha Ferreira Paniago,

Dedico...

*"Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo para todo o propósito debaixo do céu.
Há tempo de nascer, e tempo de morrer; tempo de plantar, e tempo de arrancar o que
se plantou;
Tempo de matar, e tempo de curar; tempo de derrubar, e tempo de edificar;
Tempo de chorar, e tempo de rir; tempo de prantear, e tempo de dançar;
Tempo de espalhar pedras, e tempo de ajuntar pedras; tempo de abraçar, e tempo de
afastar-se de abraçar;
Tempo de buscar, e tempo de perder; tempo de guardar, e tempo de lançar fora;
Tempo de rasgar, e tempo de coser; tempo de estar calado, e tempo de falar;
Tempo de amar, e tempo de odiar; tempo de guerra, e tempo de paz."*

AGRADECIMENTOS

Em um primeiro momento, externo toda a minha gratidão a Deus, quem esteve comigo em todos os instantes, nos tempos de alegria e também nos impasses enfrentados, me fortalecendo e me encorajando para lutar até chegar aqui.

Aos meus amados pais, Eliezer da Costa Silva e Doris Evangelista Ferreira, pela base familiar me dada, pela credibilidade nos meus sonhos e por estarem ao meu lado nos momentos mais difíceis, me encorajando.

Às minhas irmãs, presentes de Deus, Thamara Evangelista Silva, que foi minha companheira nesta jornada, colaborando com muita dedicação na realização dos experimentos e enfrentando ao meu lado todos os momentos de tensão e medo, e Thaynara Evangelista Silva, pelo apoio e carinho a mim prestados mesmo estando distante.

Às minhas queridas vovós, Terezinha Ferreira Paniago e Odília Guimarães Costa, que sempre acreditaram em mim e, mesmo sem parte do vigor de juventude, se mantêm na torcida pelo alcance dos meus objetivos.

Ao meu grande companheiro e namorado, Urley dos Santos Oliveira, pelos finais de semana passados nos laboratórios ou frente ao computador junto comigo, por nunca me desamparar e compreender minha ausência, pelo ombro cedido para derramar minhas lágrimas e pelos abraços de conforto.

À minha grande Professora e Orientadora, Dra Priscila Alonso dos Santos, pelo exemplo de pessoa, pelo auxílio nos momentos de que precisei, por me ajudar a enxergar o percurso para os meus objetivos e por me mostrar que as melhores conquistas de nossas vidas são tomadas por meio de muito esforço e dedicação. Muito obrigada por fazer parte desta etapa da minha vida em que houve grande

desenvolvimento pessoal e profissional e pela minha aceitação desde o primeiro momento em que me propus a participar deste programa de pós-graduação.

Ao Professor Dr. Francisco Ribeiro Neto e ao Professor Dr. Adriano Carvalho Costa, pela disposição em me ajudar nos momentos em que os procurei e pelo auxílio nas análises estatísticas.

À Professora, Dra. Letícia Fleury Viana, que sempre se mostrou pronta e atenciosa para me auxiliar de forma intelectual durante meu projeto.

Aos queridos alunos da Engenharia de Alimentos, Jéssica P. da Silva, Nathália D. Leite, Ariadne R. Lodete, Neylla Crystina N. Vieira, Tainara L. de Sousa, que participaram da pesquisa e dedicaram tempo colaborando com a realização dos experimentos.

Aos meus colegas do mestrado, Enéias A. Dias e Suzana R. de Rezende, e minha grande colega desde a graduação, Maria S. Lima, pela disposição nos trabalhos realizados juntos, pela troca de experiência e por sempre me ajudarem e auxiliarem em tudo de que precisei.

Aos laticínios que se disponibilizaram a me ajudar com as amostras dos queijos e aos colaboradores durante as coletas de amostras.

Aos meus líderes e colegas de trabalho, pelo apoio e compreensão nos momentos em que precisei me ausentar da empresa para cuidar dos assuntos do mestrado.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia Goiano - Câmpus Rio Verde, professores e colegas que tive a oportunidade de conhecer e trocar experiências e aprendizados.

Enfim, a todos os meus familiares e amigos que se mantiveram na torcida pela conclusão deste trabalho.

Muito obrigada a todos!

BIBLIOGRAFIA DO AUTOR

Thamiris Evangelista Silva, nascida em 14 de maio de 1989 no município de Iporá - GO, filha de Eliezer da Costa Silva e Doris Evangelista Ferreira. Em 2007, concluiu o ensino médio no Colégio Estadual Professora Analícia Cecília Barbosa da Silva, município de Amorinópolis - GO. Em 2013, graduou-se em Engenharia de Alimentos pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Câmpus Rio Verde, ingressando, neste mesmo ano, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia também no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Câmpus Rio Verde, na área de concentração de Zootecnia/Recursos Pesqueiros, e na Empresa BRF S/A, área de Pesquisa e Desenvolvimento de Embalagens.

ÍNDICE GERAL

	Página
INTRODUÇÃO GERAL	1
1. Queijo Minas Frescal.....	1
2.1 Aspectos de Qualidade do Queijo Minas Frescal.....	2
2. Matéria-Prima.....	4
2.1.Aspectos Físico-Químicos e Microbiológicos.....	4
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	7
OBJETIVOS GERAIS	10
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
CAPÍTULO I.....	12
CHAPTER I.....	13
INTRODUÇÃO.....	14
MATERIAL E MÉTODOS.....	16
1. Coleta das Amostras	16
2. Análises Realizadas no Leite.....	17
3. Análises Físico-Químicas do Queijo Minas Frescal	18
3.1 Avaliação do pH.....	18
3.2 Acidez Titulável	19
3.3 Gordura.....	19
3.4 Determinação de Nitrogênio Total	20
3.5. Determinação dos Índices de Extensão e Profundidade.....	21
3.6 Extrato Seco Total	21

3.7 Cinzas	22
3.8 Cloretos.....	22
4. Rendimento.....	23
5. Sinérese.....	23
6. Análises Microbiológicas dos Queijos	23
6.1 Coliformes Totais e Termotolerantes	23
6.2 <i>Salmonella</i> sp.....	24
6.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	25
7. Análise Microbiológica da Água.....	25
8. Análises Estatísticas	25
RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
1. Análises do Leite	27
2. Análise dos Queijos.....	28
2.1 Análises Físico-Químicas.....	28
2.2 Sinérese.....	37
2.3 Rendimento.....	39
2.4 Análises Microbiológicas	39
3. Análise da Água Utilizada nos Laticínios	42
CONCLUSÃO.....	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1 - Média das análises feitas no leite utilizado para a produção dos queijos A e B.....	27
TABELA 2 - Média dos parâmetros Físico-Químicos dos queijos A e B.	29

ÍNDICE DAS FIGURAS

FIGURA 1 - Comportamento do pH dos Queijos Minas Frescal A e B durante dez dias de armazenamento a 4°C.	29
FIGURA 2 - Comportamento do parâmetro de Acidez dos Queijos Minas Frescal A e B durante dez dias de armazenamento a 4°C.	30
FIGURA 3- Comportamento do parâmetro de EST dos Queijos Minas Frescal A e B durante dez dias de armazenamento a 4°C.	31
FIGURA 4 - Comportamento do parâmetro de Cinzas dos Queijos Minas Frescal A e B durante dez dias de armazenamento a 4°C.	32
FIGURA 5 - Comportamento do parâmetro de Cloretos dos Queijos Minas Frescal A e B durante dez dias de armazenamento a 4°C.	33
FIGURA 6 - Comportamento do parâmetro Gordura dos Queijos Minas Frescal A e B durante dez dias de armazenamento a 4°C.	34
FIGURA 7 - Comportamento do parâmetro Proteína dos Queijos Minas Frescal A e B durante dez dias de armazenamento a 4°C.	36
FIGURA 8 - Comportamento do Índice de Extensão da Proteólise nos Queijos Minas Frescal A e B durante dez dias de armazenamento a 4°C.	36
FIGURA 9 - Comportamento da Sinérese dos Queijos Minas Frescal A e B durante dez dias de armazenamento a 4°C.....	38
FIGURA 10 - Correlação linear entre aumento de ácido láctico e redução da população de Coliformes Termotolerantes do queijo A durante dez dias de armazenamento a 4°C.	41

INTRODUÇÃO GERAL

A produção de leite e derivados é um dos mais importantes itens econômicos do Brasil, sendo responsável pela movimentação de grande parte da economia nacional. O Queijo Minas Frescal é o terceiro mais consumido no Brasil, ficando atrás do Queijo Muçarela e Prato (FILHO, 2010).

O processo de fabricação do Queijo Minas Frescal envolve diversos fatores cruciais. A raça, a alimentação e a higiene durante a ordenha dos animais são aspectos importantes que interferem significativamente na qualidade do leite para produção de queijos. Estes aspectos estão diretamente relacionados ao teor de gordura, proteínas, presença de microrganismos, resíduos de antibióticos e células somáticas no leite.

Em virtude disto, as indústrias produtoras de laticínios procuram fornecedores que ofereçam matéria-prima dentro dos padrões desejados, mesmo tendo que pagar um valor mais elevado (SÁ et al., 2011). Desta forma, os produtores são levados à procura de melhorias para o rebanho para atender tais exigências.

Furtado (1991) relata que a qualidade e a quantidade de ingredientes utilizados na produção do Queijo Minas Frescal e o controle dos parâmetros do processo de elaboração, assim como o coalho e fermento láctico, a prensagem e a salga, podem afetar diretamente nas características finais do Queijo Minas Frescal.

1. Queijo Minas Frescal

Descobertas arqueológicas revelaram que o queijo já era elaborado de forma rústica entre 3.000 e 4.000 a.C., havendo, atualmente, mais de mil variedades

catalogadas no mundo, das quais cerca 300 são produzidas na França (SALINAS, 2002).

O queijo foi trazido ao Brasil no século XVIII pelos colonizadores e teve sua importância econômica iniciada com a decadência do ciclo do ouro no estado de Minas Gerais. Neste período, os queijos eram fabricados de forma artesanal e permaneceram assim até a intervenção da Vigilância Sanitária, proibindo sua comercialização (MELO; SILVA, 2014).

A produção de queijos artesanais é responsável pela geração de renda de um grande grupo de produtores rurais que buscam agregar valor aos produtos via transformação da matéria-prima (DE PAULA; FILHO, 2011).

Os queijos fabricados em pequena escala nas propriedades rurais podem ser designados como artesanais, oriundos de leite cru recém-ordenhado, envolvendo familiares no processo de produção (DAS DORES; FERREIRA, 2012).

O regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Queijo define o Queijo Minas Frescal como aquele queijo fresco obtido pela coagulação do leite, podendo ser com coalho e/ou enzimas coagulantes, adicionado ou não de bactérias lácticas específicas, leite em pó, creme, sólidos de origem láctea, cloreto de sódio e cloreto de cálcio (BRASIL, 1997).

O Queijo Minas Frescal é um produto de grande interesse para as indústrias de laticínios por ter alto teor de umidade e elevado rendimento, variando entre 5 e 7 litros de leite por quilo de queijo, resultando em um rápido retorno do investimento, preços mais acessíveis e grande aceitabilidade pelos consumidores (HOFFMANN et al., 2002). Tem processamento simples, constituído pelas seguintes etapas: pasteurização, coagulação, corte, mexedura, dessoragem, enformagem, salga, embalagem e refrigeração.

2.1 Aspectos de Qualidade do Queijo Minas Frescal

Conforme a portaria nº 352, de 4 de setembro de 1997, o Queijo Minas Frescal tem consistência branda e macia, cor esbranquiçada, odor e sabor característicos e suaves, levemente ácido, com ou sem olhaduras mecânicas, não tem crosta ou ela é fina. Sua forma deve ser cilíndrica e seu peso variar entre 0,3kg e 5 kg (BRASIL, 1997).

O Queijo Minas Frescal, antes classificado como queijo semigordo e de alta umidade pelo Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Queijo Minas Frescal, passa a ser classificado como queijo semigordo de "muita" alta umidade

após a alteração realizada pela Instrução Normativa nº 04, de primeiro de março de 2004. Desta forma, deve apresentar 25,0 a 44,9% de matéria gorda no extrato seco, umidade superior a 55% e sais entre 1 e 1,6% (BRASIL, 1996; 1997; SILVA, 2005).

Mesmo sendo um produto tipicamente brasileiro, os processos de produção do Queijo Minas Frescal ainda enfrentam carência de fiscalização adequada, podendo ser tanto de forma industrial quanto artesanal, sendo, conseqüentemente, um queijo sem padrão de qualidade, até mesmo quando portador de selos de Serviços de Inspeção (PEREIRA, 2007).

Dados mostram ocorrência de falhas no controle da qualidade de queijos fiscalizados no município do Rio de Janeiro - RJ, indicando que o carimbo do Serviço de Inspeção Federal (SIF) não representa garantia de que os queijos estejam de acordo com as normas vigentes de segurança alimentar (ALMEIDA; FRANCO, 2003).

