

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Estudo da vida útil do queijo Minas frescal disponível no mercado

Naiane Sangaletti

Dissertação apresentada, para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração: Ciência e
Tecnologia dos Alimentos

Piracicaba

2007

Naiane Sangaletti
Tecnóloga em Química Industrial

Estudo da vida útil do queijo Minas frescal disponível no mercado

Orientador: Prof. Dr. **Ernani Porto**

Dissertação apresentada, para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração: Ciência e
Tecnologia dos Alimentos

Piracicaba

2007

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Sangaletti, Naiane

Estudo da vida útil do queijo Minas frescal disponível no mercado / Naiane Sangaletti. - -
Piracicaba, 2007.
80 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2007.
Bibliografia.

1. Análise sensorial de alimentos 2. Armazenagem de alimentos 3. Microbiologia de
alimentos 4. Queijo 5. Vida-de-prateleira I. Título

CDD 637.353

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

**À minha mãe
Marlides Terezinha Sangaletti
a quem amarei eternamente,**

**A minha irmã Cassiane Sangaletti pelo
apoio e amor**

Dedico e Ofereço

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof Dr. Ernani Porto pela orientação, ensinamento e confiança.

A Prof. Dra. Solange Guidolin Canniatti Brazaca pelo empréstimo do laboratório e orientação principalmente nas análises sensoriais.

A Prof. Dra. Thais Lacerda pela disponibilidade e colaboração para a melhoria deste trabalho.

A Denise, por ser a melhor técnica de laboratório em competência, bondade e amizade. Muito obrigada!

As minhas estagiárias mais amadas Cintia (Bomba), Mariana (Roxinha) e Rebeca (Panqueca) pela ajuda, dedicação, companheirismo e amizade. A Juliana (Marmota) pela ajuda e dedicação no decorrer das análises de laboratório.

A Débora pela paciência e auxílio nas análises realizadas do Laboratório de Análise Sensorial do Setor de Nutrição Humana e Alimentos.

Ao Prof. Dr. Severino Matias de Alencar pelo empréstimo do Laboratório, contribuição nas dúvidas no decorrer das análises e pela amizade.

A Prof. Dra. Marisa Aparecida Bismara Regitano d'Arce pelos ensinamentos e convivência.

Aos funcionários do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição Cleomar, Cecília, Rose, Regina Marafon, Márcia, Gislaine, Bibliotecária Bia, Sidnei, Fábio, Silvana, Ivani, Fernanda que de alguma forma colaboraram com a realização deste trabalho.

Ao Júlio pelo auxílio nas análises estatísticas e pela amizade.

A Marizilda pela ajuda na elaboração do abstract e pelos momentos de diversão.

A meu pai Amilton e meus irmãos Fernando e Cassiane (Negri) pelo apoio, compreensão e amor. A minha família Tia Mel, Tio Rudi, Tia Ivete, Tia Tânia, Tio João Pedro, Milena, João Pedrinho, Silmara que mesmo longe sempre me proporcionaram muito amor e carinho. A Cica, Ivair, Charles, Célio, Silvana, Rose por me apoiar em minha escolha e serem muito importantes em minha vida.

A Tati (Cuma) por quem tenho muito amor e admiração que me acompanha em todas as etapas de minha vida nas alegrias e tristezas. Obrigada pelo apoio e por estar sempre ao meu lado! E a Gabi por me fazer tão feliz quando estou desanimada.

A minha amiga irmã Ana Paula (Fli) a quem tenho carinho, amor e admiração e esteve a meu lado ouvindo minhas lamentações e me aconselhando durante o mestrado.

Aos meus amigos por quem tenho muito carinho, Diogo Henrique, Élio, Eric, Adilson, Cleverson (Cumo), Xoio, Álvaro, Danilo, Henrique, Cinthia, Carla, Quinha, Selma, Leandro a quem me ajudaram com sua amizade e participação de algumas análises. Em especial ao Anderson (Tchu) que participou sem esforço em todas as análises sensoriais além de ser meu amigo do coração.

As amigas da República Písgui, Flipper, Esmerê, Kerli e Robert pelas longas conversas, conselhos e diversão.

As colegas e amigas de laboratório Aline, Bruna, Vanessa, Lígia, Jú e em especial a Carol pelo convívio, desabafos, descontrações e troca de experiências.

Aos colegas e amigos de mestrado Camila (Brioxe), Pricila (Mimela), Matheus (Ímola), Karen e Rodrigo (Xuxu) pelo convívio, troca de experiência e amizade.

Agradeço ao Instituto de Pesquisa Data/Eco por me dar oportunidade em trabalhar e especialmente ao Fernando Iacovantuoni por confiar em meu trabalho, a Raquel por me dar força para não desistir, aos amigos que adquiri Waltinho, João Vitor, Michele, Odair, Juliano e principalmente a Renata (Renatão) que acompanhou e ouviu muitos lamentos e alegrias no decorrer de minha dissertação.

Agradeço a CAVE, por me conceder moradia durante um ano do mestrado.

A todos os amigos e familiares que deixei para trás em busca de um sonho e que mesmo de longe me apoiaram e me deram muito carinho.

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT	9
LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE TABELA.....	12
1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVO.....	16
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
3.1 O queijo.....	17
3.2 O queijo Minas frescal.....	17
3.3 Microbiologia	21
3.3.1 Bactérias mesófilas	22
3.3.2 Coliformes totais e fecais	22
3.3.3 Estafilococos	24
3.3.4 <i>Salmonella</i> sp.....	25
3.3.5 Bactérias lácticas	25
3.3.6 Bactérias psicrófilas	26
3.3.7 Microrganismos proteolíticos.....	27
3.3.8 Microrganismos lipolíticos	28
3.4 Físico-química e químicas.....	29
3.4.1 pH e acidez	29
3.4.2 Proteína e proteólise	29
3.4.3 Lipídios e lipólise	30
3.5 Análise sensorial	32
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	33
4.1 Seleção e tratamento do queijo.....	33
4.2 Análises microbiológicas	34
4.2.1 Preparo das amostras	35
4.2.2 <i>Escherichia coli</i>	35

4.2.3 Estafilococos coagulase positiva.....	35
4.2.4 <i>Salmonella</i> sp.....	36
4.2.5 Bactérias lácticas	37
4.2.6 Bactérias mesófilas	37
4.2.7 Bactérias psicrotróficas totais.....	38
4.2.8 Bactérias psicrotróficas proteolítica.....	38
4.2.9 Bactérias psicrotróficas lipolíticas.....	38
4.3 Análises físico-químicas e químicas.....	38
4.3.1 Acidez titulável e pH.....	39
4.3.2 Teor de gordura.....	39
4.3.3 Extensão da lipólise	39
4.3.4 Proteína.....	40
4.3.5 Proteólise	40
4.3.5.1 Teor de nitrogênio total (NT)	40
4.3.5.2 Teor de nitrogênio solúvel a pH 4,6.....	41
4.3.5.3 Teor de nitrogênio solúvel em ácido tricloroacético (TCA) 12%.....	41
4.3.5.4 Índice de extensão e Índice de profundidade	42
4.4 Análise Sensorial.....	42
4.5 Análises estatísticas	44
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	45
5.1 Seleção do queijo Minas frescal.....	45
5.2 Análises microbiológicas	46
5.3 Análises físico-químicas e químicas.....	54
5.4 Análise sensorial	64
6 CONCLUSÕES	70
REFERÊNCIAS.....	71

RESUMO

Estudo da vida útil do queijo Minas frescal disponível no mercado

O queijo Minas frescal é um produto muito perecível e de curta duração. É necessário boas práticas de higienização durante sua produção e condições de armazenamento adequado para evitar a contaminação de microrganismos patogênicos e deteriorantes. Este trabalho teve por objetivo avaliar a vida útil do queijo Minas frescal durante o período de 30 dias armazenado a 4°C, através de análises sensoriais, microbiológicas e físico-químicas. Foram selecionadas seis marcas de queijo Minas frescal com registro no Serviço de Inspeção Federal (SIF), comercializados em supermercados de Piracicaba/SP até ser encontrado um produto dentro dos padrões da legislação vigente (BRASIL, 2001). O queijo selecionado foi adquirido direto do próprio laticínio. As análises foram realizadas nos períodos de 1, 10, 20 e 30 dias após a fabricação do produto em três diferentes lotes denominados A, B e C. A contagem da população de microrganismos psicotróficos totais, psicotróficos proteolíticos, psicotróficos lipolíticos, bactérias lácticas assim como de bactérias mesófilas totais apresentaram constante aumento mostrando crescimento de 8,50; 8,04; 8,30; 6,05 e 7,7 log UFC/g, respectivamente. Apenas do 30º dia do lote C o produto apresentou-se impróprio para o consumo com $1,7 \times 10^4$ NMP/g de *Escherichia coli*. Observou-se a redução do pH de 6,66 a 5,85 (0,81) e o aumento do ácido láctico de 0,044 a 0,07% (0,026%). O teor de gordura do queijo foi de 21,3% não sendo observado a sua redução. A quantidade de ácidos graxos livres foram determinados pela lipólise a qual aumentou em 0,22 mg KOH/g de gordura juntamente com a evolução dos microrganismos lipolíticos. A proteína variou de 21,30% a 22,10% sem diferença estatística significativa. A análise sensorial realizada pelo teste de aceitação através da escala hedônica teve entre 6,5 a 7,5 como pontuação o que indica que os julgadores gostaram ligeiramente e gostaram moderadamente do produto respectivamente durante o período de 30 dias. Conclui-se que o desenvolvimento das bactérias mesófilas, psicotróficas totais, psicotróficas proteolíticas, psicotróficas lipolíticas e bactérias lácticas tem crescimento constante no queijo mesmo sob refrigeração levando este a se deteriorar com o passar do tempo. Da mesma forma o aumento significativo da acidez e de ácidos graxos livres. Apesar do aumento dos microrganismos e as alterações químicas o produto não teve mudanças sensoriais quanto aos atributos aparência, cor, odor, sabor e textura perante os dias de armazenamento. Uma vez que o queijo seja produzido sob ótimas condições higiênico sanitárias, ele é capaz de atingir o período de 30 dias de vida útil quando mantido a 4°C.

Palavras-chave: Vida útil, Microrganismos, Análises químicas, Queijo Minas frescal

ABSTRACT

Study of the shelf life Minas fresh cheese available in the market

The Minas fresh cheese is very perishable product and its a short shelf life. Good practical of hygienic condition is necessary during its production and adjusted storage to prevent the proliferation of pathogenic and damage microorganism. This work had the objective evaluating the shelf life of the Minas fresh cheese for 30 days stored at 4°C, through sensorial analyses, microbiological and physic-chemistries. Six marks of Minas fresh cheese commercialized in supermarkets in city Piracicaba/SP were selected, those are registered in Serviço de Inspeção Federal (SIF), but just one of them is inside of the standards of the current law (BRASIL, 2001). The select cheese was acquire direct of the Factory Dairy. The analyses were carried out in the periods of 1, 10, 20 and 30 days after the manufacturing of the product in the three different lots named A, B and C. The counting of the population of psychrotrophic microorganism total, psychrotrophic proteolytic, psychrotrophic lipolytic, lactic acid bacteria as well as of mesophilic bacteria pesent constant increase showing growth of 8,50, 8,04, 8,30, 6,05 and 7,7 log UFC/g, respectively. On the 30th day of the lot C the product showed improper for the consumption with $1,7 \times 10^4$ NMP/g de *Escherichia coli*. It was observed a reduction of pH of 6,66 the 5,85 (0,81) and the increase of the lactic acidity of 0,044 the 0,07% (0,026%). The content of the cheese fat was 21,3% therefore its reduction wasn't observed. The amount of free fatty acid was determined by lipolysis which increased in 0,22 mg KOH/g of fat together with the evolution of the lipolytics microorganisms. The protein varied from 21,30% to 22,10% without difference significant statistics. The sensorial analysis carried through by the test of acceptance out the hedonic scale had punctuation between 6,5 the 7,5 what it indicates that the judges liked slightly and moderately respectively during the period of 30 days. The conclusion is that the development of the mesophilic bacteria, total psychrotrophic microorganism total, psychrotrophic proteolytic, psychrotrophic lipolytic and lactic acid bacteria has constant growth in the cheese under refrigeration taking it this if to spoil with passing of the time. In the same way the significant increase of the acidity and free fatty acid. Despite of the increase of the microorganisms and the chemical alterations the product did not have sensorial changes how much to the attributes appearance, color, odor, flavor and in the presence the storage days. A time that the cheese is produced under excellent sanitary conditions hygienical, it is capable to reach the period of 30 days of shelf life when kept 4°C.

Keywords: Shelf life, Microorganisms, Chemical analyses, Minas fresh cheese

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Esquema de fabricação de queijo Minas frescal..... 19
- Figura 2 - Procedimento realizado com as cinco peças de queijo a cada dia de análise para cada lote..... 34
- Figura 3 - Ficha de avaliação sensorial apresentada aos provadores..... 43
- Figura 4 - Evolução da população de bactérias mesófilas no queijo Minas frescal durante o período de 30 dias..... 49
- Figura 5 - Evolução da população de bactérias lácticas no queijo Minas frescal durante o período de 30 dias..... 50
- Figura 6 - Evolução das bactérias psicotróficas totais no queijo Minas frescal durante o período de 30 dias..... 52
- Figura 7 - Evolução da população das bactérias psicotróficas lipolíticas no queijo Minas frescal durante o período de 30 dias..... 53
- Figura 8 - Evolução da população das bactérias psicotróficas proteolíticas no queijo Minas frescal durante o período de 30 dias..... 53
- Figura 9 - Correlação linear entre o aumento de ácido láctico e o crescimento das bactérias psicotróficas totais, mesófilas totais e as bactérias lácticas..... 56
- Figura 10 - Comparativo entre o aumento da lipólise e o crescimento das bactérias psicotróficas lipolíticas e as bactérias lácticas verificados a cada dez dia (1º, 10º, 20º e 30º dia) armazenado a 4°C..... 59

Figura 11 - Correlação linear do Índice de extensão da hidrólise verificado a cada dez dia (1º, 10º, 20º e 30º dia) armazenado a 4°C referente aos lotes A e C.... 63

LISTA DE TABELA

- Tabela 1 – Contagem de *Escherichia coli* em queijo Minas frescal comercializados em supermercado do Município de Piracicaba/SP..... 45
- Tabela 2 – Evolução da população dos microrganismos previstos pela RDC nº12 em queijo Minas frescal durante 30 dias de armazenamento a 4°C..... 46
- Tabela 3 – Evolução da população de bactérias mesófilas em queijo Minas frescal durante 30 dias de armazenamento a 4°C entre três lotes diferentes..... 48
- Tabela 4 – Evolução da população de bactérias lácticas em queijo Minas frescal durante 30 dias de armazenamento a 4°C entre três lotes diferentes..... 49
- Tabela 5 – Evolução da população de bactérias psicrófilas totais, lipolíticas e proteolíticas em queijo Minas frescal durante 30 dias de armazenamento a 4°C entre três lotes..... 51
- Tabela 6 – Perfil do pH em queijo Minas frescal durante 30 dias de armazenamento a 4°C entre três lotes diferentes..... 55
- Tabela 7 – Perfil da porcentagem de acidez expressa em ácido láctico em queijo Minas frescal durante 30 dias de armazenamento a 4°C entre três lotes diferentes..... 55
- Tabela 8 – Teor de gordura (%) na base úmida em queijo Minas frescal durante 30 dias de armazenamento a 4°C entre três lotes diferentes..... 57
- Tabela 9 – Perfil da lipólise em queijo Minas frescal durante 30 dias de armazenamento a 4°C entre três lotes diferentes..... 58

Tabela 10 – Perfil da porcentagem de proteína em queijo Minas frescal durante 30 dias de armazenamento a 4°C entre três lotes diferentes.....	60
Tabela 11 – Perfil da porcentagem de nitrogênio total, nitrogênio solúvel e nitrogênio não protéico em queijo Minas frescal durante 30 dias de armazenamento a 4°C entre três lotes diferentes.....	61
Tabela 12 – Perfil do índice de extensão da hidrólise em queijo Minas frescal durante 30 dias de armazenamento a 4°C entre três lotes diferentes.....	62
Tabela 13 – Distribuição dos atributos aparência, cor, odor, sabor e textura segundo a escala hedônia (CHAVES e SPROESSER, 1993) do queijo Minas frescal durante 30 dias de armazenamento a 4°C do lote A.....	65
Tabela 14 – Distribuição dos atributos aparência, cor, odor, sabor e textura segundo a escala hedônia (CHAVES e SPROESSER, 1993) do queijo Minas frescal durante 30 dias de armazenamento a 4°C do lote B.....	66
Tabela 15 – Distribuição dos atributos aparência, cor, odor, sabor e textura segundo a escala hedônia (CHAVES e SPROESSER, 1993) do queijo Minas frescal durante 30 dias de armazenamento a 4°C do lote C.....	67
Tabela 16 – Perfil da média dos atributos aparência, cor, odor, sabor e textura em queijo Minas frescal durante 30 dias de armazenamento a 4°C entre os lotes A, B e C.....	68

1 INTRODUÇÃO

O queijo Minas frescal é produzido a partir da coagulação do leite pela ação de coalho e ação de bactérias lácticas existentes ou adicionadas no leite. Trata-se de um produto largamente consumido, de fabricação simples, rápida comercialização e de menor custo comparado aos demais queijos. Caracteriza-se como produto altamente perecível com uma porcentagem de umidade acima de 55%, com nutrientes suficientes para o desenvolvimento de qualquer espécie microbiana.

O problema da contaminação do queijo Minas frescal em relação aos microrganismos patogênicos e deterioradores são relatados em muitos trabalhos publicados, e apontam vários pontos críticos na linha de produção do produto, destacando-se a matéria-prima, o tanque de coagulação e a salmoura. Dentre tantos microrganismos deteriorantes na indústria de alimentos os microrganismos psicrótrópicos têm destaque por alterar o produto sob refrigeração devido à produção das enzimas proteases e lipases. As proteases degradam as proteínas em peptídios e aminoácidos, aldeídos, álcoois, entre outros. As lipases atuam sobre os lipídios do queijo liberando ácidos graxos livres e ácidos graxos voláteis, ambos os produtos podem resultar em alterações organolépticas e texturais, alterando as características do produto causando deterioração.

O grupo dos coliformes constitui-se de bactérias originárias do ambiente ou do intestino, sua presença no queijo é classificada como falhas no processo produtivo relacionado à má higiene. As bactérias lácticas são bactérias desejáveis ao queijo para que atuem no processo de coagulação sendo que, tanto estas como os coliformes possuem enzimas proteolíticas e lipolíticas que alteram organolepticamente o queijo mesmo sob refrigeração.

As propriedades químicas como a proteólise, a lipólise e o pH são itens indispensáveis para avaliar quantitativamente esta deterioração. A análise sensorial é uma avaliação qualitativa envolvendo os aspectos sensoriais do produto. É voltada diretamente à aceitabilidade do consumidor. A relação entre as análises químicas, físicas, sensoriais e a contagem elevada de células microbianas avaliará a alteração química causada pelas enzimas.

Nas prateleiras de supermercados e de outros estabelecimentos os quais comercializam o queijo Minas frescal podem ser encontrados queijos que apresentam seus prazos de validade de 30 dias. Este tempo pode ou não determinar a sua real durabilidade. Desta forma, a verificação das alterações físicas, químicas, microbiológicas e organolépticas ocasionadas durante 30 dias servem para estimar a vida útil do produto garantindo a segurança do consumidor.

Neste sentido, foi realizado esse trabalho para avaliar a vida útil do queijo Minas frescal.

2 OBJETIVO

O objetivo do trabalho foi avaliar durante o período de 30 dias a vida útil do queijo Minas frescal, estocado a 4º C, através das seguintes análises:

Microbiológicas: evolução da população de bactérias *Escherichia coli*, bactérias lácticas, microrganismos mesófilos totais, psicrotróficos totais, proteolíticos e lipolíticos.

Alterações físico-químicas e químicas: através das análises de pH, da evolução do grau de proteólise, lipólise e acidez titulável.

Análise sensorial: avaliar a aceitabilidade do produto durante o período de 30 dias.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 O queijo

Queijo é o nome genérico para um grupo de alimentos fermentados à base de leite com grande diversidade de sabor, textura e formas (FOX et al., 2000). É um concentrado lácteo constituído de proteínas, lipídios, carboidratos, sais minerais, cálcio, fósforo e vitaminas. A sua produção é uma atividade muito antiga com relatos de consumo de leite solidificado datando 7.000 anos a.C. (PERRY, 2004). Acredita-se que sua origem veio dos costumes mediterrâneos de armazenar o leite em sacos de couro de peles de animais ou estômago de bezerros (CAMPOS, 2001). O queijo *Kishik*, produzido por uma tribo nômade no Norte da África, é tido como o queijo mais primitivo. Com o passar dos anos, a fabricação do queijo foi sofrendo modificações (VARNAN; SUTHERLAND, 1994).

A fabricação de queijos é uma forma conveniente de conservar o leite, transformando-o em um produto mais estável, palatável, cujas qualidades são mantidas, podendo ser padronizados ou adaptados às necessidades do mercado. O queijo, no Brasil e no mundo, é um dos produtos lácteos que mais se difundiu e o que mais sofreu adaptações na técnica de elaboração, ocasionando, conseqüentemente, o surgimento de vários tipos existentes (MAGALHÃES, 2002).

No Brasil, o consumo anual de queijo é de 2,3 Kg *per capita*. O estado de Minas Gerais é o maior produtor brasileiro de queijos, com cerca de 200t/ano, e responde pela metade do consumo nacional. A produção leiteira no Brasil é de cerca de 20 milhões de litros, sendo 60% deste total destinado à fabricação de queijo (PERRY, 2004).

3.2 O queijo Minas frescal

O queijo Minas frescal é de origem brasileira, sendo produzido nos mais diversos estados, tendo sua fabricação iniciada no século XVIII em Minas Gerais, em regiões que o gado de leite era dominante (CAMPOS, 2001). É um dos queijos mais populares do Brasil, sendo consumido por todas as camadas da população durante o ano todo. Trata-

se de um produto fresco, para consumo imediato e de curta durabilidade (FURTADO, 2005). Existem no Brasil cerca de 72 tipos de queijos, dentre os quais o queijo Minas frescal é o terceiro mais consumido, representando 9% da produção nacional, perdendo apenas para os queijos Mussarela, 33% e o Prato, 24% (MARCHIORI, 2004).

Segundo a Portaria nº 352 do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (BRASIL, 1997), o queijo Minas frescal é um queijo fresco obtido por coagulação enzimática do leite com coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não com ação de bactérias lácticas específicas. É classificado como queijo semigordo de alta umidade a ser consumido fresco, de consistência branda e macia, com ou sem olhaduras mecânicas, de cor esbranquiçada, de sabor suave a levemente ácido, sem ou com crosta fina, de forma cilíndrica e com peso de 0,3 a 5 Kg. O Ministério da Agricultura, em março de 2004, através da Instrução Normativa nº44 (BRASIL, 2004) corrigiu a classificação da umidade, considerando como queijo semigordo (25 a 44% de gordura no extrato seco) de muito alta umidade (não inferior a 55%).

O queijo Minas frescal é um produto de massa crua, com alto teor de umidade (46-55%) e não maturada, que deve ser consumido nos primeiros quinze dias após sua fabricação, sendo, portanto, um produto altamente perecível (HOFFMAN; SILVA; VINTURIM, 2002). A composição recomendada pela (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJO - ABIQ, 2007) para o rótulo do queijo Minas frescal é de 40% (mínimo) de gordura no extrato seco (GES), 16g de lipídios/ 100g; 2g de carboidratos/ 100g; 18g de proteínas/ 100g; 225 Kcal/ 100g (RÓTULOS, 1996). Contudo não é um produto padronizado e há variações. Rosa (2004) verificou em queijo Minas frescal 62,5% de umidade, 20,5% de gordura, 1,4% de sal, acidez 0,28% e pH de 6,40. Elaborado a partir do leite bovino, sua principal característica é o sabor pouco ácido. Queijos frescos, brancos e leves que são submetidos a um processamento mínimo antes de serem embalados são altamente perecíveis e por isso, apresentam vida útil curta, mesmo sob refrigeração (SILVA et al., 2003; PERRY, 2004).

A tecnologia de fabricação de queijo, de modo geral, compreende a coagulação do leite pela adição de fermento lácteo ou ácido láctico ou pelo coalho enzimático, corte, dessoragem, prensagem da massa, salga úmida e embalagem (MADRID, 1994;

ROBINSON, 1994). No processo tradicional de fabricação do queijo Minas frescal, a coagulação enzimática da caseína se dá com uso de coalho, em 30-40 min a 35 -37°C quando se usa fermento ou 40-42°C quando não usa o fermento. Segue-se o corte, a dessoragem e a enformagem. A salga pode ser feita por salmoura a 20% a 10-12°C. Esse tipo de queijo não sofre processo de cura (CAMPOS, 2001). A Figura 1 ilustra a tecnologia de fabricação do queijo Minas frescal.

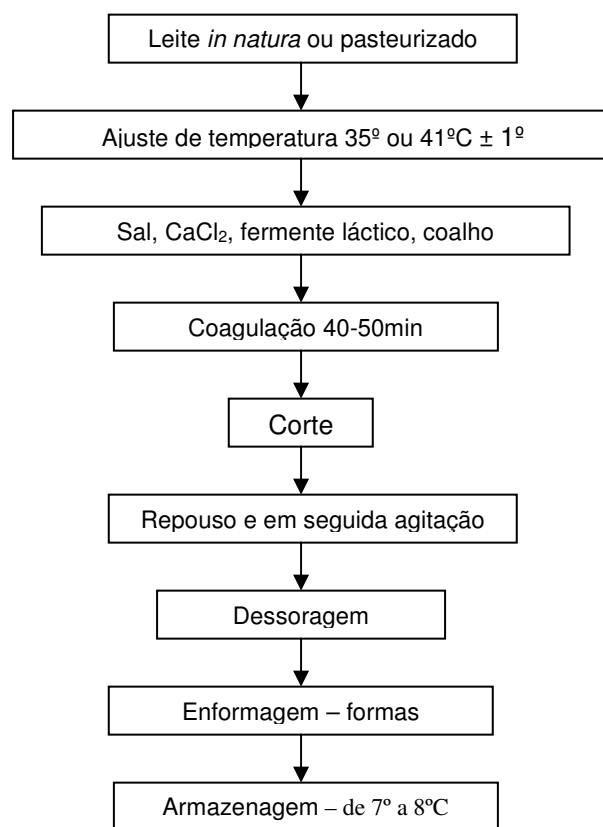


Figura 1 - Esquema de fabricação de queijo Minas frescal

Devido à adoção de diferentes métodos de fabricação, tornou-se um queijo bastante irregular em termos de padrões de consistência, textura, sabor, durabilidade e rendimento, chegando mesmo a ser fabricado através do processo de ultrafiltração (FURTADO; LOURENÇO-NETO, 1994).

De acordo com os Padrões Microbiológicos vigentes, da Resolução Colegiada (RDC) nº12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2001) os

queijos de muito alta umidade (>55%), como o Minas frescal elaborado por coagulação enzimática com ou sem a ação de bactérias lácticas, deve apresentar as seguintes tolerâncias máxima para amostras indicativas: 5×10^2 Número Mais Provável (NMP) de coliformes a 45°C/g, 5×10^2 Unidade Formadora de Colônias (UFC) de estafilococos coagulase positiva/g, e ainda ausência de *Salmonella sp* e *Listeria monocytogenes* em 25g.

Após a pasteurização o leite não possui microbiota dominante, portanto na elaboração de certos queijos procede-se a adição de cultura láctica, as quais fermentam a lactose, formando ácido láctico pela via das hexoses difosfato, o aumento de ácido láctico reduz o pH melhorando a ação da renina (ESKIN, 1990).

Do ponto de vista bioquímico, a microbiota dos queijos pode ser dividida em dois grupos: bactérias lácticas iniciadoras (BLI) e microrganismos secundários. As primeiras são responsáveis pela transformação da lactose em ácido láctico durante a preparação do queijo, suas enzimas estão envolvidas com a proteólise e pelas propriedades organolépticas do produto (PERRY, 2004; VARNAN; SUTHERLAND, 1994).

Os microrganismos secundários compreendem as bactérias não iniciadoras, que crescem no interior dos queijos, e outras bactérias, leveduras e/ou fungos que crescem tanto no interior, quanto na parte externa dos queijos. Entre estes microrganismos estão os proteolíticos, lipolíticos e produtores de gases podendo ser incluído os *Clostridium*, *Leuconostoc*, *Pseudomonas*, *Streptococcus* e coliformes respectivamente (PERRY, 2004; VARNAN; SUTHERLAND, 1994).

O queijo Minas apresenta vários pontos críticos, durante a fabricação, que podem conduzir as alterações no produto final, dentre eles destaca-se a alta contaminação microbiológica da matéria-prima, recontaminação do leite pós-pasteurizado, temperaturas inadequadas de fabricação e armazenamento (SANTOS; NOGUEIRA; CUNHA, 1995).

O leite destinado ao fabrico de queijos deve ser de boa qualidade e, quando possível, livre de contaminação bacteriana (PERRY, 2004). No processamento de queijo Minas frescal, Lisita (2005) encontrou entre a pasteurização até a coagulação um aumento de 3,38 ciclos \log_{10} de coliformes fecais. As boas práticas de fabricação e as medidas de sanificação durante o processamento são cruciais para a garantia de um

produto de qualidade (PICOLI et al., 2006). A qualidade microbiológica das salmouras é de fundamental importância porque ela pode constituir-se em fonte de contaminação para os queijos, pois Amaral, Nader Filho e Iaria (1991), estudando as características microbiológicas das salmouras utilizadas na salga de queijos Minas frescal, observou elevados índices de contaminação cujas contagens de microrganismos mesófilos, coliformes totais, coliformes de origem fecal atingiram valores respectivos da ordem de $2,9 \times 10^{11}$, $7,8 \times 10^{12}$, $7,8 \times 10^{12}$ UFC/mL. Lisita (2005), também avaliando a salmoura, encontrou contagens de microrganismos psicrotrofos aeróbios totais $6,1 \times 10^5$ UFC/mL e mesófilos totais $2,7 \times 10^6$ UFC/mL.

Recomendações são feitas para a produção segura de queijos e indicam a necessidade de utilizar leite pasteurizado para minimizar riscos à saúde pública. Além desta, outras medidas são importantes para assegurar a produção de queijos livres de patógenos, tais como: o leite cru deve ser coletado e mantido sob boas condições de higiene; deve ser refrigerado para minimizar a multiplicação de microrganismos; se não for utilizado imediatamente deve sofrer pasteurização completa ou processo equivalente e ser mantido em boas condições de higiene desde a fabricação até a venda dos queijos aos consumidores, impedindo a contaminação (LEITE, 2000).

As condições de obtenção da matéria-prima, do processamento e armazenamento, podem comprometer as características organolépticas do produto, bem como torná-los impróprios para o consumo, em virtude de contaminação por microrganismos responsáveis por toxinfecções alimentares (FREO; REOLON, 2006). Uma vez que os microrganismos desenvolvem-se nos alimentos podem causar sua deterioração prejudicando os valores nutritivos e organolépticos. Muitas vezes é difícil verificar pela aparência se um alimento está deteriorado ou não (FRANCO; LANGRAF, 1999).

3.3 Microbiologia

Os queijos de massa mole, de pH alto e umidade elevada permitem o desenvolvimento de muitos microrganismos (VARNAN; SUTHERLAND, 1994). Muitas bactérias contaminantes utilizam a lactose produzindo ácido láctico entre outros subprodutos. Também podem produzir toxinas causando toxinfecções (FOX et al, 2000).

3.3.1 Bactérias mesófilas

As bactérias aeróbias mesófilas são constituídas por espécies de *Enterobacteriaceae*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium* e *Streptococcus*, cuja temperatura ótima de crescimento é em torno de 32º, mas que podem crescer entre 10º a 35ºC. Este grupo inclui a maioria dos contaminantes do leite (PERRY, 2004). A contagem padrão em placa (PCA) tem sido usada como indicador da qualidade higiênica dos alimentos, fornecendo dados sobre seu tempo útil de conservação e a quantidade de microrganismos patogênicos presentes (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA; 2001; JAY, 1994). Sua presença em grande quantidade reflete em matéria-prima muito contaminada, limpeza e sanificação insuficiente na linha de processamento e condições de tempo e temperatura durante a produção ou conservação dos alimentos (SIQUEIRA, 1995; JAY, 1994).

3.3.2 Coliformes totais e fecais

O grupo dos coliformes totais inclui a família das *Enterobacteriaceae* e as bactérias na forma de bastonetes Gram negativos, não esporogênicos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35ºC. A definição dos coliformes fecais é a mesma, porém restringindo-se aos membros capazes de fermentar a lactose com produção de gás em 24 horas a 44,5 – 45,5ºC (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 2001).

O grupo coliforme fecal é restrito aos organismos que vivem exclusivamente no trato gastrointestinal de humanos e de animais de sangue quente. Isto inclui pelo menos três gêneros: *Escherichia coli*, *Klebsiella* e *Enterobacter* (HITCHINS; HARTMAN; TODD, 1992; SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 2001). Dentre essas bactérias, a *E. coli* é a mais conhecida e a mais facilmente diferenciada dos microrganismos não fecais, e é o melhor indicador de contaminação fecal conhecido até o momento (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 2001).

Diversas linhagens de *E. coli* são comprovadamente patogênicas para o homem e para os animais. Com base nos fatores de virulência, manifestações clínicas e

epidemiológicas, as linhagens de *E. coli* consideradas patogênicas são, atualmente, agrupadas em cinco classes: EPEC (*E. coli* enteropatogênica clássica); EIEC (*E. coli* enteroinvasiva); ETEC (*E. coli* enterotoxigênica); EHEC (*E. coli* enterohemorrágica); e EEC (*E. coli* enteroagregativa) (FRANCO; LANDGRAF, 1999).

Os coliformes são absolutamente indesejáveis na indústria de laticínios, pois são causadores de diversos defeitos no leite e seus derivados. São bactérias deteriorantes e são normalmente utilizadas como indicadoras da qualidade sanitária dos alimentos porque estão em maior número no trato intestinal, em relação a outros microrganismos, e crescem bem em vários substratos, tornando-se fácil o seu cultivo (FRAZIER; WESHOFF, 1993). Essas bactérias também estão altamente relacionadas com os patógenos intestinais presentes nos alimentos. Assim, a presença desses microrganismos indicará as condições do tratamento térmico feito, falta de sanitização dos equipamentos e manuseio inadequado (ASHTON, 1992). Em alimentos processados, os coliformes indicam processamento inadequado ou uma contaminação pós-processamento.

A incidência destes microrganismos pode ser comprovada no queijo Minas frescal pelos resultados obtidos por Rosa (2004) onde queijos imediatamente após a fabricação, apresentaram contagens de 3,32 log UFC de *E. coli*/g e 3,47 log UFC de *Staphylococcus* coagulase positivo /g, estando este produto já acima dos padrões sanitários (BRASIL, 2001).