O serviço de inspeção sanitária é feito por diversos órgãos de atividades governamentais nas esferas federal, estadual e municipal, que têm responsabilidades, diretas ou indiretas, no controle da qualidade dos alimentos e bebidas, sendo seu modelo de organização definido por leis e decretos (PREZOTTO, 2013).

Uma das etapas importante para a produção de laticínios é a pasteurização do leite, caracterizada como ponto crítico de controle do processo de fabricação do Queijo Minas Frescal. O principal objetivo desta etapa é destruir todos os microrganismos patogênicos presentes no leite (BRASIL, 1952).

O processo de pasteurização pode ser feito tanto de forma lenta (62-65°C por 30 min.), quanto rápida (72-75°C por 15-20s). No primeiro processo, são utilizados tanques de aço inoxidável de parede dupla e agitação mecânica do início ao fim para garantir a troca de calor em todo o volume de leite. As desvantagens deste tipo de pasteurização são: longo tempo para realização da atividade, necessidade de grande quantidade de frio e calor, além de possibilidade de desenvolvimento de microrganismos termófilos. E as vantagens consistem na conservação das propriedades do leite próximas ao estado *in natura*, principalmente com relação à cor e ao sabor (TRONCO, 2008).

Já o processo de pasteurização rápida é feito em trocadores de calor a placas, sendo constituído por quatro etapas: aquecimento, retenção, regeneração e resfriamento. A regeneração é a etapa em que ocorre troca de calor do leite já pasteurizado ainda quente com o leite cru recém-bombeado para o equipamento (TRONCO, 2008). As desvantagens deste tipo de pasteurização são o alto custo de aquisição e manutenção do equipamento, porém, é vantajoso por ser um processo contínuo, de controle eficaz,

maior rapidez, menor área para instalação, menor perda por evaporação, maior eliminação de microrganismos termófilos e economia de mão-de-obra (LEITE et al., 2006).

A eficiência deste tipo de tratamento térmico pode ser verificada através das enzimas do leite, fosfatase, que deve ser inativada, e da peroxidase, que deve permanecer ativa (BRASIL, 2002).

O beneficiamento do leite, tratamento térmico, higiene de equipamentos, manipulação, armazenamento, distribuição e conservação do queijo devem estar em sintonia com as Boas Práticas de Fabricação (BPF). Esta questão é grandemente relevante, pois falhas em algumas destas etapas podem comprometer as características sensoriais, influenciar na microbiota do produto final e, até mesmo, causar surtos toxicológicos (FAVA et al., 2012).

2. Matéria-Prima

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o leite bovino é o produto normal, fresco, integral, oriundo da ordenha completa ininterrupta sob condições higiênicas de vacas saudáveis. Tem diversos componentes sólidos suspensos em água, entre eles, glicídios (basicamente lactose), gorduras, proteínas (principalmente a caseína) e minerais (BRASIL, 2002).

A biossíntese do leite ocorre na glândula mamária, sob controle hormonal. Muitos dos constituintes são sintetizados nas células secretoras e alguns são agregados ao leite diretamente a partir do sangue e do epitélio glandular. A espécie, raça, alimentação, estação do ano, doenças e período de lactação do animal são importantes fatores que podem influenciar diretamente na composição do leite (PAULA et al., 2010).

2.1.Aspectos Físico-Químicos e Microbiológicos

O leite cru refrigerado deve apresentar teor de gordura original igual ou maior que 3%; acidez titulável em gramas de ácido láctico por 100mL entre 0,14 e 0,18; e extrato seco desengordurado e proteína devem ser, no mínimo, de 8,4% e 2,9%, respectivamente. Para as regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste, desde primeiro de julho de 2014, os valores para a Contagem Padrão em Placas (CPP) devem ser no máximo de

3×10^5 UFC/mL, e a Contagem de Células Somáticas (CCS), no máximo de 5×10^5 CS/mL (BRASIL, 2011).

Dos constituintes do leite, a água é o constituinte quantitativamente mais importante, pois nela estão dissolvidos, dispersos ou emulsionados os demais componentes, se apresentando na forma ligada e livre, influenciando na textura e nas propriedades dos produtos (CASTRO, 2006).

Já a gordura se encontra sob a forma de pequenos glóbulos, contendo principalmente triacilgliceróis, envolvidos por uma membrana lipoproteica, sendo o constituinte que sofre mais variações. Quanto ao teor de gordura, o leite é classificado em: integral, tendo o teor de gordura original e podendo conter, até, no mínimo, 3,0%; semidesnatado, 0,6% a 2,9% de gordura; e desnatado, com 0,5% de gordura no máximo (BRASIL, 2011).

No leite, estão presentes as vitaminas lipossolúveis A, D, E e K, associadas aos glóbulos de gordura; e as hidrossolúveis B e C, associadas à parte aquosa. Das hidrossolúveis, no leite estão presentes mais de dez tipos de vitaminas no complexo B (B1, B2, B6, B12,). O leite bovino tem vários compostos nitrogenados, dos quais 95% são proteínas (caseína, albumina e globulina), sendo os demais compostos nitrogenados não proteicos (SANTSCHI, 2005).

A quantidade de proteínas no leite é influenciada diretamente pela raça do animal, e sua quantidade está diretamente relacionada à quantidade de gordura. A caseína é o composto nitrogenado mais abundante, é formada de submicelas nas formas α , β , γ e κ e encontra-se associada ao cálcio e ao fósforo, sendo bastante instável em pH baixo (BRITO et al., 2007).

No leite, estão presentes as enzimas lipase, proteinase, óxido-redutase, fosfatases, catalase e peroxidase, que têm atividade influenciada pelas condições do meio (temperatura, pH, acesso ao substrato). Quanto aos carboidratos, o principal componente é a lactose, formada pela glicose e galactose, que está dissolvida no leite. E os minerais presentes são cloro, fósforo, potássio, sódio, cálcio, magnésio, baixos teores de ferro, alumínio, bromo, zinco e manganês, formando sais orgânicos e inorgânicos, sendo o fosfato de cálcio importante componente da estrutura das micelas de caseína (FAEDO et al., 2013; TRONCO, 2003).

As mudanças na composição do leite podem influenciar diretamente na alteração do seu valor como matéria-prima para fabricação de derivados. Por exemplo, uma diminuição de 0,5% de sólidos totais ou 0,1% em proteínas pode significar perda de até

cinco toneladas de leite em pó ou uma tonelada de queijo, respectivamente, para cada milhão de litros de leite processado (MOURÃO, 2012).

Este trabalho objetiva comparar o comportamento de dois queijos de distintos processos de fabricação, um artesanal, portador do selo de inspeção municipal, e outro industrial, com selo de inspeção estadual, durante dez dias de armazenamento, à temperatura de 4°C, por meio de ensaios físico-químicos e microbiológicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, P. M. P.; FRANCO, R. M. Avaliação bacteriológica de queijo tipo Minas Frescal com pesquisa de patógenos importantes à saúde pública: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp e Coliformes Fecais. **Revista Higiene Alimentar**. v. 17, n.11, p. 79-85. 2003.

BRASIL. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Decreto nº. 30.691, de 29 de março de 1952. **Diário Oficial da União**. Seção 1.p.10785. Brasília, DF, 07 jul. 1952.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Portaria nº 352, de 04 de setembro de 1997. Regulamento Técnico Para Fixação de Identidade e Qualidade do Queijo Minas Frescal. **Diário Oficial da União**. Brasília, 1997.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento Nacional de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Regulamento técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. **Diário Oficial da União**. Seção 1, p.13-22. Brasília, 20 set. 2002.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite. **Diário Oficial**. Seção 1, p.1-24. Brasília, 30 de dezembro de 2011.

BRITO, M. P.; BRITO, J. R.; ARCURI, E.; LANGE, C.; SILVA, M.; SOUZA, G. Composição do leite. **EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Brasília, 2007 Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_128_21720039243.html> Acesso em: 02/10/2013.

CASTRO, S. S. Avaliação experimental e modelagem da avaliação do ponto de ebulição do leite adicionado de sacarose. Trabalho para a obtenção do título de mestre

em Ciências e Tecnologia de Alimentos. **Universidade Federal de Viçosa – UFV**. Viçosa – MG, 2006.

DE PAULA, J. S.; FILHO, J. F. F. Evolução recente da agroindústria rural artesanal em Minas Gerais. **Revista Horizonte Científico**. Uberlândia - MG, Julho de 2011.v. 9; s. 2.

DAS DORES, M. T.; FERREIRA, C. L. L. F. Queijo minas artesanal, tradição centenária: ameaças e desafios. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)**. Rio Paranaíba - MG, Dezembro, 2012.v.2, n.2., p.26-34.

FAVA, L. W.; HERNANDES, J. F.; M., PINTO, A. T.; SCHMIDT, V. Características de queijos artesanais tipo colonial comercializados em uma feira agropecuária. **Acta Scientiae Veterinaria**. Porto Alegre - RS, Julho, 2012.

FAEDO, R.; BRIÃO, V. B.; CASTOLDI, S.; GIRARDELLI, L.; MILANI, A. Obtenção de leite com baixo teor de lactose por processos de separação por membranas associados à hidrólise enzimática. **Revista de Ciências Exatas Aplicadas e Tecnológicas da Universidade de Passo Fundo - CIATEC - UPF**. Passo Fundo - RS, 2013. vol.3 (1), p.p.44-54.

FILHO, R. R. L. Aumenta o consumo de queijo no Brasil. **SCOT Consultoria**. Bebedouro - SP, 21 de Setembro de 2010. Disponível em <<https://www.scotconsultoria.com.br/leite/mercado-leite/161/aumenta-o-consumo-de-queijo-no-brasil.htm>> Acesso em: 20/07/2015.

FURTADO, M. M. A arte e a ciências do queijo. **Editora Globo**. São Paulo – SP, 1991. p. 15 -17.

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

LEITE, Z. T. C.; VAITSMAN, D. S.; DUTRA, P. B.; GUEDES, A. Leite e alguns de seus derivados – da antiguidade à atualidade. **Química Nova**, São Paulo, 2006. v. 29, n. 4, p. 876- 880,

MELO, A. C. A.; SILVA, E. L. Queijo Minas Artesanal: Patrimônio brasileiro proibido e oportunidade para o desenvolvimento do turismo rural em Serro/MG- Fórum Internacional de Turismo do Iguassu. Foz do Iguaçu – PR. Junho de 2014.

MOURÃO, G. B.; MARY. A. Z.; RODRIGUEZ, A. P.; SALVIAN, M. Avaliação da Viabilidade Econômica do Melhoramento Genético para Qualidade da Proteína do Leite no Brasil. **Sociedade Brasileira De Melhoramento Animal – SBMA IX** Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal. João Pessoa, PB, Brasil, 20-22 de junho de 2012.

PAULA, F. P.; CARDOSO, C. E.; RANGEL, M. A. C. Análise Físico-química do Leite Cru Refrigerado Proveniente das Propriedades Leiteiras da Região Sul Fluminense. **Revista Eletrônica TECCEN**. Vassouras - RJ, Outubro - Dezembro, 2010.v. 3, n. 4, p. 7-18.

PEREIRA, R. B. Caracterização microbiológica de alguns tipos de queijos regionais brasileiros. 2007. Dissertação (Especialização em Microbiologia). **Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais**. Belo Horizonte - MG, 2007.

PREZOTTO, L. L. Inspeção sanitária de estabelecimentos que processa alimentos. Qualificação de Gestão Pública que Processa Alimentos. **ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Brasília, Março de 2013.

SÁ, O. R.; FRANÇA, N.; ESPER, K. C. P.; PEREIRA, K. C.; SOUZA, N. C.; SILVA, T. M.; Avaliação da qualidade higiênico-sanitária do leite cru refrigerado produzido em propriedades leiteiras do município de Passos e região. **Ciência et Praxis**. Passos - MG, 2011. v. 4, n. 8. p. 23-30.

SALINAS, R. D. Alimentos e Nutrição – Introdução a Bromatologia. 3ª Edição. **Editora Artmed**. Porto Alegre – SC, 2002.

SANTSCHI, D. E.; BERTHIAUME, R.; MATTE, J. J.; MUSTAFA, A.F.; GIRARD, C. L. Fate of Supplementary B-Vitamins in the Gastrointestinal Tract of Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**. Junho de 2005. v 88, n°6, p. 2043–2054.

SILVA, F. T. Queijo minas frescal. Informação Tecnológica. **Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária - EMBRAPA**. Brasília - DF, 2005. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/11884/2/00076200.pdf>> Acesso em: 27/06/2015.

TRONCO, V. M. Manual para inspeção e qualidade do leite. **Editora da UFSM**. Santa Maria, 2003. p. 192.

TRONCO, M. Manual para Inspeção da Qualidade do Leite. 3ª Edição. **Editora da UFSM**. Santa Maria, 2008. p. 114.

OBJETIVOS GERAIS

Este estudo objetiva caracterizar e comparar o comportamento de Queijos Minas Frescal Artesanal (SIM) e Industrial (SIE), produzidos e comercializados na região de Rio Verde – GO, durante dez dias de armazenamento, à temperatura de 4°C, por meio de análises físicas, físico-químicas e microbiológicas, assim como verificar a qualidade da matéria-prima utilizada na sua elaboração.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar os parâmetros físico-químicos da matéria-prima utilizada para a produção do Queijo Minas Frescal Industrial e Artesanal, incluindo a Composição Centesimal, Contagem de Células Somáticas (CCS) e Contagem Bacteriana Total (CBT).
- Determinar o rendimento do Queijo Minas Frescal obtido pelo processo industrial e artesanal.
- Avaliar os parâmetros físico-químicos dos Queijos Minas Frescal referentes à acidez titulável, pH, extrato seco total, cinzas, cloretos, gordura, proteínas, índice de extensão e profundidade.
- Realizar análises microbiológicas do Queijo Minas Frescal com relação à presença de Coliformes Totais e Termotolerantes, *Salmonella* sp. e *Staphylococcus aureus*.
- Acompanhar o comportamento do queijo Minas Frescal durante os dez dias de vida útil por meio de análises físico-químicas e microbiológicas.
- Verificar a sinérese dos Queijos tipo Minas Frescal ao longo dos dez dias de armazenamento;
- Avaliar a qualidade da água utilizada na limpeza dos utensílios quanto à presença de Coliformes.

CAPÍTULO I

ESTUDO DO *SHELF LIFE* DO QUEIJO MINAS FRESCAL ARTESANAL E INDUSTRIAL

RESUMO

O Queijo Minas Frescal é um dos tipos mais produzidos e consumidos no Brasil e seu processo de obtenção pode ser feito desde a forma artesanal, em pequenas unidades produtoras, até a forma industrializada, em grandes laticínios, sob inspeção federal. Este trabalho objetivou avaliar a influência do Selo de Inspeção sobre o Queijo Minas Frescal produzido de forma artesanal e industrializada, bem como a relação entre eles durante o *shelf life* de dez dias, por meio de análises físico-químicas, microbiológicas, rendimento e sinérese. As peças de queijo analisadas estavam em consonância com os requisitos de umidade e gordura preconizados pela legislação, mas os valores obtidos para as análises microbiológicas o caracterizam como impróprio para consumo, com NMP/g de Coliformes Termotolerantes fora do aceitável e presença de *Salmonella* sp. nas amostras avaliadas. O maior rendimento foi obtido pelo queijo A, que apresentou maior sinérese durante os dez dias de armazenamento.

Palavra-chave: Armazenamento, característica, leite, processamento, qualidade.

CHAPTER I

STUDY OF SHELF LIFE OF MINAS FRESH CHEESE, HANDMADE AND INDUSTRIALIZED

ABSTRACT

Minas Fresh Cheese is one of the most produced and consumed cheese types in Brazil and its process can be performed by the traditional way, in small production units, up to industrialized form, in large dairy, under federal inspection. This study aimed to evaluate the influence of the Inspection Label on the Minas Fresh Cheese, made by hand or industrially, and its shelf life during ten storage days by physicochemical, microbiological, yield, and syneresis analysis. The analyzed cheese parts met the moisture and fat requirements recommended by the legislation; however, the obtained values for microbiological analyzes indicate it unfit for consumption, with most probable number (MPN)/g of thermotolerant coliforms outside the acceptable limit, and the presence of *Salmonella* sp. in the evaluated samples. The best yield was obtained by A cheese; samples of it showed higher syneresis during the ten storage days.

Keywords: Feature, milk, processing, quality, storage.

INTRODUÇÃO

Durante os anos de 2000 a 2008, o Brasil aumentou o consumo *per capita* de lácteos, em média, 30%. Para este ano, as perspectivas são inferiores a 2,5%. Esta redução de consumo se dá pelo aumento médio de 3,22% nos preços do leite e seus derivados nos estabelecimentos comerciais (FILHO, 2010; VIEIRA, 2015). Em meio ao cenário de um mercado competitivo, os produtores estão em busca de tecnologias e inovações de produtos, já os consumidores, em busca por preço e qualidade no ato de compra.

O queijo Minas Frescal, presente entre os três tipos mais consumidos no Brasil, é um produto de massa crua, obtido pela coagulação do leite de vaca, embalado e comercializado logo após a produção, com *shelf life* curto, mesmo mantido sob refrigeração (SEBRAE, 2008).

Os avanços tecnológicos estão permitindo inovações nos processos de fabricação do Queijo Minas Frescal, com a maior parte produzida de forma industrializada e uma menor parte, porém, relevante para a economia brasileira, produzida de forma artesanal (DAS DORES; FERREIRA, 2012; DE PAULA; FILHO, 2011).

Os processos de elaboração artesanal e industrial ainda enfrentam grandes dificuldades no controle microbiológico do Queijo Minas Frescal, sendo um problema de alta relevância. Para garantir a qualidade sanitária deste tipo de produto e facilitar sua comercialização, as unidades produtoras adotam selos dos Serviços de Inspeção, que podem ser de origem municipal, estadual ou federal.

Além dos danos à saúde e dos surtos toxicológicos, as bactérias patogênicas se desenvolvem no alimento, atuando na degradação de diversos compostos, como proteínas e gordura, influenciando nas características sensoriais (FAVA et al., 2012).

Este estudo objetiva caracterizar e comparar o comportamento de Queijos Minas Frescal Artesanal e Industrializado, produzidos e comercializados na região de Rio Verde – GO, durante dez dias de armazenamento, à temperatura de 4°C, por meio de análises físicas, físico-químicas e microbiológicas, assim como verificar a qualidade da matéria-prima utilizada na sua elaboração.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Coleta das Amostras

Os Queijos Tipo Minas Frescal foram feitos com leite coletado de produtores rurais da região de Rio Verde, que trabalham com produção de leite de vacas oriundas do cruzamento das raças Gir e Holandês, resultando em animais predominantemente do tipo girolando. Esses animais são criados em regime semi-intensivo, com alimentação a pasto, sendo a área de pastagem formada por capim braquiarião (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu).

Para este trabalho, foram coletadas quatro amostras de leite cru e quatro de Queijo Minas Frescal em cada unidade produtora, sendo uma de processo de produção artesanal e outra, de processo industrial. Essas unidades produtoras estavam localizadas no entorno da cidade de Rio Verde-GO.

A primeira unidade produtora (A) dispunha de um processo de produção artesanal, cuja matéria-prima era obtida apenas de um produtor rural, e o processo de pasteurização do leite era feito de forma lenta ($62-65^{\circ}\text{C}/30\text{min}$). A matéria-prima utilizada para a elaboração dos queijos não era padronizada quanto ao teor de gordura e não havia adição de cloreto de cálcio. A salga era feita no leite, na concentração de 1%, e o queijo tinha selo do Serviço de Inspeção Municipal (SIM).

A segunda unidade produtora (B) era de processo industrial, com matéria-prima oriunda de vários produtores regionais, transportada em caminhões tanque isotérmicos até o laticínio. O processo de pasteurização da matéria-prima era o rápido ($72-75^{\circ}\text{C}/15-20\text{s}$), seguido pela padronização da gordura a 3%. A adição de sal e de cloreto de cálcio

era feita no leite a 1% antes da adição do coagulante enzimático, e o queijo tinha certificação do Serviço de Inspeção Estadual (SIE).

Os dois laticínios não dispunham da adição de culturas lácticas iniciadoras no leite e utilizavam enzimas coagulantes para a fabricação dos Queijos Minas Frescal.

Para a pesquisa, o leite foi coletado assepticamente em fracos estéreis contendo conservante Azidiol® para análise de Contagem Bacteriana Total (CBT) e Bronopol® para análise de Contagem de Células Somáticas (CCS) e composição centesimal. Logo após a coleta, as amostras foram acondicionadas em caixa térmica e enviadas para o Laboratório de Qualidade do Leite (LQL) do Centro de Pesquisa de Alimentos (CPA) da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás (UFG).

Para cada coleta, duas peças de Queijo Minas Frescal foram fracionadas na unidade produtora em oito partes, quatro para análises microbiológicas e quatro para análises físico-químicas, assim, cada fração foi analisada em tempo diferente (dias 1, 4, 7 e 10). Em seguida, foram transportadas em caixas de polietileno extrusado, contendo gelo, para os Laboratórios de Análise Físico-Química de Leite e Derivados e de Microbiologia de Alimentos do Instituto Federal Goiano - Câmpus Rio Verde e armazenadas durante dez dias em temperatura de 4°C em BOD (Lima Tec).

2. Análises Realizadas no Leite

Para a análise da composição centesimal (teores de gordura, sólidos totais, proteína e lactose) do leite cru refrigerado, foi utilizado o princípio analítico, que se baseia na absorção diferencial de ondas infravermelhas pelos componentes do leite, utilizando o equipamento Milkoscan 4000 (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark). Uma alíquota da amostra foi exposta à radiação infravermelha, que possibilita determinar a concentração de cada componente, e passa por um sistema óptico que mede a energia absorvida em comprimentos de onda específicos na região infravermelha. Com a vibração das moléculas dos diferentes componentes em comprimentos específicos, as amostras são irradiadas no comprimento de onda de referência e no comprimento de onda de leitura. O equipamento emite um feixe de luz de radiação infravermelha, que é colhido por um detector. Os sinais de pulso são detectados e, por meio de uma placa, convertidos em concentração percentual do componente específico por meio da integração do equipamento. O resultado final é então, automaticamente, calculado e expressos em percentual (MESQUITA, 2006).

A determinação da CCS foi feita em equipamento Fossomatic 5000 Basic (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark), cujo princípio analítico se baseia na citometria de fluxo. Uma pequena fração da amostra é pipetada automaticamente para o interior do equipamento e misturada aos reagentes (detergente e marcador molecular), ocasionando o rompimento das membranas das células somáticas, permitindo a coloração do DNA pelo brometo de etídio. O equipamento dispõe de uma lâmpada halógena que emite raios de luz azul que, ao incidir sobre o DNA corado, provocam a emissão de pulsos de luz vermelha. Estes pulsos são ampliados e contados por um fotomultiplicador, e os resultados, expressos em CS/mL (MESQUITA, 2006).

A CBT foi feita por técnica de citometria de fluxo pelo equipamento Bactoscan FC (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark). Esta técnica consiste na adição de brometo de etídio ao leite para que o DNA e RNA das bactérias sejam corados. Uma alíquota da amostra é aspirada e misturada a uma solução contendo enzimas e um corante à base de brometo de etídio, que se liga rápida e seletivamente à cadeia dupla do ácido nucleico bacteriano. Assim, esta mistura passa pelo sistema óptico e recebe, constantemente, um feixe de “laser” emitindo fluorescência (pulso), que é captada pelo sistema óptico (fotomultiplicador). Os pulsos são então transformados em contagem individual de bactérias e os resultados, expressos em UFC/mL (NEVES, 2008).

3. Análises Físico-Químicas do Queijo Minas Frescal

As análises físico-químicas dos Queijos Minas Frescal Artesanal Industrializado foram feitas em triplicata, com duas repetições, consoante com a Instrução Normativa nº 68 (BRASIL, 2006).

3.1 Avaliação do pH

Para a avaliação do pH, foi utilizado o potenciômetro digital marca BEL ENGINEERING, modelo W3B, com eletrodo de penetração previamente calibrado. A preparação da amostra consistiu na pesagem de 10g do queijo macerado em um béquer, em seguida, foi feita diluição em 50 mL de água destilada aquecida a, aproximadamente, 45°C, e feita a leitura.

3.2 Acidez Titulável

Foram transferidos 10g de amostra do queijo para um béquer de 150mL, acrescentados cerca de 50mL de água morna isenta de gás carbônico, e a mistura, agitada com bastão de vidro até dissolução possível. A solução foi transferida para um balão volumétrico de 100mL e completado o volume. Uma alíquota de 50mL foi transferida para um erlenmeyer de 125mL, esfriada, e acrescentadas 3 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína a 1% (m/v). Titulou-se com solução de hidróxido de sódio 0,1mol/mL até leve coloração rósea persistente por aproximadamente 30 segundos. O cálculo da acidez é obtido por meio da seguinte fórmula em gramas de ácido láctico por 100g:

$$\% \text{ Ácido Láctico} = \frac{V \cdot f \cdot 0,09 \cdot n \cdot 100}{m}$$

Em que,

V = volume de solução de hidróxido de sódio 0,1 N gasto na titulação, em mL;

m = massa da amostra, em g;

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio 0,1 N;

0,09 = fator de conversão do ácido láctico; e

N = normalidade de solução de hidróxido de sódio 0,1 N.