Da mesma forma Almeida Filho e Nader Filho (2002) avaliaram 80 amostras de queijo Minas frescal comercializados no município de Poços de Caldas (MG), onde 37,5% e 30% apresentam contagens de coliformes fecais e de *Escherichia coli* respectivamente, acima dos limites máximos permitidos pelo Ministério da Saúde. Nascimento *et al.* (2001) coletaram 54 queijos tipo Minas frescal, sendo 46 amostras com SIF, no comércio de diferentes microrregiões do estado do Rio de Janeiro. As amostras revelaram médias aritméticas de 5,17 log₁₀ de UFC de coliformes fecais /g, impróprias para consumo humano conforme legislação vigente (BRASIL, 2001)

A problemática do queijo Minas frescal é reforçada pelos resultados obtidos por Paiva (2005) em análises microbiológicas de queijo Minas frescal, comercializados em supermercado, 23 (76,6 %) das 30 amostras analisadas se enquadrariam na

classificação de “produto em condições sanitárias insatisfatórias”. Em relação a *E.coli*, apresentaram 47% das amostras com valores superiores aos limites previstos na legislação vigente (BRASIL, 2001).

3.3.3 Estafilococos

São cocos Gram-positivos, imóveis, agrupados em massas irregulares ou em cachos de uva, aeróbios ou anaeróbios facultativos, catalase positiva. Fermentam a glicose com produção de ácido, tanto em anaerobiose quanto em aerobiose (BIER, 1984).

Este microrganismo encontra-se amplamente disseminado no ambiente, o seu reservatório principal é o homem e os outros animais (CHAVES, 1993).

Produzem intoxicação alimentar causada pela toxina sintetizada por certas cepas de *Staphylococcus aureus*. Estas toxinas são proteínas simples, facilmente solúveis em água e em soluções salinas, resistentes à ação de enzimas e termorresistentes (FRANCO; LANGRAF, 1999; SIQUEIRA, 1995).

Uma vez efetuada a ingestão do alimento contaminado, os sintomas característicos causados pelas toxinas são náuseas, vômito, contrações abdominais, diarreia, calafrios, cefaléia e febre (JAY, 1994).

O *Staphylococcus aureus* é frequentemente encontrado em leite e seus derivados. As infecções estafilocócicas na glândula mamária bovina representam um reservatório de culturas toxigênicas de *S. aureus* (FLOWERS et al., 1992).

No ano de 1987, na cidade de Ouro Preto-MG, ocorreu um surto de intoxicação alimentar causado pela contaminação de *Staphylococcus aureus* em queijo Minas frescal com contaminação de $9,3 \times 10^7$ UFC/g. Loguercio e Aleixo (2001) analisando 29 amostras de queijo Minas frescal produzidos artesanalmente verificaram que 96,67% destas apresentavam valores superiores a 10^3 UFC/g estando impróprias para consumo conforme legislação vigente (BRASIL, 2001). Da mesma forma Almeida Filho e Nader Filho (2000) analisando 80 amostras de queijo Minas frescal 50% apresentavam valores superiores a 10^3 UFC/g.

3.3.4 *Samonella* sp.

Esses microrganismos são bastonetes Gram negativos, não esporulados, com cerca de 0,5 a 0,7 por 1 a 3 μm . São móveis por meio de flagelos e, anaeróbios facultativos, crescem bem em meios comuns na presença de oxigênio livre. Seu habitat natural é o trato intestinal dos seres humanos e dos animais de sangue quente (SIQUEIRA, 1995).

A temperatura ótima de crescimento encontra-se na faixa de 35° a 37°C, podendo multiplicar-se em temperaturas que variam de 5° a 47°C. Apresentam sensibilidade aos tratamentos térmicos e se congeladas ocorre uma redução significativa do número de células (CHAVES, 1993).

Salmonelose é a infecção provocada pela ingestão de alimentos contaminados com qualquer espécie de *Salmonella*. Os sintomas começam a aparecer de 12 a 14 horas depois da ingestão. A febre tifóide e febres entéricas são manifestações graves de infecções por *Salmonella* sp. (JAY, 1994).

Muitos casos de salmonelose têm sido associados com queijo nesses últimos anos. Em 1984 no Canadá ocorreram 1500 casos confirmados entre junho e julho de intoxicação alimentar por *S. typhimurium*, as quais sobreviveram por 8 meses em refrigeração (FLOWERS et al., 1992).

Ávila e Galo (1996) analisaram queijo Minas frescal vendido em diferentes estabelecimentos no município de Piracicaba-SP e não detectaram a presença de *Salmonella* sp. Noventa e três amostras de queijo Minas frescal foram coletadas em supermercados no município de Campinas-SP e analisadas, as quais apresentaram ausência de *Salmonella* sp. (CARVALHO; VIOTTO; KUAYE, 2007).

3.3.5 Bactérias lácticas

As bactérias lácticas constitui um grupo de microrganismo que inclui seis gêneros de bactérias acidúricas produtoras de ácido láctico, Gram positivas, catalase negativas e microaerófilas: *Lactobacillus* sp., *Leuconostoc* sp., *Pediococcus* sp., *Streptococcus* sp., *Lactococcus* sp. e *Enterococcus* sp. (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 2001). As

bactérias lácticas fermentam a lactose formando ácido láctico pela via das hexoses difosfato. O aumento de ácido láctico reduz o pH melhorando a ação da renina na coagulação do leite e ajuda a prevenir o crescimento de outras bactérias indesejáveis (ESKIN, 1990; FOX et al., 2000). Das culturas mesofílicas (temperatura ótima de crescimento entre 30°C) mais comuns nos fermentos para produção de queijo de modo geral são os *Lactococcus lactis* spp. *cremoris*, que juntamente com o *Lactobacillus lactis* spp. *lactis* são as principais bactérias produtoras de ácido láctico nas culturas lácticas (JAY, 1994). As culturas termofílicas (temperatura ótima de crescimento entre 42°C) mais comuns são compostas de *Streptococcus termophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* spp. *delbrueckii*, *Lb. delbrueckii* spp. *bulgaricus* e *Lb. delbrueckii* spp. *lactis* (PERRY, 2004).

As bactérias lácticas juntamente com outros microrganismos são as protagonistas encontradas freqüentemente na maturação dos queijos, pois são responsáveis pelas transformações bioquímicas de lipídios e proteínas em diferentes compostos desenvolvendo “flavor”, caracterizando o produto final quanto ao sabor, aroma e textura (ESKIN, 1990). O sabor é caracterizado por compostos como ácido acético, acetaldeídos e diacetil (FOX et al., 2000).

Estas transformações estão diretamente ligadas às reações enzimáticas de proteases e lipases, onde as proteínas são hidrolisadas liberando resíduos de aminoácidos e os lipídios. A presença de cultura láctica influencia significativamente o aumento do índice de proteólise no queijo Minas frescal produzido com leite pasteurizado (ISEPON; OLIVEIRA, 1993).

3.3.6 Bactérias psicotróficas

As bactérias *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., *Serratia* spp., *Listeria* spp. *Yersinia* spp., *Lactobacillus* spp., *Flavobacterium* spp., *Corynebacterium* spp., *Alcaligenes* spp., *Acinetobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Streptococcus* spp., *Micrococcus* spp. e *Clostridium* spp. são as principais bactérias psicotróficas (FONSECA; SANTOS, 2000). O termo psicotróficas se aplica às bactérias que crescem em temperaturas de refrigeração comercial, ou seja, 2º a 7°C, independente de sua temperatura ótima de crescimento

(ROBINSON, 1987). É um grupo muito importante em produtos que são conservados sob refrigeração por períodos entre 1-4 semanas (PERRY, 2004).

As bactérias psicotróficas que mais deterioram os produtos lácteos pertencem ao gênero *Pseudomonas*. Estes microrganismos são termosensíveis, e facilmente destruídos pela pasteurização, porém produzem enzimas extracelulares (lipases e proteases) que são termorresistentes, permanecendo no leite após a pasteurização (MOURA, 1997). O *Bacillus* spp. psicotrófico sobrevive à pasteurização limitando, a vida útil do leite durante a estocagem (FRANK; CHRISTEN; BULLERMAN, 2005). Alguns microrganismos patogênicos isolados do leite são psicotróficos, entre eles o que se destaca é a *Listeria monocytogenes* que consiste em sério problema para as indústrias de laticínios principalmente em queijo produzido com leite cru (FRANK; CHRISTEN; BULLERMAN, 2005; LAFARGE, et al., 2004).

3.3.7 Microrganismos proteolíticos

Muitas bactérias responsáveis pela deterioração de produtos lácteos refrigerados são altamente proteolíticas e podem causar defeitos no sabor (FRANK; CHRISTEN; BULLERMAN, 2005). Os microrganismos proteolíticos são responsáveis pela quebra das proteínas. Em sua ação, provocam alterações de aroma, sabor e características físico-químicas do leite e derivados. Fazem parte deste grupo as *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium* e *Bacillus* (PERRY, 2004).

Analisando o leite UHT Vidal-Martins et al. (2005) verificou o aumento da proteólise no decorrer do armazenamento. Esta proteólise está relacionada com a quebra da caseína pela ação das proteases bacterianas, originárias principalmente das bactérias psicotróficas presente no leite cru refrigerado, as quais após o tratamento UHT são eliminadas, porém suas enzimas termorresistentes continuam atuando lentamente sobre as proteínas.

A presença de culturas lácticas no queijo resulta na alteração proteolítica no produto final, dependendo da cultura inicial usada na manufatura do queijo (HYNES; OGIER; DELABROIX-BUCHET, 2001). Segundo Isepon e Oliveira (1993) o índice de

proteólise influencia significativamente no período de conservação em queijos Minas frescal.

3.3.8 Microrganismos lipolíticos

Os microrganismos lipolíticos são responsáveis pela quebra da gordura e são os principais causadores do ranço. A maioria deles tem características psicotróficas. Entre os microrganismos lipolíticos encontram-se bactérias como *Pseudomonas* e *Alcaligenes* (PERRY, 2004).

O crescimento de microrganismos produtores de lipases pode contribuir com defeitos no sabor em leite e produtos lácteos gordurosos. Alguns ácidos graxos formados pela ação das enzimas lipolíticas resulta na alteração do gosto e pode ser percebido mesmo em baixas concentrações o sabor de ranço (FRANK; CHRISTEN; BULLERMAN, 2005).

No leite pode ocorrer lipólise pela ação das lipases originárias do leite, lipases microbiana proveniente após processamento, culturas *starter*, enzimas termorresistentes originárias de bactérias psicotróficas que cresceram em leite estocado em temperatura de 2-4°C. As lipases microbianas não são inativadas pela pasteurização (ALLEN, 1994).

As lipases e esterases de bactérias ácido lácticas (LAB) parecem ser o principal agente lipolítico em queijo Cheddar produzido com leite pasteurizado (FOX et al., 2000).

As bactérias lácticas especialmente o *Lactococcus* e *Lactobacillus* spp. tem menor atividade lipolítica em comparação com as espécies como *Pseudomonas*, *Acinetobacter* e *Flavobacterium* (MCSWEENEY, 2004). O *Lactobacillus lactis* spp. *cremoris* em estudos mostrados por Kamaly, Takayama e Marth (1990), tem alta atividade lipolítica em ácido tributanóico e emulsão de gordura do leite.

O *Streptococcus thermophilus* apresentou habilidade em sintetizar ésteres em álcoois via reação transferase (LIU; HOLLAND; CROW, 2003).

3.4 Físico-química e químicas

3.4.1 pH e acidez

A concentração hidrogeniônica, que determina o pH dos alimentos, é um dos principais fatores que exercem influência sobre o crescimento, a sobrevivência ou a destruição dos microrganismos, que nele se encontram presente (SILVA, 2000). A cultura láctica inicial produz ácido facilitando a coagulação da caseína pela ação da enzima renina (MORR; RICHTER, 1999). O valor de pH encontrado por Silva et al. (2003) em queijo Minas frescal variou de 5,0 a 6,2. Rosa (2004) verificou o pH de 6,71 neste tipo de queijo.

A mais importante reação de fermentação usada no processamento de laticínios é a homofermentação convertendo a lactose em ácido láctico. Normalmente as culturas usadas para acidificar os produtos lácteos são as bactérias lácticas homofermentativas (FRANK; MARTH, 1999). Bactérias não lácticas como os coliformes também são fermentadores de lactose e produzem ácido láctico causando danos ao produto percebido pelas alterações organolépticas.

Machado et al. (2004) e Rosa (2004) encontraram em queijo Minas frescal 0,28% de acidez em ácido láctico. Já Spadoti, Dornellas e Roig (2005) encontrou 0,85% de ácido láctico neste tipo de queijo.

3.4.2 Proteína e proteólise

A concentração de proteína no queijo varia até aproximadamente 40%, dependendo a variedade. A proteína predominante no queijo é a caseína. O processo de maturação envolve a degradação da proteína por enzimas naturais do leite, renina e enzimas microbianas (FOX et al., 2000). O queijo Minas frescal apresenta de 12% a 18% de proteína (ROSA, 2004; MACHADO et al. 2004; MARQUES; OLIVEIRA, 2004).

A proteólise de um queijo é considerada como o resultado de várias atividades enzimáticas (proteínase, peptidase) sendo que os principais contribuintes são a quimosina (renina, coalho) e as enzimas do fermento láctico adicionadas ao leite no

momento da fabricação do queijo. Outros microrganismos porventura presentes como resultado de contaminação causal, também podem contribuir para essa degradação (WOLFSCHOON-POMBO, 1983).

A proteólise é, provavelmente, a mais importante transformação bioquímica durante a maturação para a maioria das variedades de queijo, com um maior impacto sobre o sabor, aroma e textura (FOX et al., 2000).

O Minas frescal é um queijo consumido sem maturação, porém, a tecnologia de fabricação e conseqüentemente a proteólise, influenciam decisivamente na consistência, sabor e durabilidade do produto (WOLFSCHOON-POMBO; LIMA, 1989).

A extensão da proteólise é um fator indicativo da proteólise primária é caracterizada pela quantidade de substâncias nitrogenadas solúveis acumuladas durante o processo, expressas como porcentagens do nitrogênio total. Sua determinação analítica é baseada na precipitação da caseína até seu ponto isoelétrico (pH 4,6). Assim, quando uma solução de queijo (queijo mais citrato de sódio) é trazida a pH 4,6, as caseínas intactas, e também aquelas que se degradam fracamente, são precipitadas. Peptídeos de alto peso molecular, peptídeos de cadeia curta e aminoácidos são encontrados nessa solução. Se for adicionado ácido tricloroacético a uma concentração final de 12% ao sobrenadante obtido após precipitação a pH 4,6, mais peptídeos serão precipitados e somente peptídeos de cadeia curta e aminoácidos permanecerão na solução. Assim, a profundidade da proteólise abrange as substâncias nitrogenadas de baixo peso molecular, acumuladas durante o processo. Os peptídeos e aminoácidos das diferentes frações são geralmente quantificados após degradação do nitrogênio orgânico pela técnica de Kjeldahl (WOLFSCHOON-POMBO, 1983).

O índice de proteólise encontrado por Isepon e Oliveira (1993) foi de 4,99% de nitrogênio em queijo Minas frescal no primeiro dia de armazenamento e de 10,71% após 13º dia.

3.4.3 Lipídios e lipólise

A gordura tem uma função muito importante em queijo em relação às características organolépticas (O'CONNOR; O'BRIEN, 2000). Em queijo Minas frescal o

teor de gordura encontrado por Rosa (2004) foi de 20,5%, Machado et al. (2004) encontrou valores de 29,22%.

Os lipídios presentes em alimentos podem sofrer oxidação ou degradação hidrolítica. (MCSWEENEY; SOUSA, 2000). A lipólise é a hidrólise dos triacilgliceróis com liberação de ácidos graxos e glicerol. É o resultado de ação enzimática que pode aparecer em todos os produtos lácteos, assim sendo a gordura serve de substrato para variadas reações bioquímicas que levam à formação de aroma e sabor no queijo. Grande importância é dada aos agentes responsáveis pela sua hidrólise durante a maturação (FURTADO; CHANDAN, 1983). Ácidos graxos livres contribuem diretamente para composição do sabor de grande variedade de queijos (HÁ; LINDSAY, 1991).

Produtos da lipólise dos triglicerídeos, como ácidos graxos de cadeia curta, são importantes na formação do sabor e aroma de diversos produtos, principalmente em queijos. Os principais ácidos graxos formados são butírico, caprótico, caprílico, cáprico e láurico (PERRY, 2004).

Segundo Caboni, Zanoni, e Lercker (1990), o índice de lipólise varia entre as diversas variedades de queijos. Este índice depende da qualidade inicial do leite e processos e tecnologias empregadas. Em leite onde tenha ocorrido grande ação de lipases microbianas e utilizado para fabricação de queijos, o produto resultante poderá apresentar lipólise diferenciada.

A presença de ácidos livres voláteis no queijo Minas foi estudada por Bonassi (1978). O queijo apresentou teor elevado de ácido acético e butírico, e valores apreciáveis de ácido isovalérico e caprótico. A avaliação organoléptica classificou o queijo como de boa qualidade.

O papel da lipólise sobre a formação de sabor no queijo Minas ainda permanece desconhecida. Para isso, são necessários estudos de reconhecimento do perfil de ácidos graxos e posterior avaliação do efeito da variação da sua concentração e da sua proporção sobre o sabor (SABIONI, 2005).

3.5 Análise sensorial

Através da análise sensorial pode ser determinada a aceitabilidade e a qualidade dos alimentos, com o auxílio dos sentidos humanos como paladar e olfato. Para avaliar a qualidade deve ser levada em consideração as propriedades sensoriais aceitáveis, como essenciais no momento da venda e consumo do produto (MORALES, 1997).

Os métodos sensoriais são agrupados em analíticos e afetivos. Os métodos analíticos são utilizados em avaliações em que são necessárias as seleções e/ou treinamento da equipe e em que é exigida avaliação objetiva, ou seja, na qual são consideradas as preferências ou opiniões pessoais dos membros da equipe, como no caso dos testes afetivos (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT, 1993).