3.3 Gordura

Para determinação do teor de gordura, foi utilizado o método adaptado para queijos através do butirômetro de Gerber para leite. Para este procedimento, foram pesados 1,0 a 2,0g do queijo em um béquer de 50 mL, digeridos em banho-maria a 65°C em H₂SO₄ (d: 1,605g/mL) para separar o lipídio da proteína. Em seguida, o conteúdo do béquer foi transferido cuidadosamente para o butirômetro, e o béquer, lavado duas vezes com 4mL de H₂SO₄ para garantir que todo conteúdo fosse transferido ao butirômetro. Posteriormente, adicionou-se 1mL de álcool amílico para proteger o lipídio, secou-se a boca do butirômetro, que foi fechada, e feita a centrifugação por 5min a 1.200 RPM. Após estas etapas, o butirômetro foi transferido para o banho-maria a 65°C por 10 minutos e feita a leitura direta na escala volumétrica calibrada. A porcentagem de gordura para o queijo em estudo foi determinada pela seguinte fórmula:

$$\% \text{ lipídeos} = \frac{l \cdot 11,33}{m}$$

Em que:

l = leitura do butirômetro; e

m = massa da amostra em gramas.

3.4 Determinação de Nitrogênio Total

O método utilizado foi o do Micro Kjeldahl. As amostras foram digeridas em bloco digestor da marca Marconi e destiladas em equipamento KEJELTEC SYSTEM, FOSS TECATOR. O procedimento foi pesado em balança analítica, sendo 0,25g de amostra transferidos para o tubo de Kjeldahl. Foram adicionados 2,5g de mistura catalítica [Sulfato de potássio (K_2SO_4) p.a., Sulfato de cobre penta-hidratado ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) p.a., proporção de 10+1] e 7mL de ácido sulfúrico p.a. A amostra foi aquecida em bloco digestor, elevando-se, gradativamente, a temperatura até 400°C. Quando o líquido estava límpido e transparente, de tonalidade azul-esverdeada, ele foi retirado do aquecimento, deixado esfriar e adicionados 10mL de água destilada.

Para a etapa de destilação, foi acoplado, ao destilador, um erlenmeyer contendo 20mL de solução de ácido bórico a 4% (m/v), com 8% de solução indicadora mista [0,132 g de vermelho de metila ($C_{15}H_{15}N_3O_2$] e 0,06 g de verde de bromocresol ($C_{21}H_{14}Br_4O_5S$) em 200 mL de solução de álcool etílico a 70 % (v/v)). Ao tubo de Kjeldahl, foi adicionada uma solução de hidróxido de sódio a 50% (m/v), até que ela se tornasse negra (cerca de 20mL).

O destilado foi titulado em solução de ácido clorídrico 0,1N até a viragem do indicador. O resultado em percentual de nitrogênio total foi obtido pela seguinte fórmula:

$$\% \text{ nitrogênio total} = \frac{V \cdot N \cdot f \cdot 0,014 \cdot 100}{m}$$

Em que:

V = solução de ácido clorídrico 0,1N utilizado na titulação após a correção do branco;

N = normalidade teórica da solução de ácido clorídrico 0,1N;

f = fator de correção da solução de ácido clorídrico 0,1N; e

m = massa da amostra em gramas.

A proteína bruta no queijo foi obtida pela seguinte fórmula, conforme técnica descrita na Instrução Normativa nº 68:

$$\% \text{ Proteína Bruta} = \% \text{ Nitrogênio Total} \cdot 6,38$$

3.5. Determinação dos Índices de Extensão e Profundidade

Para a etapa de extração da amostra, foram pesados 100g do queijo, batido em processador até formação de uma massa uniforme. Desta massa, foram pesados, exatamente, 10 g do queijo, transferidos diretamente para um copo de processador com 80mL de água destilada de 40°C a 45°C e 40mL de solução de citrato de sódio 0,5mol/L e batidos por 7 minutos. A suspensão formada foi transferida quantitativamente para um balão volumétrico de 200 mL, tendo sido feitas diversas lavagens com pequenos volumes de água destilada até completar 200 mL. A solução foi resfriada em água corrente até 20°C e homogeneizada.

Determinação de nitrogênio solúvel em pH 4,6: foram medidos 100 mL da solução, que foi transferida para um béquer de 250 mL; foram adicionados 10 mL de ácido clorídrico a 1,41 mols/L SR; após 5min, foram acrescentados 15 mL de água destilada; após, foi filtrado em papel filtro e reservado para determinação posterior.

Determinação do nitrogênio solúvel em ácido tricloroacético (TCA) 12%: foram medidos exatamente 50mL da suspensão e transferidos para um béquer de 250 mL, foram adicionados 50mL de solução de ácido tricloroacético 24% (m/v). Após 15 minutos, filtrou-se em papel filtro e reservou-se o filtrado para determinação posterior.

As soluções obtidas foram trabalhadas conforme o método Micro Kjeldahl, e os resultados em percentuais foram obtidos por meio das seguintes fórmulas (BYNUM; BARBANO, 1984):

$$\textit{Extensão da Proteólise} = \frac{(\% \textit{Nitrogênio solúvel a pH 4,6}) \cdot 100}{\% \textit{Nitrogênio Total}}$$

$$\textit{Profundidade da Proteólise} = \frac{(\% \textit{Nitrogênio solúvel em TCA a 12\%}) \cdot 100}{\% \textit{Nitrogênio Total}}$$

3.6 Extrato Seco Total

Para determinação do Extrato Seco Total (EST), foi adotado o método de secagem em estufa a 105°C, modelo 400/-2ND, Nova Ética. O cadinho de porcelana foi aquecido em forno mufla a 550°C durante 30 minutos, esfriado em dessecador e tarado. Foram pesados em balança analítica cerca de 5g de amostra diretamente no cadinho. Os cadinhos foram levados à estufa com circulação de ar, à temperatura de 105°C e, na sequência, esfriados em dessecador e pesados. O procedimento foi repetido até peso

constante. Para expressar os resultados em porcentagem de Extrato Seco Total, foi utilizada a seguinte fórmula (BRASIL, 2006):

$$\% EST = \frac{(m_2 - m_0)}{(m_1 - m_0)} .100$$

Em que:

m_0 = massa do cadinho vazio;

m_1 = massa da amostra seca + peso do cadinho; e

m_2 = massa em gramas da amostra úmida + peso do cadinho.

3.7 Cinzas

A determinação das Cinzas ou Resíduo Mineral Fixo foi feita em mufla, modelo N480D, à temperatura de 550°C. Os cadinhos com as amostras previamente secas utilizadas na determinação do Extrato Seco Total foram levados à mufla e incinerados, resfriados em dessecador e pesados. Os resultados em porcentagem de cinzas foram expressos pela seguinte fórmula (BRASIL, 2006):

$$\% Cinzas = \frac{(m_2 - m_0)}{(m_1 - m_0)} .100$$

Em que:

m_0 = massa do cadinho vazio;

m_1 = massa da amostra incinerada + peso do cadinho; e

m_2 = massa em gramas da amostra úmida + peso do cadinho.

3.8 Cloretos

Partindo do obtido na análise de cinzas, todo o conteúdo incinerado foi transferido para um erlenmeyer de 125 mL. Foram adicionados cerca de 50 mL de água morna e 1mL de solução de cromato de potássio a 5 %. Esta solução foi titulada com uma solução de nitrato de prata 0,1 N, até coloração vermelho tijolo. O percentual de cloretos foi obtido pela seguinte fórmula (BRASIL,2006):

$$\% NaCl = \frac{V . f . N . 0,0585 . 100}{m}$$

Em que:

V = volume da solução de nitrato de prata 0,1 N gasto na titulação, em mL;

f = fator de correção da solução de nitrato de prata 0,1 N;

m = massa da amostra, em gramas;

N = normalidade da solução de nitrato de prata 0,1 N; e
 0,0585 = miliequivalente-grama do cloreto de sódio.

4. Rendimento

O rendimento do processo de obtenção dos queijos foi calculado pela quantidade de leite utilizada em quilograma e pela massa do queijo obtido ao final do processo (FRITZEN-FREIRE et al., 2010), por meio da seguinte equação:

$$\text{Rendimento} = \frac{\text{Volume de Leite Utilizado na Produção}}{\text{Massa de Queijo Produzido}}$$

5. Sinérese

A sinérese foi calculada pelo peso de soro de leite liberado por cada amostra de queijo em sua própria embalagem (AICHINGER et al., 2003). Os resultados obtidos em porcentagem foram calculados pela seguinte fórmula.

$$\text{Sinérese} = \frac{\text{Peso Soro}}{\text{Peso Amostra}} \cdot 100$$

6. Análises Microbiológicas dos Queijos

As análises do Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Totais e Termotolerantes e da presença de *Salmonella* sp. e *Staphylococcus aureus* no Queijo tipo Minas Frescal foram feitas de acordo com a Instrução Normativa nº 62 (IN 62/03) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2003).

6.1 Coliformes Totais e Termotolerantes

Para determinação do NMP de Coliformes Totais e Termotolerantes, foi utilizada a seguinte metodologia para os quatro dias de análise do Queijo Minas Frescal.

De cada amostra, foram pesados, assepticamente, 25 gramas do queijo e adicionados 225 mL de solução salina estéril, a fim de obter-se a diluição inicial (10^{-1}), que foi homogeneizada. Posteriormente, 1mL desta diluição foi colocado num tubo

contendo 9mL de Solução Salina Peptonada 0,1%, obtendo-se uma diluição de 10^{-2} , tendo tal procedimento sido repetido para obtenção de uma diluição de 10^{-3} .

De cada diluição (10^{-1} a 10^{-3}) do queijo em estudo, foram tomadas três porções de 1mL cada e inoculadas, respectivamente, em três tubos contendo 9mL de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), e um tubo de Durham invertido, obtendo-se três séries de três tubos, os quais foram incubados em estufa a 35 °C- 37° C, por 24 a 48 horas.

Os subcultivos positivos foram semeados em tubos de Caldo Verde Brilhante Bile 2% com tubo de Durham invertido e incubados a 35°C em estufa durante 24 a 48 horas. A prova foi considerada positiva somente quando foram verificadas turvação do meio e produção de gás nos tubos de Durham, dentro de um período de incubação máximo de 48 horas.

A partir do LST turvo, uma alçada de cada cultura foi tomada dos tubos positivos e transferida para tubos de Caldo *Escherichia coli* (EC MERCK), contendo tubos de Durham invertidos, e incubados a 45,5 °C, em banho-maria, para determinação de Coliformes Termotolerantes.

6.2 *Salmonella* sp

Na pesquisa de *Salmonella* sp., 25g de amostra foram pesados assepticamente e homogeneizados em 225mL de Caldo Lactosado (CL), pH 6,8, e incubados a 36°C por 24 horas para recuperação de células injuriadas. As amostras foram transferidas para dois diferentes caldos de enriquecimento seletivo, Rappaport-Vassiliadis e Tetrionato-Novobiocina, incubadas a 37°C e 42°C/24 horas. Cada amostra foi semeada em placas de Petri com Ágar MacConkeyee em Ágar Bismuto Sulfito, incubadas por 24 horas a 37°C.

Para teste de confirmação, duas colônias de cada placa foram selecionadas e inoculadas através de picada profunda e estriamento na superfície do bisel no Ágar Ferro Três Açúcares (TSI) e Ágar Lisina Ferro (LIA). Os tubos de TSI e Lia inoculados foram incubados a 36°C por 18 a 24 horas e, posteriormente, foi feita a leitura dos resultados.

6.3 *Staphylococcus aureus*

A análise de contagem de *S. aureus* foi feita pelo método de contagem direta em placas, que consiste em selecionar três diluições adequadas da amostra, conforme as instruções de diluições para análise do NMP de Coliformes, e inocular 0,1mL da diluição nas superfícies de placas de Ágar Baird-Parker (BP), previamente preparadas, até que todo o líquido seja absorvido pela superfície. As placas inoculadas foram incubadas invertidas a 35°C por 48 horas.

Para o teste de confirmação, cinco colônias típicas foram selecionadas para teste de Coagulase e Catalase. Cada colônia foi transferida para um tubo de Caldo Infusão Cérebro Coração (BHI) e emulsionada. Uma alçada da emulsão foi transferida para um tubo contendo Ágar Trypticase de Soja inclinado, e os tubos inoculados foram incubados a 35°C por 24 horas. Após o período de incubação, foi adicionado 1,0mL de peróxido de hidrogênio a 3% em cada tubo e feita a leitura do teste de Catalase. Foram considerados positivos os tubos com produção de gás.

Para o teste de Coagulase, 0,2mL de cada cultura obtida no caldo BHI foi transferida para um tubo e adicionado 0,5mL de Plasma de Coelho com EDTA, tendo esta mistura sido emulsionada cuidadosamente, incubada em banho-maria a 37°C e verificada a formação ou não de coágulo.

7. Análise Microbiológica da Água

Na água utilizada para lavagem dos utensílios dos estabelecimentos, foi feita análise para verificação do NMP (Número Mais Provável) de Coliformes Totais e Termotolerantes, conforme metodologia citada anteriormente para o queijo em estudo.