Os testes afetivos é uma importante ferramenta porque acessam a opinião do consumidor já estabelecido ou potencial de um produto, sobre características específicas do produto ou idéias sobre o mesmo, por isso são chamados de teste de consumidor e são representados pelos testes de preferência e aceitação (FERREIRA, 2000). O teste de aceitabilidade é utilizado principalmente para testar novos produtos, bem como para controlar a qualidade e testar o tempo de armazenamento adequado para cada tipo de produto (CHAVES; SPROESSER, 1993).

Avaliando o queijo Minas artesanal na região do Serro, Machado et al. (2004) empregando a escala hedônia de aceitação de nove pontos encontrou média de 6,03, o que indica que os provadores gostaram ligeiramente do produto. Estudando a influência da quantidade de células somáticas em queijo Minas frescal Andreatta (2006) obteve aceitação global de 7,0 pontos no segundo dia de armazenamento a 4^o-5^oC e 6,0 pontos no 30^o dia de armazenamento sob refrigeração.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi desenvolvido no Laboratório de Laticínios do Departamento de Alimentos, Agroindústria e Nutrição da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ-USP), em Piracicaba, SP.

4.1 Seleção e tratamento do queijo

Para a seleção das amostras foram pesquisadas através de análises de contagem de *E. coli* seis marcas de queijo Minas frescal com registro no Serviço de Inspeção Federal (SIF) comercializadas em supermercados no município de Piracicaba – SP até encontrar uma marca dentro dos padrões legais de consumo (BRASIL, 2001). A marca selecionada apresentou características necessárias para realizar a análise sensorial dando condições aos julgadores em provar o queijo durante o período de armazenamento.

Foram adquiridos direto do laticínio o qual é enquadrado no SIF, cinco quilos do queijo selecionado para cada lote denominados A, B e C, totalizando em todo o experimento 15 Kg e analisados um dia após sua fabricação.

A caracterização microbiológica deu-se pela determinação de *Escherichia coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella* sp., bactérias lácticas, bactérias psicrotróficas totais, lipolíticas e proteolíticas. As análises físico-químicas e químicas realizadas foram: pH, acidez, gordura, lipólise, proteína, nitrogênio total, nitrogênio solúvel, nitrogênio não-protéico e índice de extensão da hidrólise protéica. A análise sensorial teve a avaliação dos atributos aparência, cor, odor, sabor e textura.

As peças de queijo foram armazenadas em incubadora de BOD à 4°C, durante 30 dias. Foram analisadas 5 peças de queijo de 250 gramas por período. Cada peça foi analisada em duplicata, nos diferentes períodos de armazenamento (1, 10, 20 e 30 dias). Foram avaliados 3 repetições do experimento, cada uma tratando-se de lotes diferentes (Figura 2).

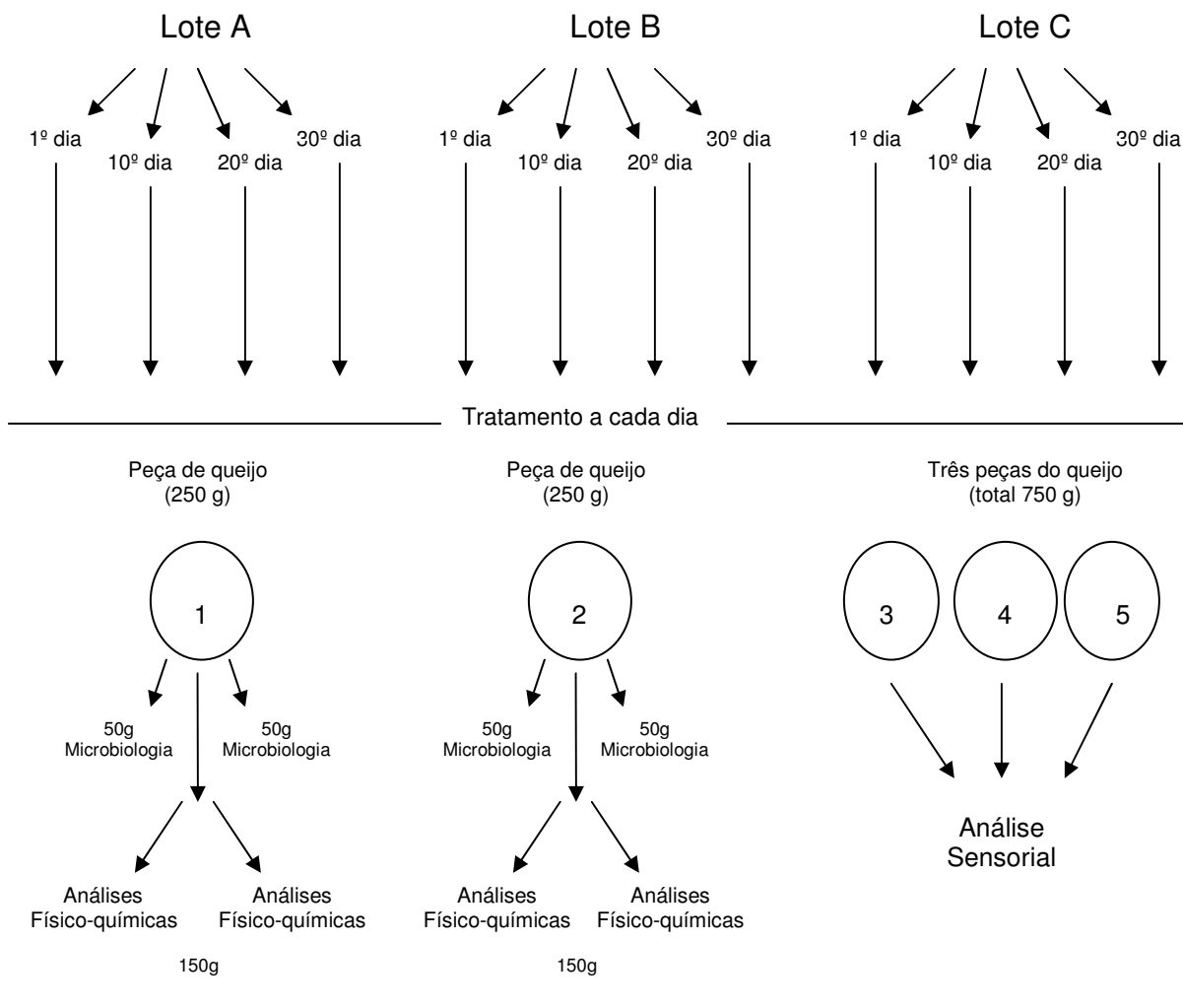


Figura 2 – Procedimento realizado com as cinco peças de queijo a cada dia de análise para cada lote.

4.2 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas dos queijos foram realizadas seguindo os procedimentos gerais (diluições, plaqueamento, repetições e contagens) descritos no “*Standard Methods for the Examination of Dairy Products*” (APHA, 1992). Foi determinado *Escherichia coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella* sp., bactérias lácticas, bactérias mesófilas totais, bactérias psicotróficas totais, lipolíticas e proteolíticas.

4.2.1 Preparo das amostras

As embalagens foram desinfetadas com álcool 70%. Foram retiradas com porções de várias regiões da peça totalizando 50 gramas de queijo e distribuídas em duas partes de 25 gramas cortadas em pequenos pedaços e homogeneizados em homogeneizador Stomacher juntamente com 225 mL de água peptonada 0,1% estéril cada parte, sendo esta a diluição 10^{-1} . A partir destas, foram feitas sucessivas diluições decimais, tantas quanto necessárias, a partir de 1 mL diluindo-se em 9 mL de água peptonada, em tubos de diluição, conforme “*Standard Methods for the Examination of Dairy Products*” (APHA, 1992).

4.2.2 *Escherichia coli*

Utilizou-se o método dos tubos múltiplos, série de três tubos, adicionou-se 1,0 mL das diluições 10^{-1} a 10^{-8} em meio Caldo Lauril Sulfato Triptose suplementado com 50mg/L de 4-metil-umbeliferil- β -D-glucoronídeo (LST-MUG/MERCK) com tubos de Durham invertidos e incubado por 24 a 48 horas a 35°C. O princípio do teste se baseia na quebra do substrato 4-metil-umbeliferil- β -D-glucoronídeo pela enzima β -glucoronidase exclusiva da bactéria *E. coli*. Como resultado positivo para *E. coli* foi considerada a produção de gás e a fluorescência sob a luz ultravioleta (366 nm). A partir dos números de tubos positivos procedeu-se a leitura na tabela do NMP (número mais provável) obtendo o número mais provável por grama (NMP/g).

4.2.3 Estafilococos coagulase positiva

Foi utilizado o método de plaqueamento em superfície, inoculou-se 1,0 mL da diluição 10^{-1} , distribuindo o volume por quatro placas, 3 com 0,3 mL e uma com 0,1 mL, nas demais diluições decimais (10^2 - 10^5) espalhou-se alíquotas de 0,1 mL com alça de Drigalsky em meio Agar Baird Parker (MERCK) enriquecido com solução salina de gema de ovo 50% e telurito de potássio a 1%, incubadas a 35°C por 48 horas.

O meio BP é opaco e as colônias típicas de *Staphylococcus* são de coloração preta e apresentam halos transparentes formados em consequência atividade enzimática da lecitinase. A redução do telurito produz uma coloração preta nas colônias (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 2001).

Para confirmação as colônias típicas foram transferidas para caldo Bread Heart Infusion (BHI) e Agar Trypticase Soy (TSA) e incubados por 24 horas a 35°C. Após 24 horas as colônias selecionadas foram submetidas aos testes bioquímicos de coagulase, catalase e Gram.

O teste da catalase consiste em adicionar o peróxido de hidrogênio a uma amostra da cultura em lâmina. Se as bactérias produzirem a enzima catalase, degradarão o peróxido de hidrogênio e o gás oxigênio será liberado. A liberação do gás forma bolhas e é indicativa de teste positivo.

A coagulase é enzima que transforma o fibronogênio em fibrina. Para a realização deste teste, a partir do caldo BHI retirou-se 0,2 mL, adicionou-se a um tubo de ensaio estéril contendo 0,5 mL de plasma de coelho (Coagu-Plasma – Laborclin®), novamente foi homogeneizado delicadamente e incubado em banho-maria por 4 horas a 37°C. A formação de coágulo indica o teste positivo.

O resultado foi expresso como unidade formadora de colônia (UFC)/g a partir das colônias confirmadas.

4.2.4 *Salmonella* sp.

O método de análise para detecção de *Salmonella*, define-se apenas como presença ou ausência em 25g de alimento. Com o objetivo de recuperar células injuriadas de microrganismos presentes, dentre elas as *Salmonellas*, 25 gramas das amostras foram incubadas em caldo não seletivo, por 18 horas a uma temperatura de 35°C em 225mL de água peptonada tamponada. Foi repassado 1,0 mL deste caldo para um tubo contendo 10 mL de caldo tetrionato (TT) e outro frasco contendo 10 mL de Selenite Cystina Broth (SC) e incubou-se a 35°C por 24 horas. Após este período foi estriado em meio seletivo de ágar Entérico de Hectoen (HE), ágar Xilose Lisina Dexoxicolato (XLD) e ágar Bismuto Sulfito (BS), incubados por 24 horas a 35°C. As

colônias suspeitas, foram inoculadas por picada em profundidade em tubos de ágar inclinado dos meios ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) e ágar Lisina Ferro (LIA), foram utilizados para que ocorra a última seleção, incubados a 35°C por 24 horas.

Foram submetidas para confirmação de *Salmonella* as colônias que em ágar BS apresentaram o centro negro (oxidação do sulfato de ferro em sulfeto de ferro), bordas claras, rodeadas por um precipitado preto com brilho metálico devido à ação de redução de íons bismuto em bismuto metálico. O meio HE com colônias típicas de coloração azul esverdeada com ou sem centro. O ágar pode também detectar a produção do ácido sulfídrico, que dá coloração preta ao meio. As colônias típicas de *Salmonella* no meio XLD foram as transparentes sem alterar a cor do meio apresentando centro preto (precipitado preto de sulfato de ferro) (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 2001; MERCK, 2000).

4.2.5 Bactérias lácticas

Foi feito o plaqueamento em profundidade, colocando-se 1,0 mL das diluições 10^{-1} a 10^{-10} em meio Man, Rogosa & Sharpe Agar (MRSA). As análises foram feitas em duplicata. Foi incubada por 3 dias a 35°C.

O meio de cultura MRS contém polisorbato, acetato, magnésio e manganês, ao quais são fundamentais para o crescimento dos lactobacilos. Este meio tem baixo grau de seletividade, portanto espécies de *Pediococcus* e *Leuconostoc* entre outras bactérias podem crescer (MERCK, 2000).

O resultado foi expresso como unidade formadora de colônia (UFC)/g.

4.2.6 Bactérias mesófilas

Foi feito o plaqueamento em profundidade, colocando-se 1,0 mL das diluições 10^{-1} a 10^{-10} em meio Plate Count Agar (PCA). A incubação foi feita por 48 horas a 35°C.

O resultado foi expresso como unidade formadora de colônia (UFC)/g.

4.2.7 Bactérias psicrotróficas totais

Através de plaqueamento em profundidade, colocando-se 1,0 mL das diluições 10^{-1} a 10^{-10} em meio Plate Count Agar (PCA). A incubação foi feita por 10 dias a 7°C.

O resultado foi expresso como unidade formadora de colônia (UFC)/g.

4.2.8 Bactérias psicrotróficas proteolítica

Foi feito o plaqueamento em superfície, espalhando alíquotas de 0,1 mL das diluições 10^{-1} a 10^{-10} com alça de Drigalsky em ágar Caseinato de Cálcio (MERCK) com incubação por 10 dias a 7°C. Na contagem foram consideradas apenas as colônias circundadas por um halo claro característico, indicando proteólise.

O resultado foi expresso como unidade formadora de colônia (UFC)/g.

4.2.9 Bactérias psicrotróficas lipolíticas

Alíquotas de 1,0 mL das diluições 10^{-1} a 10^{-10} foram inoculadas em placas com ágar tributirina (AT) por plaqueamento em profundidade e incubadas a 7°C por 10 dias. As colônias típicas circundadas por um halo característico de lipólise foram selecionadas para a contagem.

O resultado foi expresso como unidade formadora de colônia (UFC)/g.

4.3 Análises físico-químicas e químicas

As amostras foram trituradas com gral e pistilo e homogeneizadas antes de serem submetidas às análises. Todas as análises foram feitas em duplicata.

4.3.1 Acidez titulável e pH

O teste para pH foi realizado pesando 10 g de amostra triturada e diluída em água a 25°C. Em seguida a leitura foi feita em um potenciômetro, conforme (APHA, 2001)

Para a determinação da acidez titulável foi utilizado o Método Dornic (AOAC, 1995). Preparou-se 10 gramas de queijo com 105 mL de água destilada aquecida a 40°C agitando vigorosamente e filtrando. Do filtrado foi retirado uma porção de 50 mL e titulada com solução Dornic (NaOH 0,11N) usando fenolftaleína como indicador.

O resultado para a acidez foi expresso em porcentagem de ácido láctico.

4.3.2 Teor de gordura

O teor de gordura foi determinado pelo Método de Babcock, segundo o “Standard Methods for the Examination of Dairy Products” (APHA, 1992). Pesou-se 9 g de queijo e acrescentou 10 mL de água destilada a 60°C agitando-os em seguida. Após esfriar juntou-se 15 mL de ácido sulfúrico ($d=1,84$). Após completa dissolução a solução foi colocada no butirômetro de Babcock adicionando de 7 a 10 mL de ácido sulfúrico diluído ($d=1,73$) e, após homogeneização, foi acrescentada água destilada a 60°C até o bulbo do frasco. O butirômetro foi levado para centrífuga (± 1.100 rpm) por dois minutos. Adicionou-se água aquecida (60°C) até o líquido na coluna aproximar ao topo da escala graduada e centrifugou-se por mais um minuto.

A leitura foi feita diretamente pela escala graduada do butirômetro expresso em gramas/100 gramas.

4.3.3 Extensão da lipólise

Para medir o grau de lipólise dos queijos foi determinado o teor de ácidos graxos livres (AGL) segundo o método descrito por Caboni, Zannoni e Lercker (1990), onde foi aplicado o método tritimétrico, determinando-se o índice de acidez, expresso em mg de KOH para neutralizar um grama de gordura.

Triturou-se em liquidificador 100 gramas de queijo juntamente com 200 mL de água destilada a 35°C por 2 minutos. Com a agitação a membrana dos glóbulos de gordura é rompida e por coalescência a gordura chega à superfície do frasco a qual foi retirada com uma espátula. Pesou-se 5 gramas desta gordura diluindo-a em 50 mL de solução etanol/éter etílico (1v/1v) sendo titulada imediatamente com solução metanólica de KOH 0,1N. A fenolftaleína foi utilizada como indicador e a titulação cessou assim que obteve coloração rosa claro.

O resultado foi expresso em mg KOH gasta para neutralizar um grama de gordura.

4.3.4 Proteína

A porcentagem de proteína foi determinada através do teor de nitrogênio total multiplicada pelo fator 6,38, através do método Kjeldahl, de acordo com o “Standard Methods for the Examination of Dairy Products” (APHA, 1992).

Pesou-se 0,1 g de amostra e digeriu-a por aquecimento com uma solução digestora. Nesta etapa o nitrogênio orgânico é transformado em amônio (NH_4^+) e os compostos orgânicos são convertidos em CO_2 , H_2O entre outros. Em seguida, destilou-se a amostra com ajuda de hidróxido de sódio 40% que tem por finalidade acelerar a separação do nitrogênio amoniacal da solução. O destilado foi coletado em frasco com solução de ácido bórico a 2% com indicador. A solução antes citada é receptora de NH_3 formando o sal $\text{NH}_4\text{H}_2\text{BO}_3$ que possui alta constante de dissociação e pode ser titulada facilmente. A solução receptora teve a finalidade de fixar o NH_3 e logo após foi titulada com solução de ácido sulfúrico 0,02 N.

O resultado foi expresso em porcentagem de proteína.

4.3.5 Proteólise

4.3.5.1 Teor de nitrogênio total (NT)

O teor de nitrogênio total (NT) dos queijos Minas frescal foram determinados pelo método Kjeldahl, segundo Gripon et al. (1975).

Acrescentou-se em 10 gramas de queijo triturado 40 mL de solução citrato de sódio 0,5 mol/L aquecida em banho-maria a 40°C. Homogeneizou-se vigorosamente por 30 segundos. O volume foi ajustado até 200 mL. Coletou-se 0,5 mL desta solução levando-a para digestão e destilação conforme descrito no item 5.3.4. O resultado foi expresso em porcentagem de nitrogênio (%N).

4.3.5.2 Teor de nitrogênio solúvel a pH 4,6

Foi determinado o teor de nitrogênio solúvel (NS) do queijo após a precipitação isoelétrica das caseínas com solução de ácido clorídrico 1,0 mol/L até pH 4,6, partindo de 150 mL da solução preparada com citrato de sódio 0,5 mol/L descrita no item 4.3.5.1, ajustando o volume até 200 mL. Esta mistura foi filtrada em papel de filtro Whatman nº.42, coletando-se uma solução límpida, contendo a fração hidrolisada da proteína do queijo solúvel em pH 4,6. A quantificação destas substâncias solúveis foram determinadas pelo método Kjeldahl descrito no item 4.3.4 utilizando 0,5 mL do filtrado (Gripon et al., 1975). O resultado foi expresso em porcentagem de nitrogênio (%N).

4.3.5.3 Teor de nitrogênio solúvel em ácido tricloroacético (TCA) 12%

Adicionou-se 4 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 60% em 16 mL do filtrado obtido NS e após 1 hora em temperatura ambiente foi filtrado em papel de filtro Whatman nº.42, coletando-se uma solução límpida, que contém peptídeos de baixa massa molecular e aminoácidos (Gripon et al., 1975). O nitrogênio contido nesta solução é denominado nitrogênio solúvel (não protéico) e quantificado pelo método Kjeldahl, partindo-se de 0,5 mL do filtrado. O resultado foi expresso em porcentagem de nitrogênio (%N).

4.3.5.4 Índice de extensão e Índice de profundidade

Índice de Extensão: relação entre a porcentagem de nitrogênio solúvel em pH 4,6 e a porcentagem de nitrogênio total, obtidos como anteriormente relatados.

$$\text{Índice de Extensão} = \frac{\text{Nitrogênio Solúvel}}{\text{Nitrogênio Total}} \times 100$$

Índice de Profundidade: relação entre a porcentagem de nitrogênio não protéico, e a porcentagem de nitrogênio total, obtidos como anteriormente relatados.

$$\text{Índice de Profundidade} = \frac{\text{Nitrogênio Não Protéico}}{\text{Nitrogênio Total}} \times 100$$

4.4 Análise Sensorial

A análise sensorial foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial do Setor de Nutrição Humana e Alimentos pertencente ao Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição na ESALQ/USP. A avaliação dos julgadores foi realizada utilizando o software Compusense five – release 3.0 (1998).

As análises foram feitas nos tempos do 1º, 10º, 20º e 30º dia após as análises microbiológicas. Foi aplicado o teste de aceitação com o uso da escala hedônia com nove pontos, conforme descrito por Chaves (1993).

As análises foram realizadas em cabines com luz branca e as amostras foram submetidas ao teste em temperatura ambiente apresentadas individualmente em formatos de cubos em pratos brancos de porcelana. O provador expressou sua aceitação seguindo a escala previamente estabelecida que varia gradativamente, com base nos atributos gosta e desgosta (Figura 3).

Assinale com x a resposta que seja mais adequada.

Sexo
 1) () Masculino 2) () Feminino

Idade em anos.
 1) () 15 – 20 2) () 21 – 25 3) () 26 – 30 4) () 31 – 35 5) () 36 – 40 6) () 41 – 45 7) ()
 + que 45

Qual a frequência que você consome queijo minas frescal?
 1) () diariamente 2) () quinzenalmente 3) () mensalmente 4) () anualmente 5) () nunca

No dia que você consome qual a frequência de consumo de queijo minas frescal.
 1) () 1 vez 2) () 2 vezes 3) () 3 vezes 4) () mais que 3 vezes.

Quanto você consumo de queijo minas frescal por vez ?
 1) () 1 fatia () 2 fatias média () 3 a 5 fatias () mais de 5 fatias

Instruções: Avalie a amostra utilizando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou e desgostou.
 Marque a nota que melhor corresponde o seu julgamento.

9 – gostei extremamente
 8 – gostei muito
 7 – gostei moderadamente
 6 – gostei ligeiramente
 5 – não gostei / nem desgostei
 4 – desgostei ligeiramente
 3 – desgostei moderadamente
 2 – desgostei muito
 1 – desgostei extremamente

O que você achou do produto da aparência geral do produto _____
 O que você achou da cor do produto _____
 O que você achou do odor do produto _____
 O que você achou do sabor do produto _____
 O que você achou da textura do produto _____

Figura 3-Ficha de avaliação sensorial apresentada aos provadores.

Os provadores foram adultos selecionados aleatoriamente em número de 264 (40 julgadores analisando 12 amostras) com faixa etária na sua maioria entre 20 a 50 anos, sem restrição de sexo e manifestando seu consentimento assinando o termo de livre consentimento e esclarecido conforme a Resolução 196/96 do Conselho Nacional da Saúde (BRASIL, 2003). Os atributos avaliados foram aparência geral, cor, odor, sabor e textura.

4.5 Análises estatísticas

O delineamento experimental para as amostras foi inteiramente casualizado, com 4 repetições para todas as análises. Os dados foram submetidos à análise de variância do programa SAS versão 8.0 (SAS, 1988), e as diferenças entre as médias foram testadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Para análise sensorial foi usado o teste de independência. Foram feitas tabelas de contingência para cada cruzamento das variáveis estudadas aplicando a análise estatística do χ^2 (Qui-quadrado) de Pearson para interferência (ANDERSEN, 1991; GRENACRE, 1993).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Seleção do queijo Minas frescal

A primeira fase consistiu em selecionar uma marca de queijo que atendesse aos requisitos microbiológicos previstos em BRASIL (2001), visto que os queijos seriam submetidos à análise sensorial, além do que, o estudo de vida útil deve levar em conta uma população de microrganismos dentro dos padrões sanitários. Nessa fase, foram analisadas seis marcas de queijo Minas frescal escolhidas aleatoriamente em supermercados na cidade de Piracicaba-SP com registro no Serviço de Inspeção Federal - SIF e com no máximo 10 dias após fabricação. A Tabela 1 mostra que 83,33% (cinco marcas) apresentaram contagens de *Escherichia coli* $\geq 2,4 \times 10^3$ NMP/g ($\geq 3,38$ log NMP/g) valor acima do permitido pela legislação vigente (2,7 log NMP/g) (BRASIL, 2001) estando o produto impróprio para o consumo. Apenas uma marca (M6) teve contagem de *E. coli* ($< 3,0$ NMP/g) que se adequava aos padrões da legislação, sendo esta a marca de queijo selecionada para o estudo.

Tabela 1 – Contagem de *Escherichia coli* em queijo Minas frescal comercializados em supermercado do Município de Piracicaba/SP

	Marcas					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
<i>Escherichia coli</i> NMP/g	$\geq 2,4 \times 10^3$	$\geq 2,4 \times 10^3$	$\geq 2,4 \times 10^3$	$\geq 2,4 \times 10^3$	$\geq 2,4 \times 10^3$	$< 3,0$

Diversos trabalhos indicam que queijos do tipo Minas frescal no mercado são amplamente contaminados com populações de microrganismos acima do estabelecido pela legislação vigente (BRASIL, 2001). Rocha, Buriti e Saad (2006) encontraram uma população acima de 5×10^3 NMP/g (3,7 log) de *E. coli* em 61% dos queijos analisados. Paiva (2005) analisou 30 amostras comercializadas em supermercado e 47% estavam contaminadas por *E. coli*, com valores superiores aos limites previstos na legislação

vigente (BRASIL, 2001). Da mesma forma Rosa (2004) que encontrou 3,3 log NMP/g de *E. coli* em queijo Minas frescal.

A quantidade de microrganismos presente no produto reflete diretamente a higiene na produção, da ordenha na fazenda até a fabricação do queijo. A vida de prateleira do queijo Minas frescal está relacionada com a quantidade inicial de microrganismos presentes, matéria-prima e o processo de produção.

5.2 Análises microbiológicas

Uma vez selecionada a marca, o queijo foi adquirido direto do laticínio, imediatamente após a produção o produto foi submetido ao estudo da vida útil. Os resultados das análises microbiológicas dos queijos são mostrados na Tabela 2. Os produtos apresentaram-se próprios para consumo durante todo o período, exceto o lote C, o qual no 30º dia de armazenamento a contagem de *E. coli* atingiu $1,7 \times 10^4$ NMP/g, enquadrando-se como imprópria para o consumo conforme Resolução Colegiada (RDC) nº12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2001).

Tabela 2 – Evolução da população dos microrganismos previstos pela RDC nº12 em queijo Minas frescal¹ durante 30 dias de armazenamento a 4°C.

	Lotes	1º dia	10º dia	20º dia	30º dia
<i>Escherichia coli</i> NMP/g (log NMP/g)	A	< 3,0 (<0.48)	< 3,0 (<0.48)	< 3,0 (<0.48)	< 3,0 (<0.48)
	B	< 3,0 (<0.48)	< 3,0 (<0.48)	< 3,0 (<0.48)	< 3,0 (<0.48)
	C	< 3,0 (<0.48)	6,0 (0,63)	< 3,0 (<0.48)	$1,66 \times 10^4$ (4,22)
<i>Staphylococcus</i> coag. pos. UFC/g (log UFC/g)	A	<10,0	<10,0	<10,0	<10,0
	B	<10,0	<10,0	<10,0	<10,0
	C	<10,0	<10,0	<10,0	<10,0
<i>Salmonella sp./</i> 25 g	A	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
	B	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
	C	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência

¹ Resultados expressos em médias de duas peças de queijo, para amostras analisadas em duplicatas.

Observa-se na Tabela 2 que o lote C de queijo teve presença de *E. coli* detectada no 10º dia de armazenamento com população reduzida (6,0 NMP/g). Visto que o limite da metodologia do número mais provável (NMP) empregado é de 3,0 NMP/g, populações abaixo disso não seriam detectados. Essa contagem elevada no 30º dia pode representar proliferação do microrganismo durante a estocagem, ainda que sob refrigeração. Rosa (2004), também verificou crescimento de *E. coli* em queijos sob refrigeração. Portanto é possível que a população aumente no decorrer do tempo em temperatura a 4°C.

Conforme resultados apresentados, o produto poderá tornar-se impróprio para consumo conforme seu tempo de armazenamento sob refrigeração. Neste caso foi controlada devidamente a temperatura de conservação (4°C) fato que em supermercados pode não ocorrer, o que determinará a redução de vida útil do produto, pois a população poderia crescer mais rapidamente e atingir um número de microrganismos suficiente extrapolando os limites dos padrões microbiológicos. Vários trabalhos apontam altos índices de contaminação dos queijos Minas frescal encontrados em supermercados e indústrias de laticínios, o que causa preocupação ao consumidor. Carvalho, Viotto e Kuaye (2007) avaliaram 97 amostras de queijo Minas frescal vendidos na cidade de Campinas – SP encontrando 29% das amostras com contagem de coliformes de origem fecal e 12,9% com *Staphylococcus* coagulase positiva, ambos acima do padrão estabelecido pela legislação vigente. Numa indústria de laticínio Lisita (2005) encontrou população de $1,1 \times 10^8$ NMP/g de coliformes de origem fecal e $< 10,0$ UFC/g de *Staphylococcus* coagulase positiva. A ausência de *Salmonella* sp. no presente trabalho não é rara, Ávila e Gallo (1996) e Carvalho, Viotto e Kuaye (2007) também não verificaram a ocorrência de *Salmonella* sp. em queijo Minas frescal vendido em diferentes estabelecimentos na região de São Paulo. Os resultados mostrados na Tabela 2 reforçam a necessidade de aplicação de boas práticas higiênicas na produção do queijo Minas. Apesar do produto atender à legislação vigente no momento em que é colocado no mercado, a presença dos microrganismos limitados/tabelados pela ANVISA poderá tornar o produto impróprio para o consumo no decorrer do tempo devido ao desenvolvimento de patógenos. Isto ocorrerá tanto mais cedo quanto maior for à população inicial.

A Tabela 3 mostra o desenvolvimento das bactérias mesófilas e seu desenvolvimento durante o período de armazenamento sob refrigeração dos três lotes.

Tabela 3 – Evolução da população de bactérias mesófilas em queijo Minas frescal¹ durante 30 dias de armazenamento a 4°C entre três lotes diferentes.

Mesófilas totais – log UFC/g				
Lote	1º dia	10º dia	20º dia	30º dia
A	3,59 ± 0,28 ^a	7,02 ± 0,38 ^b	8,57 ± 0,50 ^c	11,40 ± 0,85 ^d
B	2,75 ± 0,19 ^a	6,48 ± 0,38 ^b	9,28 ± 0,12 ^c	11,62 ± 0,58 ^d
C	4,91 ± 0,21 ^a	7,09 ± 0,76 ^b	9,34 ± 1,47 ^c	11,40 ± 0,27 ^d
Média	3,75 ± 1,09 ^a	6,86 ± 0,33 ^b	9,06 ± 0,428 ^c	11,47 ± 0,127 ^d

¹ Resultados relativos à média ± desvio padrão de duas peças de queijo para amostras analisadas em duplicatas nos dias 1, 10, 20 e 30 após o dia de fabricação.

^{a, b, c} Médias seguidas de diferentes letras nas linhas diferem estatisticamente pelo teste de Tuckey ao nível de significância 5%.

Observou-se que a contagem de microrganismos mesófilos totais aumentou constantemente em média de 2,57 log UFC/g, a cada período de amostragem. O grande aumento desta população no decorrer de 30 dias sob refrigeração mostra a possibilidade da deterioração do produto, alterando suas propriedades físico-químicas e sensoriais ocasionando a redução de sua vida de prateleira (Figura 4). A presença destes microrganismos tem sido usada como indicador da qualidade higiênica dos alimentos, fornecendo idéia sobre seu tempo útil de conservação e a quantidade de microrganismos patogênicos presentes (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 2001; JAY, 1994). Rosa (2004) analisou o queijo fresco e encontrou população de mesófilos de 6,48 log UFC/g e Lisita (2005) avaliando a linha de produção de queijo Minas frescal em um laticínio encontrou no leite pasteurizado 4,75 log UFC/g e 9,45 log UFC/g no queijo antes da salga. Picoli et al. (2006) avaliando a qualidade do queijo Minas frescal de leite de cabra armazenado por 14 dias acompanhou a evolução destas bactérias e observou sua redução de $6,23 \times 10^9$ UFC/g no primeiro dia para $3,5 \times 10^3$ UFC/g no 14º dia o que não foi confirmado (Tabela 3). Manolopoulou et al. (2003) trabalhando com queijo feta, um queijo fresco de origem grega, obtiveram uma evolução das bactérias mesófilas de

5,18 log UFC/g a 9,35 log UFC/g durante um período de 16 dias. A contagem elevada destes microrganismos pode ocasionar a deterioração do alimento.

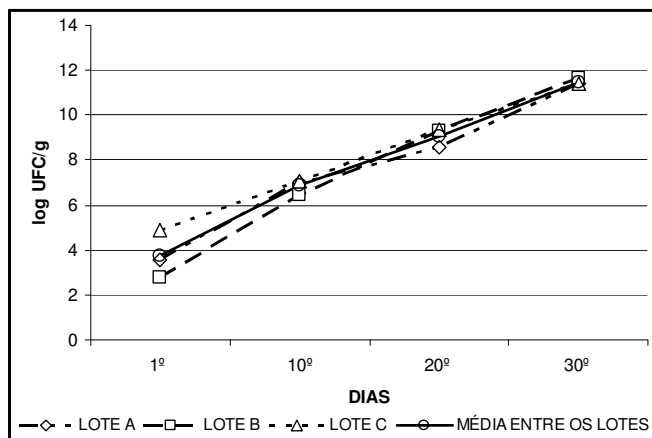


Figura 4 – Evolução da população de bactérias mesófilas no queijo Minas frescal durante o período de 30 dias.

O comportamento das bactérias lácticas nas amostras de queijo é mostrado na Tabela 4.

Tabela 4 – Evolução da população de bactérias lácticas em queijo Minas frescal¹ durante 30 dias de armazenamento a 4°C entre três lotes diferentes.

Bactérias lácticas – log UFC/g				
Lote	1º dia	10º dia	20º dia	30º dia
A	2,52 ± 0,24 ^a	6,3 ± 0,86 ^a	7,62 ± 0,70 ^b	7,65 ± 0,07 ^c
B	3,04 ± 0,42 ^a	6,14 ± 0,57 ^b	7,9 ± 0,19 ^c	11,14 ± 0,24 ^d
C	4,88 ± 0,49 ^a	5,34 ± 0,25 ^b	6,40 ± 0,25 ^c	9,79 ± 0,34 ^c
Média	3,48 ± 1,24 ^a	5,93 ± 0,51 ^{ab}	7,31 ± 0,80 ^{bc}	9,53 ± 1,80 ^c

¹ Resultados relativos à média ± desvio padrão de duas peças de queijo para amostras analisadas em duplicatas nos dias 1, 10, 20 e 30 após o dia de fabricação.