8. Análises Estatísticas

Para a análise estatística, foi utilizado o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), em esquema de parcela subdividida, com duas repetições em triplicata, sendo a parcela ou Fator A o processo de produção do Queijo Minas Frescal (industrializado e artesanal) e a subparcela ou Fator B o tempo de análise (dias 1, 4, 7 e 10), seguindo o modelo $Y_{ijk} = \mu + a_i + b_j + (ab)_{ij} + r_k + \xi_{ijk}$, em que:

Y_{ijk} é a observação do i -ésimo nível do fator A e j -ésimo nível do fator B, na k -ésima repetição

μ é a média geral;

a_i é o efeito do i -ésimo nível do fator A;

b_j é o efeito do j -ésimo nível do fator B,

$(ab)_{ij}$ é o efeito da interação entre o i -ésimo nível do fator A e o j -ésimo nível do fator B;

r_k é o efeito da k -ésima repetição; e

ξ_{ijk} é o erro casual associado à observação X_{ijk} .

Para a análise do leite, utilizou-se a Análise de Variância (ANOVA). Os resultados de CCS e das análises microbiológicas foram transformados em logaritmo natural, por não terem apresentado distribuição normal.

Todas as análises foram feitas com o auxílio Software livre R (R, 2010).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Análises do Leite

A Tabela 1 mostra que os teores de gordura, proteína, lactose e Extrato Seco Desengordurado (ESD) não apresentaram diferença significativa entre o leite utilizado nos processos de produção dos queijos A e o leite utilizado para os queijos B. Já os resultados obtidos para Extrato Seco Total (EST) diferiram significativamente entre si ($p < 0,05$). Todos os parâmetros se mostraram consoantes com a Instrução Normativa 62, que preconiza valores mínimos de 3g/100g de gordura, 2,9g/100g de proteína, 11,4 g/100g de Extrato Seco Total (EST) e 8,4 g/100g de Extrato Seco Desengordurado (ESD) (BRASIL, 2011).

TABELA 1 - Média das análises dos componentes do leite utilizado para a produção dos queijos A e B.

Variáveis	Médias do Leite		p-valor
	A	B	
Gordura (g/100g)	3,69	3,54	1,37
Proteína (g/100g)	3,16	3,15	0,83
Lactose (g/100g)	4,40	4,45	0,19
EST (g/100g) ¹	12,26	12,10	0,01*
ESD (g/100g) ²	8,57	8,56	0,77
CCS (CS/mL) ³	7,5x10 ⁵	5,9x10 ⁵	0,00*
CBT (UFC/mL) ⁴	2,8x10 ⁵	6,0x10 ⁶	0,00*

¹Extrato Seco Total; ²Extrato Seco Desengordurado; ³Contagem de Células Somáticas; ⁴Contagem Bacteriana Total. * $p < 0,05$.

Leite A: Matéria-prima utilizada para a produção de Queijo Minas Frescal em processo Artesanal; Leite B: Matéria-prima utilizada para a produção do Queijo Minas Frescal em processo Industrializado.

Os resultados obtidos para CCS foram $7,5 \times 10^5$ CS/mL para o leite utilizado no processo de fabricação do queijo A e $5,9 \times 10^5$ CS/mL para o B diferiram significativamente entre si ($p < 0,05$), estando fora dos padrões preconizados pela IN 62 ($\leq 5,0 \times 10^5$ CS/mL).

Os valores encontrados indicam falta de higiene no manejo das vacas e deficiência nos tratamentos de mastite clínica e subclínica do rebanho, contribuindo com variações dos teores de gordura, proteína, minerais e sólidos totais, porém não favoráveis à qualidade do leite, podendo influenciar nas características sensoriais do Queijo Minas Frescal.

Os valores apresentados para CBT do leite utilizado para o processo de produção dos queijos A e B foram, respectivamente, $2,8 \times 10^5$ e $6,0 \times 10^6$ UFC/mL, diferindo significativamente entre si ($p < 0,05$). O leite utilizado no processo de fabricação do queijo B está fora dos padrões preconizados pela legislação, de $\leq 3 \times 10^5$ UFC/mL (BRASIL, 2011).

Elevados valores de CBT podem indicar deficiência higiênico-sanitária durante a ordenha e possíveis doenças nos animais. Lombardi e Resende (2014) avaliaram a qualidade do Queijo Minas Frescal com selo de Inspeção Municipal em dois laticínios distintos e detectaram o reflexo da má qualidade do leite e também dos queijos produzidos, não atendendo à legislação vigente.

2. Análise dos Queijos

2.1 Análises Físico-Químicas

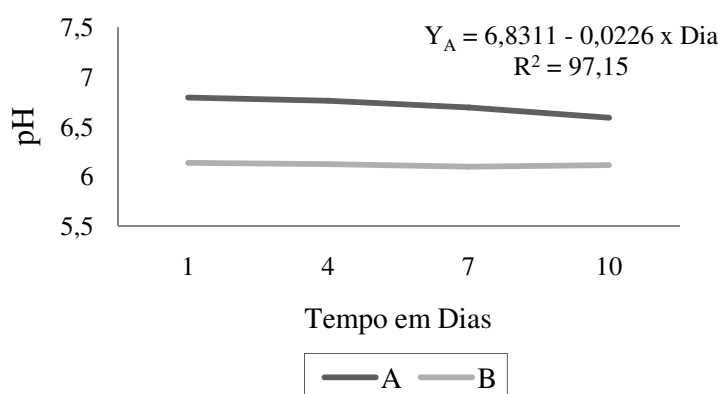
A Tabela 2 apresenta as médias dos parâmetros físico-químicos encontrados para os Queijos A e B durante os 10 dias de armazenamento. As médias indicam que os queijos A e B diferiram significativamente entre si nos parâmetros pH, acidez, EST, cloretos, gordura e proteína, entretanto houve semelhança no ensaio de cinzas ($p > 0,05$), indicando que o processo de produção tem grande influência nos quesitos físicos e químicos dos queijos.

TABELA 2 - Média dos parâmetros Físico-Químicos dos queijos A e B.

VARIÁVEIS	Média Geral dos Queijos		p-valor
	A (Past. Lenta)	B (Past. Rápida)	
pH	6,71	6,12	0,00*
Acidez (g/100g)	0,09	0,21	0,00*
EST (g/100g)	34,68	45,62	0,00*
Cinzas (g/100g)	2,82	3,04	0,31
Cloretos (g/100g)	1,38	1,06	0,00*
Gordura (g/100g)	19,01	24,66	0,00*
Proteína (g/100g)	12,45	18,65	0,00*
IEP ¹ (g/100g)	0,20	0,18	0,10

*p<0,05; Queijo A: processo de produção de Queijo Minas Frescal Artesanal; Queijo B: processo de produção do Queijo Minas Frescal Industrializado; ¹ Índice de Extensão da Proteólise.

As Figuras 1 e 2 mostram o comportamento dos Queijos A e B referente aos ensaios de pH e acidez titulável durante dez dias de armazenamento.

**FIGURA 1** - Comportamento do pH dos Queijos Minas Frescal A e B durante dez dias de armazenamento a 4°C.

O queijo A apresentou redução média de 0,02 no valor do pH a cada dia de armazenamento, variando de 6,80 a 6,58 do dia 1 ao 10, e aumento da acidez de 0,03%, partindo de 0,07 no dia 1 para 0,10g de ácido láctico/100g no dia 10, tendo seu comportamento mostrado melhor ajuste ao modelo polinomial de primeiro grau nos ensaios de pH e acidez titulável.

O queijo B apresentou pH constante e inferior ao do queijo A, com média de 6,1, não diferindo significativamente entre os dias de armazenamento. Os valores de acidez do queijo B foram superiores aos do queijo A, variando de 0,17 a 0,24g de ácido

lático/100g do dia 1 ao dia 10, tendo melhor ajuste ao polinômio de regressão de segundo grau, conforme observado na Figura 2.

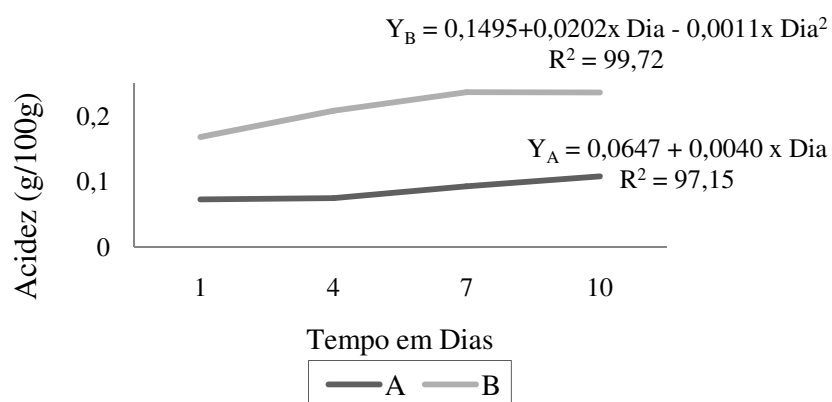


FIGURA 2 - Comportamento do parâmetro de Acidez dos Queijos Minas Frescal A e B durante dez dias de armazenamento a 4°C.

Os valores de pH e acidez titulável encontrados nos queijos de produção artesanal durante os dias de armazenamento podem ser explicados por uma possível falha no processo de pasteurização da matéria-prima, em que era utilizada a pasteurização lenta, e o processo não atingia o binômio tempo/temperatura, levando a um aumento na concentração de ácido lático.

O aumento da acidez em % de ácido lático é inversamente proporcional à redução do pH. Estas variações estão relacionadas com o aumento da população dos microrganismos mesófilos, psicrotróficos e bactérias lácticas, que são agentes protagonizantes da transformação da lactose em ácido lático (SANGALETTI et al., 2009).

A diferença existente para os parâmetros de Acidez e pH entre os tratamentos A e B também pode estar associada à baixa concentração de umidade do queijo B (54,38%), proporcionando maior concentração de íons de H⁺ no queijo. Esta elevada concentração confirma estudo feito por Melo et al. (2013), que avaliaram a inocuidade e a qualidade microbiológica do queijo artesanal serrano e sua relação com as variáveis físico-químicas e o período de maturação, evidenciando uma relação entre a ação de microrganismos, possivelmente presentes no queijo, durante a quebra da lactose.

Sangaletti et al. (2009) avaliaram o comportamento do Queijo Minas Frescal durante 30 dias de armazenamento e observaram redução do pH de 6,66 para 5,85. Resultados semelhantes também foram encontrados por Costa et al. (2013), que

avaliaram Queijo Minas Frescal probiótico e obtiveram valores de 6,53 e 6,05 para produtos processados de leite bovino e caprino, respectivamente.

Os resultados para análise de EST apresentaram diferença significativa entre os tratamentos, com comportamento constante ao longo dos 10 dias de armazenamento (Figura 3).

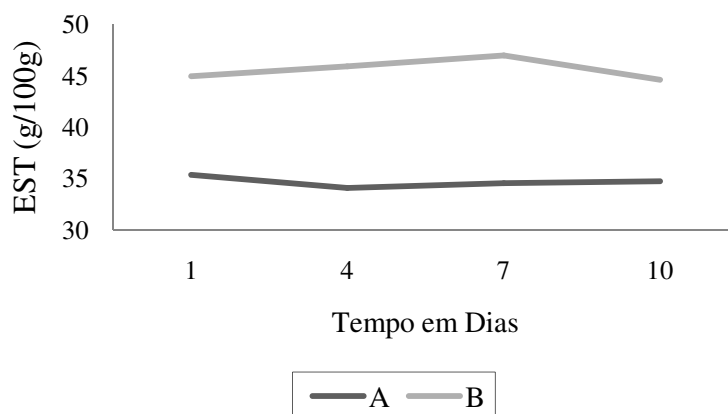


FIGURA 3- Comportamento do parâmetro de EST dos Queijos Minas Frescal A e B durante dez dias de armazenamento a 4°C.

As médias obtidas nos ensaios de EST foram 34,68 e 45,62g/100g para o queijo A e B, respectivamente, indicando que o queijo A atende ao critério de classificação de muita alta umidade da legislação ($\geq 55\%$), com 65,32% de umidade, e o B, ao de alta umidade (36,0 a 54,9%), com 54,38%.

A composição do leite, o processo de pasteurização, o tempo de coagulação, o tamanho do corte dos grãos de coalhada e a intensidade da mexedura estão relacionados ao teor de EST ou umidade de queijos, mas o principal fator que diferiu o tratamento A do B foi a etapa de prensagem feita no processo de produção do Queijo Minas Frescal Industrial. Esta etapa intensifica a expulsão do soro e confere ao queijo uma massa mais compacta, não sendo um processo exigido na produção do Queijo Minas Frescal, pois a gravidade e o peso da massa são suficientes para conferir forma ao produto.

Costa et al. (2013) encontraram valores concernentes ao Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Queijo Minas Frescal para queijos de muito alta umidade, com resultados de 36,8% e 41,5% de EST para os Queijos Minas Frescal elaborados com leite bovino e caprino, respectivamente.