^{a, b, c} Médias seguidas de diferentes letras nas linhas diferem estatisticamente pelo teste de Tuckey ao nível de significância 5%.

Analisando as médias dos lotes percebe-se o crescimento da população das bactérias lácticas no período de armazenamento, cuja contagem aumentou 6,05 log UFC/g entre o 1º e o 30º dia (Figura 5), embora a dispersão dos valores das contagens tenha sido grande nos diferentes lotes.

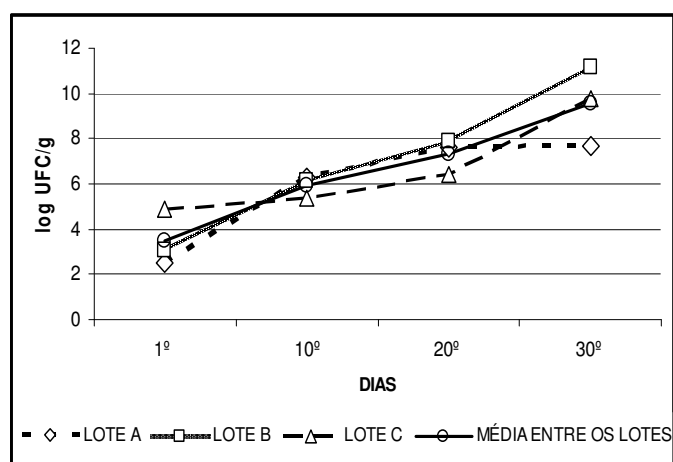


Figura 5 – Evolução da população de bactérias lácticas no queijo Minas frescal durante o período de 30 dias.

A evolução da população das bactérias lácticas durante este período foi suficientemente elevada e poderia produzir alterações físico-químicas e sensoriais no produto, reduzindo sua vida útil. A quantidade de bactérias lácticas encontrada foi próximo aos valores encontrados nos trabalhos de Buriti, Rocha e Saad (2005) e Rocha, Buriti e Saad (2006), os quais avaliaram o comportamento das bactérias lácticas em queijo Minas frescal de sete diferentes marcas durante a vida útil por 21 dias, onde seis marcas apresentaram uma população média final de aproximadamente 8,0 log UFC/g não apresentando crescimento com o passar dos dias. Manolopoulou et al. (2003) durante período de 16 dias trabalhando com queijo feta detectaram aumento da população de bactérias lácticas do gênero *Leuconostoc* de 3,76 log UFC/g a 9,97 log UFC/g. Esses dados são similares aos encontrados (Tabela 4).

A presença das bactérias lácticas pode ter sua origem a partir do leite destinado à produção do queijo ou pela adição de cultura láctica durante o processamento do produto. O seu crescimento ocasiona o aumento da acidez pelo fato de fermentarem a

lactose e formarem ácido láctico. A acidez em queijo Minas frescal é considerada benéfica por inibir o crescimento de microrganismos patogênicos. O presente trabalho mostra quantidades baixas dos microrganismos patogênicos controlados pela legislação vigente (BRASIL, 2001).

Tabela 5 – Evolução da população de bactérias psicrotróficas totais, lipolíticas e proteolíticas em queijo Minas frescal¹ durante 30 dias de armazenamento a 4°C entre três lotes.

Psicrotróficos totais – log UFC/g				
Lote	1º dia	10º dia	20º dia	30º dia
A	2,52 ± 0,33 ^d	8,09 ± 0,20 ^c	9,69 ± 0,31 ^b	11,07 ± 0,73 ^a
B	2,66 ± 0,44 ^d	7,19 ± 0,14 ^c	10,08 ± 0,76 ^b	11,46 ± 0,09 ^a
C	4,20 ± 0,57 ^d	7,93 ± 0,90 ^c	10,47 ± 0,37 ^b	12,37 ± 0,34 ^a
Média	3,13 ± 0,93 ^c	7,74 ± 0,4 ^b	10,08 ± 0,39 ^a	11,63 ± 0,67 ^a
Psicrotróficos lipolíticos – log UFC/g				
Lote	1º dia	10º dia	20º dia	30º dia
A	2,30 ± 0,42 ^c	7,29 ± 0,38 ^b	8,20 ± 0,17 ^b	10,74 ± 0,84 ^a
B	2,00 ± 0,50 ^c	6,57 ± 0,47 ^b	9,23 ± 0,65 ^a	8,42 ± 0,82 ^a
C	1,82 ± 0,72 ^d	8,53 ± 0,39 ^c	10,04 ± 0,61 ^b	11,87 ± 0,35 ^a
Média	2,04 ± 0,24 ^b	7,46 ± 0,99 ^a	9,17 ± 0,92 ^a	10,34 ± 1,758 ^a
Psicrotróficos proteolíticos – log UFC/g				
Lote	1º dia	10º dia	20º dia	30º dia
A	2,08 ± 0,12 ^d	6,42 ± 0,30 ^c	8,22 ± 0,48 ^b	10,17 ± 0,44 ^a
B	1,00 ± 0,00 ^c	5,61 ± 0,13 ^b	7,56 ± 0,54 ^a	7,67 ± 0,26 ^a
C	2,04 ± 0,64 ^d	6,13 ± 0,70 ^c	8,94 ± 0,74 ^b	11,41 ± 0,44 ^a
Média	1,71 ± 0,61 ^c	6,05 ± 0,41 ^b	8,24 ± 0,69 ^{ab}	9,75 ± 1,90 ^a

¹ Resultados relativos à média ± desvio padrão de duas peças de queijo para amostras analisadas em duplicatas nos dias 1, 10, 20 e 30 após o dia de fabricação.

a, b, c Médias seguidas de diferentes letras nas linhas diferem estatisticamente pelo teste de Tuckey ao nível de significância 5%.

Buriti, Rocha e Saad, (2005) estudaram o efeito do crescimento de bactérias lácticas sobre as características físico-químicas e sensoriais do queijo Minas frescal durante 21 dias armazenados a 5°C e verificaram a redução significativa do pH, mesmo quando as contagens das bactérias lácticas permaneceram constantes de 8,45 a 8,93 log UFC/g com o passar dos dias, o qual não ocorreu no presente trabalho como será visto posteriormente.

A Tabela 5 mostra o crescimento gradativo dos microrganismos psicotróficos durante o 1º, 10º, 20º e 30º dia de armazenamento.

As Figura 6, 7 e 8 ilustram a evolução das bactérias psicotróficas totais, bactérias psicotróficas lipolíticas e as bactérias psicotróficas proteolíticas onde ocorreu aumento médio da população bacteriana de 8,50, 8,30 e 8,04 log UFC/g respectivamente entre o 1º e o 30º dia de armazenamento.

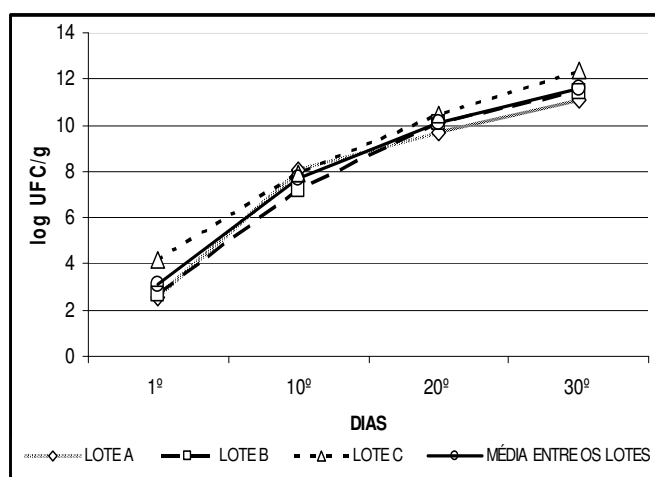


Figura 6 – Evolução da população das bactérias psicotróficas totais no queijo Minas frescal durante o período de 30 dias.

Rosa (2004) encontrou em queijo Minas frescal população de 7,09 log UFC/g de bactérias psicotróficas aeróbias totais, valor que é próximo a 6,49 log UFC/g encontrado por Lisita (2005) e semelhantes aos valores mostrados na Tabela 7 obtidos no presente trabalho.

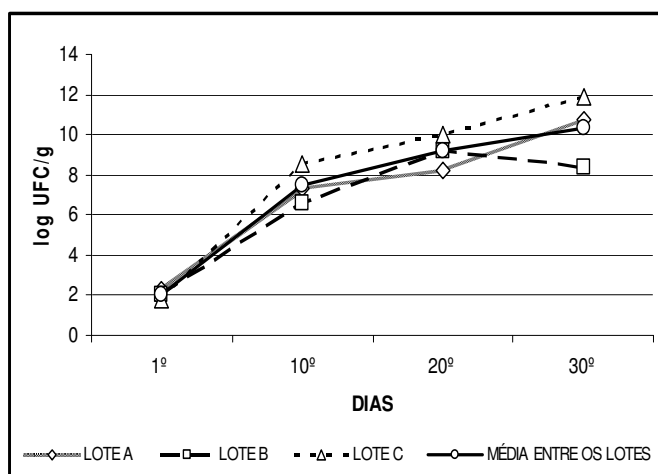


Figura 7 – Evolução da população das bactérias psicrotróficas lipolíticas no queijo Minas frescal durante o período de 30 dias.

No trabalho realizado por Lafarge et al., (2004) observaram em leite cru refrigerado armazenado por 24 horas a 4°C o crescimento de bactérias do gênero *Listeria*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Aeromonas* entre outros microrganismos. O comportamento destes microrganismos assemelha-se aos encontrados no queijo armazenado a 4° C no período de 30 dias (Figuras 6, 7 e 8).

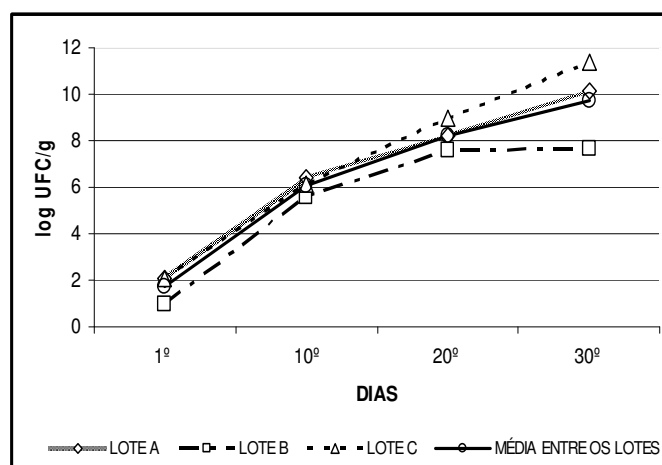


Figura 8 – Evolução da população das bactérias psicrotróficas proteolíticas no queijo Minas frescal durante o período de 30 dias.

O aumento da população de microrganismos psicrotróficos é justificado pela característica desses microrganismos crescerem em temperaturas de 2º a 7ºC. Estes microrganismos produzem enzimas extracelulares (lipases e proteases), as quais por reações bioquímicas, produzem compostos alterando o produto e limitando a vida útil (MOURA, 1997; FRANK; CHRISTEN; BULLERMAN, 2005). Geralmente o alto nível de bactérias psicrotróficas contribui com quantidade suficiente de proteases e lipases para causarem a quebra das proteínas e gordura (BARBANO; MART; SANTOS, 2006). Os queijos foram armazenados a 4ºC, por esse motivo ocorreu o aumento desses microrganismos.

O desenvolvimento das bactérias psicrotróficas lipolíticas e proteolíticas durante o tempo de armazenamento reforça a idéia desses microrganismos influenciarem nas transformações bioquímicas do queijo, ocasionando mudanças de caráter químico e físico do produto mesmo este sob refrigeração, como constatado no presente trabalho a 4ºC no período de 30 dias.

Morales, Fernández-García e Nuñez (2005) identificaram 122 compostos voláteis (aldeídos, cetonas, ésteres, álcoois, hidrocarbonetos, compostos benzênicos e compostos sulfurosos) ao inocular população de 5,0 log UFC/g de bactérias do gênero *Pseudomonas* em queijo Minas frescal armazenados por 12 dias a 10ºC. Avaliando a qualidade do leite de cabra armazenado a 4ºC Raynal-Ljutovac, Gaborit e Lauret (2005) verificaram o aumento da população de bactérias psicrotróficas e sua contribuição com enzimas lipolíticas e proteolíticas resultando na degradação das proteínas e lipídios do leite.

5.3 Análises físico-químicas e químicas

O pH do queijo Minas frescal (Tabela 6) verificado durante o período de armazenamento teve uma redução gradativa com o passar dos dias, diferindo estatisticamente ao final do período de armazenamento em relação ao inicial. A redução de pH foi de 0,81 entre o 1º e o 30º dia. O mesmo comportamento teve a acidez do queijo (Tabela 7) com um aumento de 0,026% expresso em ácido láctico entre o 1º e o 30º dia com diferença significativa entre as médias ao nível de 5%.

Tabela 6 – Perfil do pH em queijo Minas frescal¹ durante 30 dias de armazenamento a 4°C entre três lotes diferentes.

Lote	pH			
	1º dia	10º dia	20º dia	30º dia
A	6,54 ± 0,00 ^a	6,20 ± 0,18 ^a	5,96 ± 0,30 ^{ab}	5,6 ± 0,14 ^b
B	6,64 ± 0,13 ^a	6,42 ± 0,32 ^a	6,31 ± 0,44 ^a	6,14 ± 0,53 ^a
C	6,81 ± 0,07 ^a	5,88 ± 0,28 ^a	6,68 ± 0,14 ^b	5,82 ± 0,02 ^b
Média	6,66 ± 0,14 ^a	6,17 ± 0,27 ^{ab}	6,31 ± 0,37 ^{ab}	5,85 ± 0,27 ^b

¹ Resultados relativos à média ± desvio padrão de duas peças de queijo para amostras analisadas em duplicatas nos dias 1, 10, 20 e 30 após o dia de fabricação.

^{a, b, c} Médias seguidas de diferentes letras nas linhas diferem estatisticamente pelo teste de Tuckey ao nível de significância 5%.

Saboya et al. (1998) determinaram o pH e a acidez titulável em queijo Minas frescal no período de 21 dias armazenado a temperatura de 8°C e observaram que o pH (5,28) e a porcentagem de ácido láctico (0,84%) não apresentaram diferença estatística significativa com o passar dos dias. Buriti, Rocha e Saad (2005) em estudo semelhante encontraram variação do pH de 6,16 a 5,38 (redução de 0,78) entre o 1º dia e o 21º dia de armazenamento e acidez titulável em ácido láctico de 0,185% a 0,543%.

Tabela 7 – Perfil da porcentagem de acidez expressa em ácido láctico em queijo Minas frescal¹ durante 30 dias de armazenamento a 4°C entre três lotes diferentes.

Lote	Acidez - % de ácido láctico			
	1º dia	10º dia	20º dia	30º dia
A	0,031 ± 0,01 ^c	0,048 ± 0,01 ^b	0,062 ± 0,01 ^{ab}	0,066 ± 0,01 ^a
B	0,052 ± 0,00 ^b	0,055 ± 0,01 ^b	0,062 ± 0,01 ^{ab}	0,072 ± 0,01 ^a
C	0,050 ± 0,00 ^c	0,062 ± 0,01 ^b	0,072 ± 0,01 ^a	0,072 ± 0,01 ^a
Média	0,044 ± 0,01 ^b	0,055 ± 0,01 ^{ab}	0,065 ± 0,01 ^a	0,07 ± 0,00 ^a

¹ Resultados relativos à média ± desvio padrão de duas peças de queijo para amostras analisadas em duplicatas nos dias 1, 10, 20 e 30 após o dia de fabricação.

^{a, b, c} Médias seguidas de diferentes letras nas linhas diferem estatisticamente pelo teste de Tuckey ao nível de significância 5%.

Obteve-se no presente estudo valores médios de pH e ácido láctico de 6,25 e 0,059% respectivamente. Estes valores foram semelhantes ao pH (6,76) e acidez titulável (0,052%) encontrados por Marques e Oliveira (2004) em queijo Minas frescal armazenado por um período de 30 dias. Rosa (2004) apresentou resultados de 6,71 para pH e 0,28% de acidez em ácido láctico. Silva et al. (2003) encontraram valores de pH de 6,2 a 5,0 em queijo Minas frescal.

Cunha et al. (2002) observando a influência do fator da concentração do leite por ultrafiltração (2 retentado : 1 permeado) na composição do queijo Minas frescal obtiveram como resultado a redução do pH e aumento da acidez titulável (0,15% e 0,20%) durante o armazenamento do queijo no período de 30 dias, comportamento este igual ao avaliado (Tabela 6 e 7).

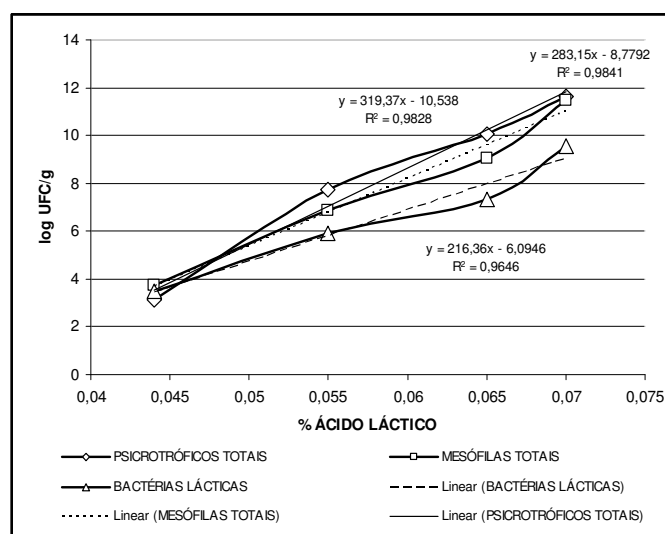


Figura 9 – Correlação linear entre o aumento de ácido láctico e o crescimento das bactérias psicotróficas totais, mesófilas totais e as bactérias lácticas

O aumento da acidez está diretamente relacionado com o aumento da população dos microrganismos mesófilos, psicotróficos e principalmente as bactérias lácticas que são os principais agentes na transformação da lactose em ácido láctico. Na Figura 9 é mostrado a relação entre o crescimento das bactérias lácticas, mesófilas e psicotróficas e o aumento da acidez do queijo Minas frescal armazenado por 30 dias a 4°C.

A acidez do queijo tende a aumentar de acordo com o crescimento dos microrganismos, no transcorrer do período de armazenamento, beneficiando o produto por inibir a microbiota patogênica (WOLFSCHOON-POMBO; LIMA, 1989). A acidez excessiva, contudo, pode prejudicar os aspectos sensoriais em queijos por produzir pronunciado sabor ácido descaracterizando o produto. No caso do queijo em estudo o aumento da acidez (Tabela 7) não teve influência no atributo sabor como mostrado posteriormente.

A Tabela 8 mostra o teor de gordura do queijo e a Tabela 9 a evolução da lipólise durante o período de armazenamento. A gordura do queijo não teve variação estatística significativa ao nível de 5% apresentando uma média de 21,25% no decorrer de 30 dias. Valores semelhantes a este foram encontrados por Rosa (2004) (20,5%). Furtado e Lourenço Neto (1994) encontraram 23% – 25% de gordura. Teores de 25,30% e 29,22% foram encontrados, respectivamente, por Spadoti, Dornellas e Roig (2005) e Machado et al. (2004), valores estes que variam pela não padronização do produto.

Tabela 8 – Teor de gordura (%) na base úmida em queijo Minas frescal¹ durante 30 dias de armazenamento a 4°C entre três lotes diferentes.

Lote	Gordura (%)- g /100g			
	1º dia	10º dia	20º dia	30º dia
A	22,25 ± 1,50 ^a	22,62 ± 1,03 ^a	22,25 ± 0,64 ^a	22,12 ± 0,25 ^a
B	20,25 ± 0,50 ^a	20,25 ± 0,64 ^a	19,5 ± 0,58 ^a	20,75 ± 0,96 ^a
C	21,25 ± 0,50 ^a	21,75 ± 0,50 ^a	20,5 ± 0,58 ^a	21,5 ± 1,00 ^a
Média	21,25 ± 1,00 ^a	21,55 ± 1,21 ^a	20,75 ± 1,39 ^a	21,46 ± 0,69 ^a

¹ Resultados relativos à média ± desvio padrão de duas peças de queijo para amostras analisadas em duplicatas nos dias 1, 10, 20 e 30 após o dia de fabricação.

^{a, b, c} Médias seguidas de diferentes letras nas linhas diferem estatisticamente pelo teste de Tuckey ao nível de significância 5%.

Fonseca (2006) verificou decréscimo de até 0,3% de gordura em leite de cabra armazenado a 4º C, atribuindo à ação de bactérias lipolíticas. No presente trabalho não foi possível perceber a redução da gordura, embora tenha sido detectado aumento da

população de bactérias lipolíticas (Tabela 4) e aumento da lipólise (Tabela 9), mas ao contrário do leite que tem por volta de 3,4% de gordura, o queijo estudado possui quantidade mais elevada de gordura (média de 21,46%). O método de Babcock exigiria uma lipólise muito acentuada para poder ser detectada a redução da gordura.

A lipólise foi determinada para quantificar a evolução dos ácidos graxos livres presentes segundo método de Caboni, Zanoni e Lercker (1990) (expresso em mg de KOH para neutralizar um grama de gordura) no queijo no período de 30 dias, a qual ocorreu progressivamente, conforme a Tabela 9.

Tabela 9 – Perfil da lipólise em queijo Minas frescal¹ durante 30 dias de armazenamento a 4°C entre três lotes diferentes.

Lipólise - mg KOH para neutralizar um grama de gordura				
Lote	1º dia	10º dia	20º dia	30º dia
A	0,8 ± 0,03 ^a	0,91 ± 0,09 ^a	0,96 ± 0,16 ^a	1,01 ± 0,17 ^a
B	0,8 ± 0,04 ^a	0,92 ± 0,12 ^a	0,96 ± 0,08 ^a	0,85 ± 0,09 ^a
C	0,74 ± 0,08 ^c	0,93 ± 0,02 ^b	0,98 ± 0,04 ^b	1,15 ± 0,09 ^a
Média	0,78 ± 0,03 ^b	0,917 ± 0,01 ^{ab}	0,97 ± 0,01 ^{ab}	1,00 ± 0,15 ^a

¹ Resultados relativos à média ± desvio padrão de duas peças de queijo para amostras analisadas em duplicatas nos dias 1, 10, 20 e 30 após o dia de fabricação.

^{a, b, c} Médias seguidas de diferentes letras nas linhas diferem estatisticamente pelo teste de Tuckey ao nível de significância 5%.

Os resultados obtidos para a lipólise apresentaram diferença estatística significativa entre o 1º e o 30º dia de armazenamento mostrando que houve aumento dos ácidos graxos livres (0,22 mg KOH/g de gordura) com o passar dos dias. Esta evolução pode ser relacionada ao crescimento das bactérias psicrófilas lipolíticas, as quais produzem enzimas lipolíticas responsáveis em hidrolisar lipídios liberando ácidos graxos livres entre outros compostos voláteis. Nogueira, Lubachevsky e Rankin (2005) identificaram 54 compostos voláteis incluindo ácidos graxos (11), álcoois (14), aldeídos (5), cetonas (6), ésteres (7), terpenos (8) e lactonas (2) e concluíram que o perfil de compostos voláteis do queijo Minas frescal descreve uma complexidade microbiológica, enzimática e reações espontâneas.

Na Figura 10 é observada a evolução entre lipólise acompanhando o crescimento dos microrganismos psicrotróficos lipolíticos durante o período de 30 dias. Fonseca (2006) também observou o decréscimo do teor de gordura de até 0,2 % e o aumento gradativo de ácidos graxos livres juntamente com o crescimento de bactérias psicrotróficas lipolíticas em leite de cabra cru armazenado por seis dias a 4°C.

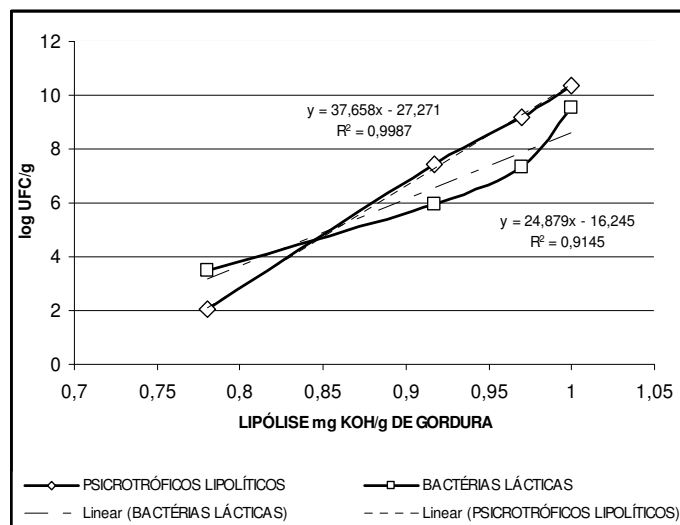


Figura 10 – Comparativo entre o aumento da lipólise e o crescimento das bactérias psicrotróficas lipolíticas e as bactérias lácticas verificados a cada dez dias (1º, 10º, 20º e 30º dia) armazenado a 4°C.

As bactérias lácticas são responsáveis pelas transformações bioquímicas de lipídios e proteínas em diferentes compostos desenvolvendo “flavor”, caracterizando o produto final quanto ao sabor, aroma e textura (Eskin, 1990). O crescimento destes microrganismos acompanhou o aumento da lipólise no queijo durante os 30 dias a 4°C podendo o produto apresentar alterações organolépticas (Figura 10).

Os ácidos graxos livres e ésteres derivados de ácidos graxos são importantes compostos que desenvolvem sabor em queijos. Evidentemente as esterases que provém de bactérias lácticas catalisam não somente a hidrólise de lipídios em glicerol e ácidos graxos, mas também sintetizam os ésteres em glicerídeos e álcoois pela via da reação pela transferase (HOLLAND et al., 2005).

A Tabela 10 mostra que a porcentagem média de proteína encontrada no queijo armazenado por 30 dias a 4°C variou de 21,29% a 22,10% não apresentando diferença estatística do 1º ao 30º dia. Spadoti, Dornellas e Roig (2005) e Machado et al. (2004) encontraram 18,02% e 17,06% de proteína em queijo Minas frescal respectivamente. Esta diferença aproximada de 4,0% de proteína entre os autores citados e o presente trabalho pode ser devido a não padronização do produto, a qualidade da matéria-prima ou pelo teor de umidade.

Tabela 10 – Perfil da porcentagem de proteína em queijo Minas frescal¹ durante 30 dias de armazenamento a 4°C entre três lotes diferentes.

Lote	Proteína (%) – g /100g			
	1º dia	10º dia	20º dia	30º dia
A	21,97± 0,18 ^a	21,76 ± 1,09 ^a	22,31 ± 1,20 ^a	22,65 ± 0,86 ^a
B	21,6 ± 1,17 ^a	20,2 ± 1,27 ^a	22,54 ± 1,10 ^a	21,51 ± 2,07 ^a
C	20,29 ± 1,08 ^a	22,6 ± 1,50 ^a	19,79 ± 0,21 ^a	22,13 ± 1,43 ^a
Média	21,29 ± 0,88 ^a	21,52 ± 1,22 ^a	21,55 ± 1,52 ^a	22,10 ± 0,57 ^a

¹ Resultados relativos à média ± desvio padrão de duas peças de queijo para amostras analisadas em duplicatas nos dias 1, 10, 20 e 30 após o dia de fabricação.

^{a, b, c} Médias seguidas de diferentes letras nas linhas diferem estatisticamente pelo teste de Tuckey ao nível de significância 5%.

As médias do nitrogênio total (Tabela 11) entre os dias de armazenamentos não diferiram estatisticamente entre o 1º e o 30º dia e apresentaram valores de 3,16% a 3,90% de nitrogênio total. Machado et al. (2004) encontraram 2,94% de nitrogênio total no queijo Minas artesanal do Serro.

A determinação de nitrogênio solúvel aumentou gradativamente no lote A e C no decorrer dos dias e teve diferença estatística significativa.

O nitrogênio solúvel e o nitrogênio não protéico estão diretamente relacionados com a degradação das proteínas (especialmente caseína) pela ação das enzimas do coalho ou por enzimas de microrganismos que originam em peptídeos de alto peso molecular, peptídeos de cadeia curta e aminoácidos.

Tabela 11 – Perfil da porcentagem de nitrogênio total, nitrogênio solúvel e nitrogênio não protéico em queijo Minas frescal¹ durante 30 dias de armazenamento a 4°C entre três lotes diferentes.

Nitrogênio total (%N) – g /100g				
Lote	1º dia	10º dia	20º dia	30º dia
A	3,50 ± 0,25 ^{ab}	4,07 ± 0,26 ^a	3,82 ± 0,65 ^{ab}	3,04 ± 0,24 ^b
B	3,08 ± 0,66 ^a	3,25 ± 0,72 ^a	3,44 ± 0,44 ^a	3,42 ± 0,38 ^a
C	3,27 ± 0,14 ^b	4,30 ± 0,71 ^a	4,44 ± 0,43 ^a	3,01 ± 0,10 ^b
Média	3,28 ± 0,21 ^a	3,87 ± 0,55 ^a	3,90 ± 0,50 ^a	3,16 ± 0,23 ^a
Nitrogênio solúvel (%NS) – g /100g				
Lote	1º dia	10º dia	20º dia	30º dia
A	ND	ND	0,23 ± 0,05 ^a	0,30 ± 0,00 ^b
B	ND	0,36 ± 0,05 ^a	0,23 ± 0,00 ^b	0,15 ± 0,09 ^b
C	0,19 ± 0,08 ^b	0,23 ± 0,09 ^b	0,42 ± 0,40 ^a	0,39 ± 0,00 ^a
Média	-	-	0,29 ± 0,11 ^a	0,28 ± 0,10 ^a
Nitrogênio não protéico (%NP) – g /100g				
Lote	1º dia	10º dia	20º dia	30º dia
A	ND	0,15 ± 0,00 ^a	0,13 ± 0,06 ^a	ND
B	ND	0,08 ± 0,00 ^b	0,09 ± 0,00 ^a	ND
C	ND	ND	ND	ND
Média	-	-	-	-

¹ Resultados relativos à média ± desvio padrão de duas peças de queijo para amostras analisadas em duplicatas nos dias 1, 10, 20 e 30 após o dia de fabricação.

a, b, c Médias seguidas de diferentes letras nas linhas diferem estatisticamente pelo teste de Tuckey ao nível de significância 5%.

O resultado das análises do nitrogênio não protéico (NNP) no queijo durante o período de armazenamento por 30 dias a 4°C não foi satisfatório. Os resultados obtidos nos diferentes lotes não tiveram comportamento linear e não demonstraram mudanças químicas significativas ocorridas durante o período de armazenamento. A justificativa para tais resultados pode estar relacionada com a sensibilidade do método escolhido (GRIPON et al., 1975) em não detectar pequenas quantidades de nitrogênio referente a

pequenas alterações, por ser analisado amostras de peças de queijo diferentes no decorrer dos dias ou mesmo pela quantidade insuficiente (10 gramas) de amostra utilizada. Talvez seja recomendável em posteriores trabalhos usar de quantidade de queijo maior que descrito pelo método (GRIPON et al., 1975). Para quantificar o NNP em queijo Minas frescal Cunha et al. (2002) utilizaram a metodologia descrita pela AOAC (1995) e Machado et al. (2004) utilizaram a descrita pelo Center for Dairy Reserch da Univesity de Wisconsin (1988).

Machado et al. (2004) encontraram 0,27% nitrogênio não protéico em queijo Minas artesanal do Serro, valor superior ao encontrado no presente trabalho que variou de 0,09 a 0,15%, no entanto Cunha et al. (2002) em queijo Minas frescal produzido com fator de concentração (2 retentado:1 permeado) encontraram 0,094% de NNP valor próximo ao mostrado na Tabela 11. A variedade do queijo e o processo de fabricação do produto também podem influenciar na detecção e evolução da proteólise.

A Tabela 12 mostra o índice de extensão da hidrólise do queijo durante o período de 30 dias armazenado a 4°C.

Tabela 12 – Perfil do índice de extensão da hidrólise em queijo Minas frescal¹ durante 30 dias de armazenamento a 4°C entre três lotes diferentes.

Índice de extensão - % nitrogênio				
Lote	1º dia	10º dia	20º dia	30º dia
A	ND	ND	6,40 ± 2,48 ^b	9,91 ± 0,79 ^a
B	ND	10,18 ± 1,67 ^a	6,71 ± 0,25 ^b	4,30 ± 2,22 ^b
C	5,72 ± 2,67 ^{bc}	5,40 ± 2,39 ^c	9,66 ± 1,67 ^{ab}	12,98 ± 0,43 ^a
Média	-	-	7,59 ± 1,80 ^a	9,06 ± 4,40 ^a

¹ Resultados relativos à média ± desvio padrão de duas peças de queijo para amostras analisadas em duplicatas nos dias 1, 10, 20 e 30 após o dia de fabricação.

^{a, b, c} Médias seguidas de diferentes letras nas linhas diferem estatisticamente pelo teste de Tuckey ao nível de significância 5%.

O índice de extensão da hidrólise apresentado no lote A não foi detectado no 1º e 10º dia de armazenamento já no 20º dia o valor encontrado foi de 6,40% que diferiu

estatisticamente do 30º dia que aumentou para 9,91%. No lote C o índice de extensão diferiu entre si de forma crescente entre os dias de armazenamento exceto o 1º dia que mostrou ter 0,32% a mais em relação ao 10º dia de armazenamento entre o 10º, 20º e 30º dia a diferença foi de 4,26% e 3,32% respectivamente. O lote B reduziu gradativamente o índice de extensão entre o 10º e o 30º dia com diferença de 5,88%.

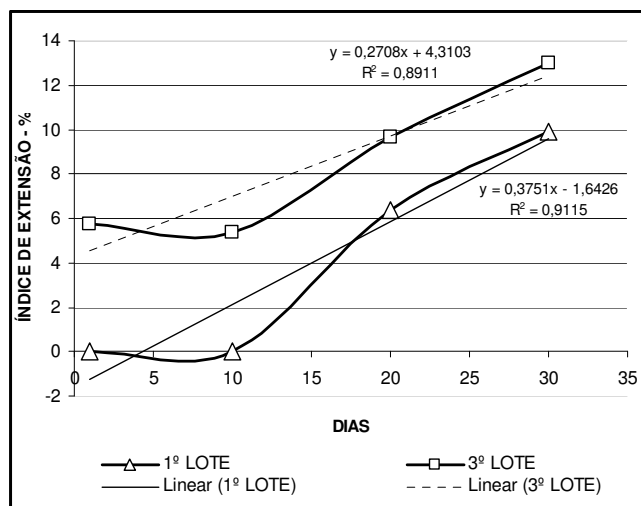


Figura 11 – Correlação linear do Índice de extensão da hidrólise verificado a cada dez dia (1º, 10º, 20º e 30º dia) armazenado a 4ºC referente aos lotes A e C.