Ricardo et al. (2011) obtiveram 40% dos Queijos Minas Frescal Artesanal analisados quanto ao teor de EST condizentes para a classificação do produto como de

muita alta umidade, variando entre 55,03 a 68,96%. Para os Queijos Minas Frescal industrializados, todas as amostras analisadas estavam dentro dos padrões definidos para muito alta umidade, apresentando variações entre 55,0 e 69,9% de umidade.

Os valores médios obtidos para as análises de cinzas dos Queijos Minas Frescal A e B ficaram entre 2,82g/100g para o queijo A e 3,04g/100g para o queijo B, não apresentando diferença significativa entre si ($p>0,05$), com comportamento linear e constante ao longo dos dias de armazenamento (Figura 4).

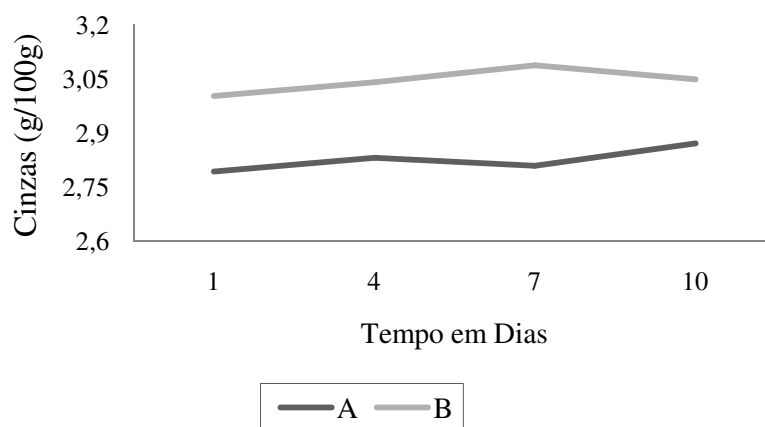


FIGURA 4 - Comportamento do parâmetro de Cinzas dos Queijos Minas Frescal A e B durante dez dias de armazenamento a 4°C.

A diferença encontrada entre os tratamentos na análise de cinzas pode ser atribuída ao elevado teor de EST presente no Queijo Minas Frescal B indicando que a adição de cloreto de cálcio (CaCl) influencia na retenção de sólidos na massa, reduzindo a perda de finos no soro.

Resultados semelhantes para o ensaio de cinzas foram encontrados por Souza et al. (2015), que trabalharam com matéria-prima oriunda de diferentes concentrações de ureia na dieta dos animais e relataram que não houve influência nos teores de cinzas, que variaram de 2,37 a 3,22g/100g.

Os Queijos Minas Frescal A e B apresentaram diferença significativa entre si ($p<0,05$) no ensaio de cloretos, com média dos resultados encontrados para o queijo A de 1,38g/100g e para o queijo de B 1,06g/100g, e comportamento constante ao longo dos dez dias de armazenamento (Figura 5).

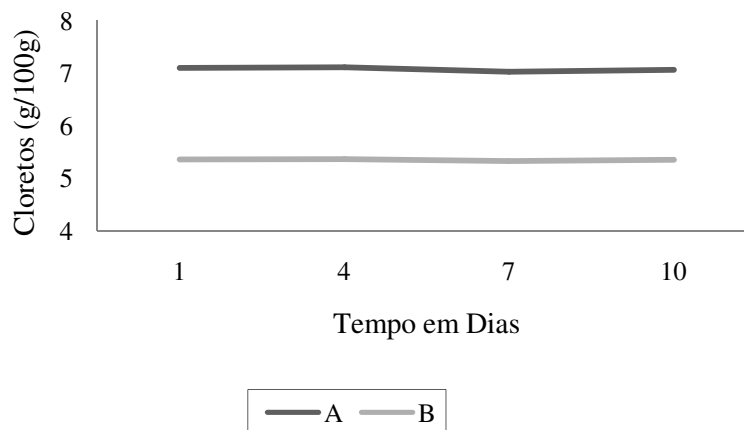


FIGURA 5 - Comportamento do parâmetro de Cloretos dos Queijos Minas Frescal A e B durante dez dias de armazenamento a 4°C.

Salga úmida (em tanques de salmoura) e salga seca (direto na peça) são as melhores formas de adição de sal aos queijos, e a concentração ideal no produto é de 1,5%. Os dois processos de fabricação de Queijo Minas Frescal estudados fazem a salga diretamente no leite, prática não recomendada, pois parte do NaCl é extraída durante a sinérese. O soro obtido não pode ser utilizado na produção de derivados.

O elevado valor de cloretos para o queijo A pode estar relacionado à elevada CCS encontrada na matéria-prima utilizada. Sabe-se que vacas com mastite clínica têm as paredes dos vasos sanguíneos dilatadas, e diversas substâncias do sangue são levadas junto com os leucócitos para o leite, incluindo íons de cloro e sódio, que deixam o leite com sabor salgado, e podem influenciar no teor de sal do produto acabado. Este fato pode ter influenciado na maior concentração de cloretos no queijo A, que tinha matéria-prima com níveis mais elevados de CCS que a utilizada para produção do queijo B.

Silva et al. (2011) observaram diferenças entre os processos de produção de Queijo Minas Frescal Artesanal de Minas Gerais para a análise de cloretos, evidenciando variações existentes na etapa de salga, com valores superiores, entre 1,73 e 2,17%. Oliveira et al. (2013) também observaram resultados superiores aos do presente estudo em queijos artesanais produzidos nas regiões do Serro, Canastra e Cerrado, do Estado de Minas Gerais, tendo os valores encontrados variado de 1,77 a 2,62%. As diferenças observadas podem estar vinculadas ao tipo de salga, à seca, evidenciando a não padronização do teor de sal adicionado.

A adição excessiva de sódio aos alimentos causa hipertensão arterial, sendo adotada em processos de produção de queijos clandestinos para mascarar alterações sensoriais que podem ser consequentes da presença de microrganismos.

A Figura 6 mostra o comportamento do parâmetro gordura avaliado durante os dez dias de análise para os Queijos Minas Frescal A e B.

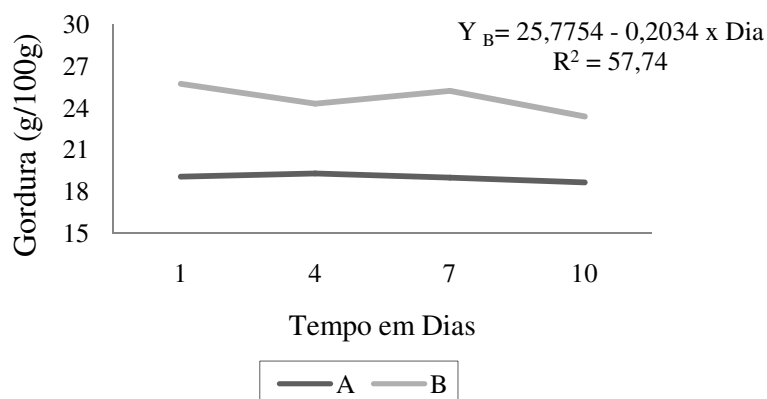


FIGURA 6 - Comportamento do parâmetro Gordura dos Queijos Minas Frescal A e B durante dez dias de armazenamento a 4°C.

As médias obtidas nas análises de gordura para o queijo A e B foram, respectivamente, de 19,01g/100g e de 24,66g/100g, diferindo significativamente entre si, com teor médio de GES de 54,82g/100g para o queijo A e de 54,05g/100g para o queijo B, não atendendo à Portaria N° 352 do MAPA, que classifica o Queijo Minas Frescal como semigordo, devendo apresentar 25,0 a 44,9g/100g de GES (BRASIL, 1997).

O Queijo Minas Frescal A apresentou comportamento constante para o ensaio de gordura durante os dez dias de armazenamento, não evidenciando diferença significativa no *shelf life*. Já para o queijo B, foi observado comportamento decrescente do teor de gordura durante os 10 dias de armazenamento, obtendo modelo linear de polinômio de primeiro grau como o melhor ajuste, apresentando redução média de 0,2g/100g de gordura por dia de armazenamento, o que indica uma possível degradação de moléculas de gordura por bactérias lipolíticas.

A diferença existente entre os teores de gordura para os queijos A e B não está relacionada ao teor de gordura da matéria-prima, pois não apresenta diferença significativa no presente estudo, com médias de 3,69g/100g para o leite utilizado no processo de produção do queijo A e 3,54g/100g no B (Tabela 1). Este fato deve ser explicado pela possibilidade de melhor retenção dos componentes do leite no processo de fabricação do queijo B. A redução significativa do teor de gordura observada no queijo A pode estar relacionada à sua acentuada sinérese, o que influencia na perda de gordura junto com o soro.

Resultados encontrados por Oliveira et al. (2014), trabalhando com Queijo Minas Frescal Tradicional, foram inferiores aos do presente estudo, com duas amostras atendendo ao preconizado pela legislação para queijo semigordo, com valores de 32,02 e 40,86% GES, e outra como magro, com 24,30% de GES. Estas diferenças provavelmente estão relacionadas à falta de padronização do teor de gordura da matéria-prima utilizada no processamento dos queijos, revertendo parte da gordura do leite para o processamento de outros derivados lácteos.

As proteínas do leite, em especial a caseína, são importantes no processo de produção do leite, visto que, pela ação de enzimas coagulantes como a quimosina, as moléculas de caseína são rompidas entre os aminoácidos 105 e 106 e, na presença de íons de cálcio, ela são unidas, dando origem ao coágulo. As análises de determinação de proteínas apresentaram média de 12,45% para o queijo A e de 18,65% para o B, indicando diferença significativa entre si ($p < 0,05$). Isto ocorre pela distinção dos processos tecnológicos, como a adição de cloreto de cálcio no leite do processo de fabricação do queijo B, o que contribui com uma maior interação entre as moléculas de caseína e melhor expulsão do soro, também reforçada pela etapa de prensagem da massa.

As proteínas dos queijos são degradadas por ações enzimáticas durante o período de estocagem, já no presente estudo estas reações não influenciaram significativamente o teor de proteínas ao final dos dias de análise, com comportamento linear ao longo dos dez dias de armazenamento para os Queijos Minas Frescal A e B (Figura 7). A degradação das proteínas dos queijos faz parte da gama de modificações bioquímicas dos queijos e influencia nas características sensoriais de sabor, aroma e textura, mas para isto o queijo deve ser submetido ao processo de maturação sob condições apropriadas, o que é pouco notado em queijos frescos de curto período de armazenamento.

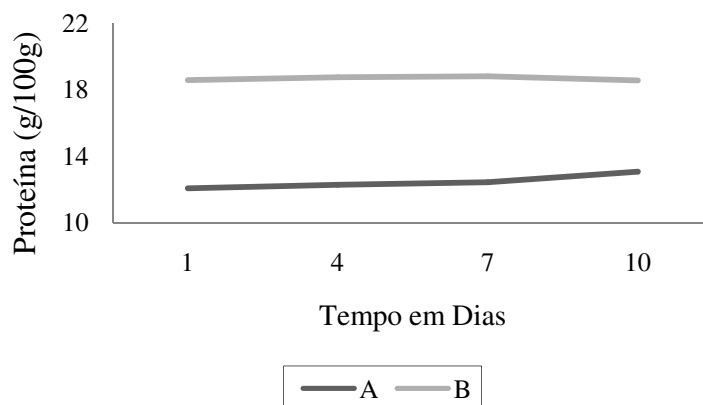


FIGURA 7 - Comportamento do parâmetro Proteína dos Queijos Minas Frescal A e B durante dez dias de armazenamento a 4°C.

Sangaletti et al. (2009) avaliaram Queijo Minas de seis marcas distintas durante trinta dias de armazenamento e encontraram valores para proteínas mais elevados, variando entre 21,29 e 22,10%, não tendo apresentado diferença significativa entre o primeiro e o trigésimo dia de armazenamento, indicando que a ação proteolítica dos queijos não alterou significativamente os teores de proteínas.

As reações de quebra das molécula de proteína são conhecidas como Proteólise Primária e Proteólise Secundária, ou ainda, por Índice de Extensão da Proteólise (IEP) e Índice de Profundidade da Proteólise (IPP). Os IEP é resultado da relação entre o nitrogênio solúvel a pH 4,6 e o nitrogênio total. E são resultados obtidos através do coalho ou coagulante residual sobre a α_{s1} -caseína e, em menor escala, sobre a β -caseína dos queijos, dando origem a peptídeos de alto e médio peso molecular. A Figura 8 mostra o comportamento dos queijos A e B e as médias obtidas para IEP.

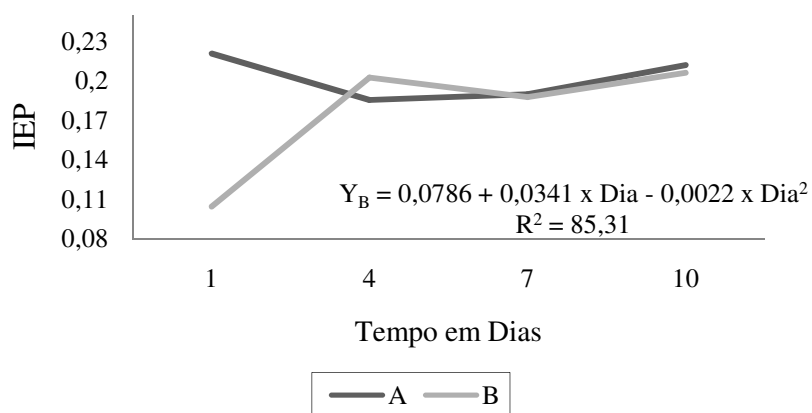


FIGURA 8 - Comportamento do Índice de Extensão da Proteólise nos Queijos Minas Frescal A e B durante dez dias de armazenamento a 4°C.

As médias obtidas dos índices de extensão da proteólise dos queijos A (0,20g/100g) e B (0,18g/100g) não diferiram significativamente entre si ($p > 0,05$), indicando que a proporção de coalho adicionado era a mesma para os dois tratamentos. O queijo A apresentou comportamento constante ao longo dos dez dias de armazenamento e o queijo B, um ajuste em função quadrática ($R^2 = 85,31$), com interação significativa entre os queijos A e B ($p = 0,02$), o que mostra diferença de comportamento longo dos dez dias de armazenamento entre os tratamentos pela maior variação da atividade proteolítica sobre o queijo B.

A atividade proteolítica secundária é a relação entre o nitrogênio não proteico e o nitrogênio total. Devido a ações das enzimas aminopeptidases, carboxipeptidases, dipeptidases oriundas das bactérias presente no queijo, a profundidade da proteólise produz compostos característicos como aminoácidos, oligo-peptídeos e aminas (FOX, 1989; SABOYA et al., 1998).

Os resultados obtidos neste estudo para o IPP foram nulos, indicando que não houve quebra significativa das moléculas de proteínas por ação de enzimas bacterianas durante os dez dias de armazenamento. Resultados diferentes foram obtidos por Sobralet al. (2015), que observaram evolução do IPP de 5,09% a 11,91% nos queijos artesanais produzidos no interior de Minas Gerais durante 30 dias de armazenamento. Silva et al. (2011) verificaram índices de profundidade em queijo minas artesanal da região da Canastra com variações entre 8,27 a 10,67%. A existência da ação de profundidade pode estar relacionada à adição de culturas lácticas no processo de produção dos queijos com objetivo de alterações sensoriais desejáveis, que não foi o caso dos queijos analisados no presente trabalho.

2.2 Sinérese

Os queijos avaliados apresentaram comportamento crescente para o ensaio de sinérese, com ajuste de polinômio de regressão de primeiro grau e diferença significativa entre si ($p < 0,05$) (Figura 9).

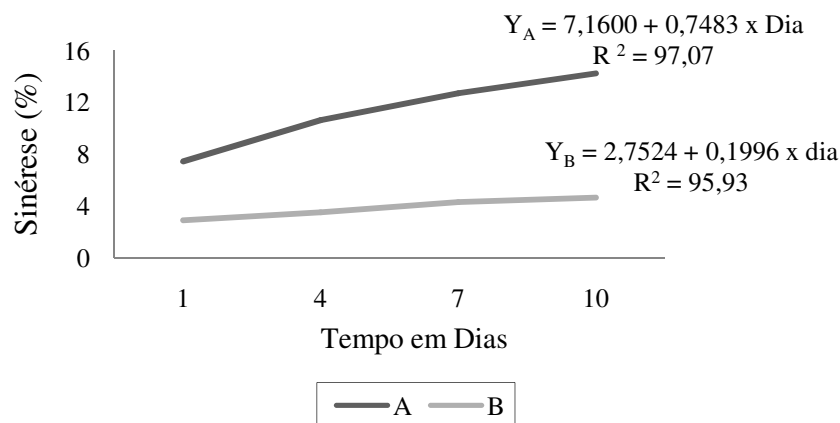


FIGURA 9 - Comportamento da Sinérese dos Queijos Minas Frescal A e B durante dez dias de armazenamento a 4°C.

O queijo A mostrou maior tendência à liberação de soro que o queijo B, com aumento médio de 0,75% de perda de soro por dia, chegando a 14,26% no décimo dia de armazenamento. Já para o queijo B, a média de perda diária foi de 0,2%, chegando a 4,65% no último dia de armazenamento. A elevada sinérese observada no queijo A durante os dez dias de armazenamento pode ser atribuída principalmente à ausência da prensagem do queijo, permitindo que a expulsão do soro continue acontecendo durante o armazenamento.

A liberação de soro por queijos durante o *shelf life* pode estar vinculada ao aumento da concentração de íons de H^+ durante os dias de armazenamento, fator que influencia na redução das forças entre as micelas de caseína, intensificando, ainda mais, a expulsão do soro (LAW; TAMIME, 2010).

Outro fator que pode ter influenciado a diferença nos valores de sinérese são as embalagens utilizadas para acondicionar os queijos. O queijo A foi embalado em bandejas de polietileno extrusado, envolvido em filme de plástico, e o queijo B foi embalado em saco de polietileno e selado a vácuo, o que dificulta a liberação de soro no armazenamento do produto. Sant'Ana et al. (2013) também observaram resultados crescentes para sinérese nos queijos Minas Frescal obtidos de leite de vaca, cabra e mistura de ambos, ressaltando ainda a influência na redução da textura do produto durante o *shelf life*.

2.3 Rendimento

O processo de produção do queijo A apresentou maior rendimento que o queijo B, indicando que, para a produção de um quilo de queijo do laticínio A, foram gastos, em média, 5,35L de leite, e para o queijo do laticínio B, 8,37L de leite.

Esta diferença encontrada para o rendimento dos queijos A e B pode ser devida à alta retenção de umidade no queijo A, que é associada à ausência da etapa de prensagem. O melhor rendimento do Queijo Minas Frescal A também pode ter sido influenciado pela qualidade da matéria-prima e pelos elevados valores de CBT, que proporcionam degradação das proteínas e gordura do leite, o que pode ter contribuído para o menor rendimento do queijo B, que apresentou média de contagem de unidade formadora de colônias por mL no leite cru refrigerado superior à média do queijo A.

O processo de pasteurização do leite também influencia no rendimento de queijos. Silveira e Abreu (2003) observaram maior rendimento na obtenção de queijo prato com leite pasteurizado pelo método de Injeção Direta de Vapor (IDV), ressaltando ainda que houve maior aproveitamento dos constituintes do leite pela redução do tamanho dos glóbulos de gordura e desnaturação das soroproteínas, facilitando a retenção destes compostos no coágulo.

2.4 Análises Microbiológicas

A Resolução nº 12 de 2001 da ANVISA define que os Queijos Minas Frescal produzidos por coagulação enzimática, sem ação de bactérias lácticas, devem apresentar ausência de *Salmonella* sp. em 25g, entretanto, os resultados obtidos estão em desacordo, indicando sua presença em todas as coletas feitas no Queijo Minas Frescal A e nas coletas 1, 3, e 4 do Queijo Minas Frescal B.

A *Salmonella* sp. é uma bactéria que causa graves riscos à saúde. Seus sintomas aparecem de 12 a 72 horas após a ingestão do alimento contaminado e, dependendo da quantidade ingerida, causa diarreia, dor abdominal, febre, dor de cabeça, mal-estar, desidratação e calafrios, podendo ser fatal para crianças, idosos, portadores de HIV, pacientes com câncer e diabetes, em decorrência da elevada perda de líquidos (PIGNATELLI et al., 2014).

Trabalhos conduzidos por Wolupeck et al. (2012) avaliaram a evolução microbiológica do Queijo Minas Frescal comercializado em Curitiba e observaram

ausência de *Salmonella* sp nas amostras analisadas no ano de 1999 e presença nas analisadas em 2009, indicando que os programas de garantia de qualidade e boas práticas de fabricação não evoluíram junto com os processos tecnológicos.

A presença de *Salmonella* sp nos queijos sugere ineficiência dos processos de pasteurização do leite, ou ainda, falta de controle higiênico-sanitário no processo de elaboração dos queijos. O laticínio produtor do queijo A está localizado em uma fazenda no município de Rio Verde – GO e, por haver criações de animais próximo às instalações, pode ter ocorrido uma contaminação via aérea desta bactéria para os produtos. Já o laticínio produtor do queijo B é uma pequena indústria afastada de animais domésticos, entretanto são evidenciadas falhas na implementação do programa de Boas Práticas de Fabricação (BPF) pela utilização de adornos pelos colaboradores da fábrica.

Os resultados para as análises de *Staphylococcus aureus* foram negativos para os Queijos Minas Frescal A e B em todas as coletas, indicando estar em acordo com a resolução vigente, que estipula o máximo de $5,0 \times 10^2$ UFC/g para os Queijos Minas Frescal produzidos por coagulação enzimática, sem ação de bactérias lácticas.

O *Staphylococcus aureus* é um patógeno presente no trato digestivo humano, inclusive, na saliva e mucosa nasal. Dependendo da quantidade de alimento ingerido e das toxinas, os sintomas podem ser cólicas, sudoreses, vômitos e, nos casos mais graves, dores de cabeça, dores musculares e alteração na pressão arterial (MELO et al., 2009).

Senger e Bizani (2011) obtiveram contagem de *Staphylococcus aureus* acima dos valores permitidos pela legislação em 40% das amostras de Queijo Minas Frescal obtidas de processo artesanal e 23,3% de processo industrial, evidenciando possíveis falhas no tratamento térmico do leite e/ou no processamento do produto.

Rossi et al. (2012) também não detectaram presença de *S. aureus* nas amostras de Queijo Minas Frescal, porém, Martins e Reis (2012) obtiveram 45% das amostras impróprias para consumo, com contagens acima de 5×10^2 UFC/g.

A bactéria *Staphylococcus coagulase positiva* por estar presente, principalmente, na saliva e mucosa nasal, ser transferida para alimentos pela não utilização de máscaras durante a elaboração dos queijos, prática adotada pelos manipuladores dos Queijos Minas Frescal dos laticínios A e B.

Os resultados obtidos para as análises de NMP para Coliformes Totais foram maiores que 24×10^2 NMP/g em todos os tratamentos, coletas e dias de análise,

indicando também possíveis falhas no processo de fabricação do Queijo Minas Frescal e na pasteurização do leite.

Para as análises de NMP de Coliformes Termotolerantes, todos os tratamentos avaliados apresentaram resultados acima de 24×10^2 NMP/g em todas as coletas dos Queijos Minas Frescal produzidos de forma Artesanal e Industrializada, estando fora dos padrões preconizados pela resolução nº12 da ANVISA, que determina valor máximo de $5,0 \times 10^2$ UFC/g.

Os coliformes englobam um grupo de bactérias encontradas no intestino de animais de sangue quente e, quando presentes nos alimentos, indicam contaminação fecal. A contaminação elevada dos queijos por este tipo de bactéria sugere, mais uma vez, falhas na aplicação de BPF e dos controles antipragas dos laticínios, podendo ser observada presença de moscas nos ambientes.

O Queijo Minas Frescal A apresentou redução acentuada do número de Coliformes Termotolerantes durante os dez dias de armazenamento, enquanto para o queijo B, este número permaneceu constante. A redução da população de Coliformes Termotolerantes no Queijo A durante os dez dias de análise, Figura 10, pode ter ocorrido por fenômenos comuns no processo de maturação. Estes fenômenos estão relacionados com a acidificação do meio durante o *shelf life* dos queijos ou ainda com a redução de nutrientes.

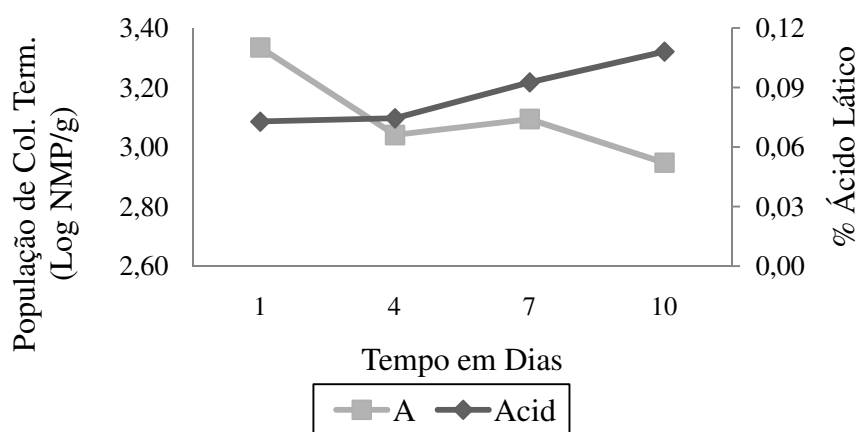


FIGURA 10 - Correlação linear entre aumento de ácido láctico e redução da população de Coliformes Termotolerantes do queijo A durante dez dias de armazenamento a 4°C.

Melo et al. (2013) também observaram diminuição da população de Coliformes com o aumento da acidez do queijo Artesanal Serrano durante 30 dias de maturação, indicando possível influência do pH no desenvolvimento microbiano.

3. Análise da Água Utilizada nos Laticínios

Os resultados encontrados para Coliformes Totais e Termotolerantes na água dos laticínios A e B foram inferiores a 3 UFC/g, considerada potável, conforme Portaria nº 2914 da ANVISA de 2011.

A água é um item essencial para limpeza e higienização dos utensílios utilizados nos laticínios, exercendo papel importante no resultado final da qualidade e segurança dos produtos lácteos (RANGEL et al., 2015; KAMIYAMA; OTENIO, 2013).

Moura et al. (2012) fizeram um acompanhamento da água de abastecimento público utilizada em dois laticínios e concluíram que a água da estação de tratamento era de boa qualidade e que a elevada presença de Coliformes Totais e Termotolerantes encontrada na água dos laticínios era devida a uma possível contaminação dentro das indústrias.

Os resultados das análises da água utilizada nos laticínios evidenciam que ela não é o elemento que influencia negativamente na qualidade dos queijos e que há problemas de controle higiênico-sanitário na manipulação dos queijos e/ou falhas na pasteurização do leite.

CONCLUSÃO

Os Queijos Minas Frescal Artesanal e Industrial apresentam características físico-químicas diferentes durante o *shel flife* e não atendem à legislação brasileira quanto ao teor de gordura, sendo classificados como de muita alta umidade e alta umidade, respectivamente.

Os Certificados de Inspeção Municipal e Estadual não garantem a qualidade microbiológica dos produtos, indicando deficiência da ferramenta Boas Práticas de Fabricação e/ou pasteurização do leite, com queijos impróprios para o consumo.

A matéria-prima utilizada para produção dos queijos não é adequada pela elevada CCS no leite utilizado para fabricação do Queijo Minas Frescal Artesanal e Industrializado, e pela elevada CBT no leite utilizado para produção do Queijo Minas Frescal Industrializado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AICHINGER, P.; MICHEL, M.; SERVAIS, C.; DILLMANN, M.; ROUVET, M.; D'AMICO, N; ZINK,R.; KLOSTERMEYER, H.; HORNE, D.S. Fermentation of a skim milk concentrate with *Streptococcus thermophilus* and chimosin: structure, viscoelasticity and syneresis of gels. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2003.v.31, p.243-255.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Portaria nº 352, de 04 de setembro de 1997. Regulamento Técnico Para Fixação de Identidade e Qualidade do Queijo Minas Frescal. **Diário Oficial da União**. Brasília, 1997.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Agência Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos. Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos.**Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, 2001.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da União**. Brasília, 2003.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa Nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos.**Diário Oficial da União**. Brasília, 2006.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Agência Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos. Portaria nº 2914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, 2011, Seção 1, p.39-46.

BYNUM, D. G.; BARBANO, D. M. Whole Milk Reverse Osmosis Retentates for Cheddar Cheese Manufacture: Cheese Composition and Yield. **Journal of Dairy Science**.1985. v. 67, n. 12, p 2839-2849.

COSTA, M. P.; SILVA, H. L. A.; BALTHAZAR, C. F.; FRANCO, R. M. CORTEZ, M. A. S. Economic performance and sensory analysis of probiotic “Minas Frescal” Cheese produced using bovine and caprine milk. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, 2013. v.9, n.17; p. 206.

DAS DORES, M. T.; FERREIRA, C. L. L. F. Queijo minas artesanal, tradição centenária: ameaças e desafios. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)**.Rio Paranaíba - MG, Dezembro 2012.v.2, n.2., p.26-34.

DE PAULA, J. S.; FILHO J. F. F. Evolução recente da agroindústria rural artesanal em Minas Gerais. **Revista Horizonte Científico**. Uberlândia - MG, 2011.v. 9, s 2.

FAVA, L. W.; HERNANDES, J. F. M.; PINTO, A. T.; SCHMIDT, V. Características de queijos artesanais tipo colonial comercializados em uma feira agropecuária. **Acta Scientia Veterinaria**. Porto Alegre - RS, 2012.v. 40, p 1084.

FILHO, R. R. L. Aumenta o consumo de queijo no Brasil. **SCOT Consultoria**. Bebedouro - SP, 21 de Setembro de 2010. Disponível em <<https://www.scotconsultoria.com.br/leite/mercado-leite/161/aumenta-o-consumo-de-queijo-no-brasil.htm>> Acesso em: 20/07/2015.

FOX, P. M. Proteolysis during Cheese Manufacture and Ripening. **Journal of Dairy Science**.Ireland, 1989.v 72, p 137 - 1400.

FRITZEN-FREIRE,C. B.;MULLER, C. M. O.; LAURINDO, J. B.; AMBONI, R. D. M.; PRUDÊNCIO, E. S. The effect of direct acidification on the microbiological, physicochemical and sensory properties of probiotic Minas Fresh cheese.**International Journal of Dairy Technology**. 2010.

KAMIYAMA, C. M.; OTENIO, M. H. Aspectos sobre qualidade da água e qualidade de produtos na indústria de laticínios. Rev. **Inst. Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora - MG, 2013. v. 68, n. 391, p. 42-50.

LAW, B. A.; TAMIME, A. Y. Technology of Cheesemaking - Second Edition.**Wiley Blackwell - SDT**.West Sussex, United Kingdom, 2010.

LOMBARDI, E. C.; REZENDE, M. T. N. P. Qualidade microbiológica do leite e do queijo minas frescal processados em duas fábricas de laticínios sob Inspeção Municipal em Uberlândia - MG. **Veterinária Notícias**.Uberlândia - MG, 2014. v.20, n. 2, p.71-78.

MARTINS. E. S.; REIS, N. E. V. Determinação de Coliformes e *Staphylococcus Coagulase Positiva* em queijos minas frescal. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. Ponta Grossa - PR, 2012. v.06, n. 02.p. 842 - 851.

MELO, A.C.M.; ALVES, L.M.C.; COSTA, F.N. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo tipo minas padrão comercializado na cidade de São Luis, MA. **Arquivo Instituto Biológico**. São Paulo - SP, Outubro - Dezembro, 2009. v.76, n.4, p.547-551.

MELO, F. D.; DALMINA, K. A.; PEREIRA, M. N.; RAMELLA, M. V.; NETO, A. T. Vaz, e. h.; Sandra Maria Ferraz. Avaliação da inocuidade e qualidade microbiológica do queijo artesanal serrano e sua relação com as variáveis físico-químicas e o período de maturação. **Acta Scientiae Veterinariae**. 2013. v.41, p. 1152.

MESQUITA, A. J.; A. J.; DURR, J. W.; COELHO, K. O. - A qualidade do leite na região Centro-Oeste. **Perspectivas e avanços da Qualidade do Leite no Brasil**. Goiânia - GO, 2006.v. 1, p. 9-21.

NEVES, R.B. S. Influência do Grupo de Microrganismos – Mesófilos, Psicrotróficos – Na Linearização dos Resultados do Equipamento Bactoscan FC®. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) **Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Goiás**.Goiânia - GO, 2008.

OLIVEIRA, D. F.; PORTO, M. A. C.; BRAVO, C. E. C.; TONIAL, I. B. Caracterização físico-química de queijos minas artesanal produzidos em diferentes microrregiões de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Economia Doméstica**. Viçosa - MG, 2013. v. 24, n.2, p. 185-196.

OLIVEIRA, L. V.; SILVA1, C. O.; PASCOAL, G. B. Comparação entre a composição nutricional dos rótulos e as análises laboratoriais de queijos minas frescal (tradicional e *light*). **Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes**. Juiz de Fora - MG, Julho - Agosto, 2014. v. 69, n. 4, p. 280-288.

PIGNATELLI, D.; LEAL, E.; LITO, D.; DÂMASO, C.; RODRIGUES, M.; CUNHA, F. Gastroenterite aguda por Salmonella não tifoide em crianças: revisão de 10 anos. **Acta Pediatra**. Lisboa, Portugal, 2014.v. 45, p. 204-209.

R. Development Core Team., R: A language and environment for statistical computing. [2.12.1]. 2010. Vienna, Austria, R Foundation for Statistical Computing.

RANGEL, A. H. N.; FREIRE1, R. M. B.; BORBA, L. H. F.; JÚNIOR, D. M. L.; NOVAES, L. P. Qualidade microbiológica da água utilizada em propriedades leiteiras. **Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes**. Juiz de Fora - MG, 2015. v. 70, n. 1, p. 09-16.

RICARDO, N. R.; KATSUDA, M. S.; MAIA, L. F.; ABRANTES, L. F.; OSHIRO, L. M. Análise físico-química de queijos minas frescal artesanais e industrializados comercializados em Londrina-PR. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**. Campo Mourão - PR, 2011. v.2, n.2, p.89-95.

ROSSI, E. M.; ZILLI, D.; SCAPIN, D.; ROZA-GOMES, M. F.; GELINSKI, J. M. L. N. Avaliação da qualidade microbiológica de queijos Minas Frescal comercializados em supermercados da região Extremo-Oeste de Santa Catarina, Brasil. **Evidência, Joaçaba**. 2012. v. 10 n. 1-2, p. 105-114,

SABOYA, L. V.; OLIVEIRA, A. J.; FURTADO, M. M.; SPADOTI, L. M. Efeitos físico-químicos da adição de leite reconstituído na fabricação de queijo Minas frescal. **Ciências Tecnologia Alimentos**. Campinas - SP, 1998. v. 18, n. 4, p. 101.

SANGALETTI, N.; PORTO, E.; BRAZACA, S. G. C.; YAGASAKI, C. A.; DALLA DEA, R. C.; SILVA, M. V. Estudo da vida útil de queijo Minas. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas - SP, 2009. v. 29, p. 262-269.

SANT'ANA, A. M. S.; BEZERRIL, F. F.; MADRUGA, M. S.; BATISTA, A. S. M.; MAGNANI, M.; SOUZA, E. L.; QUEIROGA, R. C. R. E. Nutritional and sensory characteristics of Minas fresh cheese made with goat milk, cow milk, or a mixture of both. **Journal of Dairy Science**. 2013. v. 96, p. 7442-7453.

SEBRAE. Queijos nacionais. Estudos de mercado SEBRAE/ESPM. **Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas**. 2008. Disponível em <[http://201.2.114.147/bds/bds.nsf/4416AA3881FA433B832574DC00471EF1/\\$File/NT0003909A.pdf](http://201.2.114.147/bds/bds.nsf/4416AA3881FA433B832574DC00471EF1/$File/NT0003909A.pdf)> Acesso em 05/08/2015.

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

SILVA, J. G.; ABREU, L. R.; MAGALHÃES, F. A. R.; PICCOLI, R. H.; FERREIRA, E. B. Características físico-químicas do queijo Minas artesanal da Canastra. **Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes**. 2011. v. 66, n. 380, p. 16-22.

SILVEIRA, P. R.; ABREU, L. R. Rendimento e composição físico-química do queijo prato elaborado com leite pasteurizado pelo sistema HTST e injeção direta de vapor. **Revista de Ciências Agrotecnologia**. Lavras - MG, 2003. v. 27, n.6, p.1340-1347.

SOBRAL, D.; PINTO, M. S.; TEODORO, V. A. M.; CARVALHO, A. F.; COSTA, R. G. B.; MIGUEL, E. M. Comparação dos índices de proteólise de queijos artesanais das REGIÕES DO Cerrado e Araxá. **Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. Juiz de Fora - MG, 2015. v. 30, p. 43.

SOUZA, V. M.; CALDEIRA, L. A.; JÚNIOR, V. R. R.; ANTUNES, A. P. S.; RUAS, J. R. M.; SANTANA, P. F.; COSTA, N. M.; BORGES, L. D. A. Efeito de níveis crescentes de ureia na alimentação de vacas sobre o rendimento, composição, perfil de ácidos graxos e sensorial do queijo Minas frescal*. **Revista Brasileira de Ciências Veterinária**. Niterói - RJ, 2015. v. 22, n. 2, p. 107-113.

VIEIRA, M.; CASTRO, M. Mercado Nacional de Lácteos. **ABIQ - Associação Brasileira das Indústrias de Queijo**. São Paulo - SP, Junho 2015. Disponível em: <http://www.abiq.com.br/noticias_ler.asp?codigo=1646&codigo_categoria=6&codigo_subcategoria=6> Acesso em 06/08/2015.

WOLUPECK, H. L.; RAKSA, H. C.; ROSSA, L. S.; BIASI, R.; MACEDO, R. E. F. Evolução da qualidade microbiológica de queijo Minas frescal comercializado em

Curitiba (PR) no intervalo de 10 anos (1999 e 2009). **Revista Acadêmica Ciências Agrárias Ambiente**. Curitiba - PR, 2012. v. 10, n. 3, p. 243-252.