Considerando os valores obtidos nos lotes A e C (Tabela 12) Saboya et al. (1998) encontraram valores próximos ao observarem a evolução do índice de proteólise de 7,59% a 13,03% num período de 21 dias em queijo Minas frescal. Da mesma forma Isepon e Oliveira (1993) encontraram 4,99% no primeiro dia de armazenamento e de 10,71% após 13º dia.

O índice de extensão está relacionado com as proteinases naturais do leite e do agente coagulante, as quais degradam as proteínas em peptídeos de alto peso molecular (ANDREATA, 2006). Na Figura 11 é observado a evolução do índice de extensão da hidrólise durante o tempo de armazenamento entre os lotes A e C. Esta evolução pode estar relacionada com a ação da enzima renina originária do coalho que continua seu processo de hidrólise nas proteínas presentes no queijo com o passar dos dias podendo provocar alterações organolépticas.

5.4 Análise sensorial

Nas Tabelas 13, 14 e 15 foi utilizado o teste do Qui-quadrado para verificar a frequência com que cada amostra foi escolhida pelos provadores em comparação aos valores esperados. Em todos os atributos avaliados durante o período de 30 dias (1º, 10º, 20º e 30º) nos três lotes o número de citações não teve diferença significativa ao nível de 1% e 5%.

Tabela 13 – Distribuição dos atributos aparência, cor, odor, sabor e textura segundo a escala hedônica (CHAVES e SPROESSER, 1993) do queijo Minas frescal durante 30 dias de armazenamento a 4°C do lote A.

Atributos	Escala									P(X) ²
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Aparência	Valores observados para a escala ⁴									
1º dia		2	1	2	2	3	13	15	2	
10º dia					2	6	13	19		
20º dia			1	1	2	7	11	15	3	Obs = 15,9 ³
30º dia			1	3	2	3	16	13	3	Tab 5% = 36,4 Tab 1% = 43,0
Valores esperados		1	1	2	2	5	13	16	2	
Cor	Valores observados para a escala									
1º dia			3		4	4	7	19	3	
10º dia	1				3	4	8	21	3	
20º dia				1	3	4	9	20	3	Obs = 9,2 ³
30º dia			1	1	2	4	6	21	5	Tab 5% = 36,4 Tab 1% = 43,00
Valores esperados			1	1	3	4	8	20	4	
Odor	Valores observados para a escala									
1º dia			1		12	3	9	10	5	
10º dia				2	10	4	10	12	2	
20º dia			1	1	8	6	10	12	2	Obs = 10,5 ³
30º dia	1			1	7	7	11	11	2	Tab 5% = 36,4 Tab 1% = 43,0
Valores esperados			1	1	9	5	10	11	3	
Sabor	Valores observados para a escala									
1º dia			1			8	11	14	6	
10º dia			1		1	6	12	14	6	
20º dia				1	4	7	9	16	3	Obs = 26,3 ³
30º dia			1	4	4	3	10	17	1	Tab 5% = 36,4 Tab 1% = 43,
Valores esperados			1	1	2	6	11	15	4	
Textura	Valores observados para a escala									
1º dia	1	2		6	2	2	7	16	4	
10º dia				3	3	2	11	17	4	
20º dia	1	1	1	2	3	6	8	14	4	Obs = 14,0 ³
30º dia				3	1	5	11	16	4	Tab 5% = 36,4 Tab 1% = 43,0
Valores esperados	1	1		4	2	4	9	16	4	

³Valor significante ao nível 1% e 5% pelo teste do Qui-quadrado.

⁴Citações feitas pelos 40 julgadores para cada ponto da escala.

Tabela 14 – Distribuição dos atributos aparência, cor, odor, sabor e textura segundo a escala hedônica (CHAVES e SPROESSER, 1993) do queijo Minas frescal durante 30 dias de armazenamento a 4°C do lote B.

Atributos	Escala									P(X) ²
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Aparência	Valores observados para a escala ⁴									
1º dia		2		1	2	3	14	16	2	Obs = 14,1 ³ Tab 5% = 36,4 Tab 1% = 43,0
10º dia				1	1	7	11	17	3	
20º dia		1	1	1	3	5	10	16	3	
30º dia			1	1	1	1	16	18	2	
Valores esperados		1	1	1	2	4	13	17	3	
Cor	Valores observados para a escala									
1º dia		1	1	2		3	10	18	5	Obs = 16,1 ³ Tab 5% = 36,4 Tab 1% = 43,0
10º dia					2	6	8	20	4	
20º dia		1	1	3	1	2	7	23	2	
30º dia				2	1	2	10	23	2	
Valores esperados		1	1	2	1	3	9	21	3	
Odor	Valores observados para a escala									
1º dia		2		2	11	1	8	11	5	Obs = 27,5 ³ Tab 5% = 36,4 Tab 1% = 43,0
10º dia				2	12	6	6	12	2	
20º dia			1	2	5	6	14	9	3	
30º dia		2	1	5	2	3	11	11	5	
Valores esperados		1	1	3	8	4	10	11	4	
Sabor	Valores observados para a escala									
1º dia			1	2	2	1	11	17	6	Obs = 12,4 ³ Tab 5% = 36,4 Tab 1% = 43,0
10º dia						7	12	16	5	
20º dia		1	1		2	6	12	15	3	
30º dia			1	1	2	4	13	13	6	
Valores esperados			1	1	2	5	12	15	5	
Textura	Valores observados para a escala									
1º dia	1		2	1	2	1	9	20	4	Obs = 16,5 ³ Tab 5% = 36,4 Tab 1% = 43,0
10º dia			1		2	4	7	22	4	
20º dia		1	2	1	1	4	12	14	5	
30º dia		1		2	3	3	9	14	8	
Valores esperados		1	1	1	2	3	9	18	5	

³Valor significativo ao nível 1% e 5% pelo teste do Qui-quadrado.

⁴Citações feitas pelos 40 julgadores para cada ponto da escala.

Tabela 15 – Distribuição dos atributos aparência, cor, odor, sabor e textura segundo a escala hedônica (CHAVES e SPROESSER, 1993) do queijo Minas frescal durante 30 dias de armazenamento a 4°C do lote C.

Atributos	Escala									P(X) ²
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Aparência	Valores observados para a escala ⁴									
1º dia	1	2				1	5	29	2	
10º dia				1	1	3	12	19	4	
20º dia				2		5	11	20	2	
30º dia										Obs = 14,5 ³ Tab 5% = 26,3 Tab 1% = 32,0
Valores esperados		1		1		3	9	23	3	
Cor	Valores observados para a escala									
1º dia	1	1	1		2		5	23	7	
10º dia				3	1	1	8	18	9	
20º dia				2	4	5	7	18	4	
30º dia										Obs = 25,9 ³ Tab 5% = 26,3 Tab 1% = 32,0
Valores esperados				2	2	2	7	20	7	
Odor	Valores observados para a escala									
1º dia	2			1	9	3	7	15	3	
10º dia				2	6	6	7	14	5	
20º dia			1	1	5	6	10	13	4	
30º dia										Obs = 7,9 ³ Tab 5% = 26,3 Tab 1% = 32,0
Valores esperados	1			1	7	5	8	14	4	
Sabor	Valores observados para a escala									
1º dia	1			1		3	6	17	12	
10º dia					2	2	9	19	8	
20º dia		1		1		4	9	18	7	
30º dia										Obs = 5,0 ³ Tab 5% = 26,3 Tab 1% = 32,0
Valores esperados				1	1	3	8	18	9	
Textura	Valores observados para a escala									
1º dia	1		1	2	1	6	7	17	5	
10º dia		1	2	1		3	8	16	8	
20º dia		1	3	2	1	5	6	16	6	
30º dia										Obs = 5,7 ³ Tab 5% = 26,3 Tab 1% = 32,0
Valores esperados		1	2	2	1	5	7	16	6	

³Valor significativo ao nível 1% e 5% pelo teste do Qui-quadrado.

⁴Citações feitas pelos 40 julgadores para cada ponto da escala.

De acordo com os valores observados o produto não teve alterações organolépticas percebidas pelos provadores no período de 30 dias mantendo-se na escala entre 7 e 8 correspondente ao gostei moderadamente e gostei muito.

Tabela 16 – Perfil da média dos atributos aparência, cor, odor, sabor e textura em queijo Minas frescal¹ durante 30 dias de armazenamento a 4°C entre os lotes A, B e C.

Atributos	Dias	Médias
Aparência	1 ^o	7,07 ± 0,30 ^a
	10 ^o	7,32 ± 0,12 ^a
	20 ^o	7,13 ± 0,17 ^a
	30 ^{o2}	7,12 ± 0,18 ^a
Cor	1 ^o	7,24 ± 0,22 ^a
	10 ^o	7,45 ± 0,15 ^a
	20 ^o	7,21 ± 0,10 ^a
	30 ^{o2}	7,41 ± 0,10 ^a
Odor	1 ^o	6,63 ± 0,08 ^a
	10 ^o	6,72 ± 0,26 ^a
	20 ^o	6,78 ± 0,15 ^a
	30 ^{o2}	6,62 ± 0,01 ^a
Sabor	1 ^o	7,47 ± 0,21 ^a
	10 ^o	7,57 ± 0,13 ^a
	20 ^o	7,23 ± 0,25 ^a
	30 ^{o2}	6,62 ± 0,01 ^a
Textura	1 ^o	6,94 ± 0,30 ^a
	10 ^o	7,31 ± 0,13 ^a
	20 ^o	6,91 ± 0,17 ^a
	30 ^{o2}	7,22 ± 0,02 ^a

¹Resultados relativos à média ± desvio padrão de 40 julgadores referente a três lotes analisados nos dias 1, 10, 20 e 30 após o dia de fabricação.

²Resultados relativos à média ± desvio padrão de 40 julgadores referente a dois lotes.

a, b, c Médias seguidas de diferentes letras nas colunas diferem estatisticamente pelo teste de Tuckey ao nível de significância 5%.

Avaliando as médias dos atributos aparência, cor, odor, sabor e textura pelo teste de Tukey (Tabela 16), verificou-se que o atributo aparência e cor referente aos dias de armazenados não tiveram diferença estatística significativa caracterizando-as na escala de “gostei moderadamente”. O atributo odor não diferiu significativamente ($p \leq 0,05$) entre si com o passar dos dias situando-se na escala “gostei ligeiramente”. As médias

apresentadas para sabor não variaram estatisticamente e mostraram entre o 1º e o 20º dia a escala de “gostei moderadamente” enquanto no 30º dia a escala foi de “gostei ligeiramente”. A textura mostrou-se não diferir estatisticamente entre as médias apresentando-se na escala “gostei moderadamente”.

As médias avaliadas nos atributos mostrados na Tabela 14 estão entre uma pontuação de 6,50 a 7,50 que indica que os provadores gostaram ligeiramente e gostaram moderadamente do produto respectivamente.

Os resultados obtidos no presente trabalho são próximos aos encontrados por Machado et al. (2004) e Andreatta (2006). Avaliando o queijo Minas artesanal na região do Serro, Machado et al. (2004) empregando a escala hedônia de aceitação de nove pontos encontrou média de 6,03, o que indica que os provadores gostaram ligeiramente do produto. Estudando a influência da quantidade de células somáticas em queijo Minas frescal Andreatta (2006) obteve uma aceitação global de 7,0 pontos no segundo dia de armazenamento a 4º-5ºC e 6,0 pontos no 30º dia de armazenamento sob refrigeração.

Os dados obtidos na análise demonstraram que embora tenham ocorrido alterações químicas e microbiológicas no período de 30 dias os mesmos não foram suficientes para provocar alterações sensoriais detectáveis pelos provadores.

6 CONCLUSÕES

- Um dos lotes estudados atendeu inicialmente os padrões microbiológicos, mas mesmo sob refrigeração a 4° C tornou-se impróprio para o consumo no 30º dia de armazenamento pelo excesso de *E. coli*, o que demonstra a necessidade de condições de higiene controladas na fabricação do produto para que o queijo possa atender aos padrões sanitários durante a totalidade da vida útil.
- As populações de microrganismos mesófilos, psicrotróficos totais, lipolíticos e proteolíticos, assim como a população de bactérias lácticas aumentou constantemente durante todo o período de armazenamento a 4°C.
- A acidez do queijo aumentou durante os 30 dias de armazenamento a 4°C apresentando correlação linear com o desenvolvimento das bactérias lácticas.
- Foi observada a evolução da lipólise concomitantemente com o crescimento dos microrganismos psicrotróficos lipolíticos.
- O aumento do nitrogênio não-protéico não foi verificado devido à metodologia utilizada ou a variedade do queijo não apresentar hidrólise protéica significativa nos primeiros 30 dias.
- Apesar do crescimento microbiano e as alterações químicas produzidas, o queijo não mostrou diferença nos atributos aparência, cor, odor, sabor e textura na análise sensorial durante os 30 dias, sendo aceito pelos provadores durante o período de 30 dias.
- Uma vez que o queijo seja produzido sob ótimas condições higiênico sanitárias, ele é capaz de atingir o período de 30 dias de vida útil quando mantido a 4° C.

REFERÊNCIAS

ALLEN, J.C. Rancidity in dairy products. In: _____. **Rancidity in foods**. London: Blackie Academic & Professional, 1994. chap. 10, p. 180-190.

ALMEIDA FILHO, E.S.; NADER FILHO, A. Ocorrência de coliformes fecais e *Escherichia coli* em queijo tipo Minas frescal de produção artesanal, comercializado em Poços de Caldas – MG. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 102/103, p. 71-73, nov./dez., 2002.

ALMEIDA FILHO, E.S.; NADER FILHO, A. Ocorrência de *Staphylococcus aureus* em queijo tipo frescal. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v. 34, n. 6, p. 578-80, 2000.

AMARAL, L.A.do; NADER FILHO, A.; IARIA, S.T. Variação das características físico-químicas e microbiológicas das salmouras durante sua utilização na salga de queijos tipo Minas “frescal”. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 136-140, 1991.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA **Compedium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington, 2001. 676p.

_____. **Standard methods for the examination of dairy products**. Washington, 1992. 345p.

ANDERSEN, P.K. Survival analysis 1982-1991: The second decade of the proportional hazards regression model. **Statistics in Medicine**, New York, v. 10, p. 1931-1944, 1991.

ANDREATTA, E. **Avaliação da qualidade dos queijos Minas frescal e tipo Mussarela produzidos com leite contendo diferentes níveis de células somáticas**. Pirassununga, 2006. 110p. Tese (Doutorado em Qualidade e Produtividade Animal) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, 2006.

ASHTON, T.R. Some bacteriological aspects of the deterioration of pasteurized milk. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 17, p. 261-287, 1992.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJO - ABIQ. **Informações sobre produção de queijo Minas frescal no Brasil**. Disponível em: www.abiq.com.br. Acesso em: 06 maio 2007.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT. **Análise sensorial dos alimentos e bebidas**. Terminologia – NBR 12806, São Paulo: ABNT, 1993.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY INTERNATIONAL - AOAC. **Official methods of analysis**. 6th ed. Arlington, 1995. v. 1.

ÁVILA, C.R.de; GALLO, C.R. Pesquisa d *Salmonella* spp. em leite cru, leite pasteurizado tipo C e queijo Minas frescal comercializados no município de Piracicaba – SP. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 53, n. 1, jan./abr., 1996.

BARBANO, D.M., MART, Y.; SANTOS, M.V. Influence of raw milk quality on fluid milk shelf life. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 89, (E. Suppl.) E15-E19, 2006.

BIER, O. **Microbiologia e imunologia**. 23.ed. São Paulo: Melhoramento, 1984.

BONASSI, I. A. Ácidos graxos livres voláteis em alguns queijos fabricados no Brasil. II Avaliação quantitativa. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 147, p. 29, 1978.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº44. **Diário Oficial da União**, Brasília: 05 março. 2004. Seção I, p. 5.

_____. Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de queijo minas frescal. Portaria nº352. **Diário Oficial da União**, Brasília: 08 set. 1997. Seção I, p. 13-68.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução – RDC nº12 de 2 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília: 02 jan. 2001.

_____. **Normas para pesquisa envolvendo seres humanos (Resolução CNS nº 196/96 e outras)**. 2.ed. ampliada. Brasília: Ministério da Saúde, 2003. p. 64.

BURITI, F.C.A.; ROCHA, J.S.; SAAD, S.M.I. Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas fresh cheese and implicatons for textural and sensorial properties during storage. **International Dairy Journal**, Oxford, v. 15, n. 12, p. 1279-1288, Dec., 2005.

CABONI, M.F.; ZANNONI, M.; LERCKER, G. Fat lipolysis in Parmigiano-Reggiano cheese. **Scienza e Tecnica Lattiero Casearia**, Parma, v. 41, p. 289-297, 1990 (Suplemento).

CAMPOS, D.C. **Queijo**: breve histórico e principais características. Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microbiologia Agrícola. Piracicaba: ESALQ; NAPMA, 2001. 59p. (NAPMA, n.11).

CARVALHO, J.D.G.; VIOTTO, W.H.; KUAYE, A.Y. The quality of Minas frescal cheese produced by different technological processes. **Food Control**, Amsterdam, v. 18, n. 3, p. 262-267, Mar., 2007.

CHAVES, J.B.P. **Noções de microbiologia e conservação de alimentos**. 2.ed. Viçosa: Universidade de Viçosa, 1993. 114p.

CHAVES, J.B.P.; SPROESSER, R.L. **Práticas de Laboratório de Análise Sensorial de Alimentos e Bebidas**. Viçosa: Universidade de Viçosa, 1993. 81p.

COMPUSENSE INC. **Compunsence five**. São Paulo, 1986-1998. 1 CD-ROM.

CUNHA, C.R.; SPADOTTI, L.M.; ZACARCHENCO, P.B.; VIOTTO, W.H. Efeito do fator de concentração do retentado na composição e proteólise de queijo minas frescal de baixo teor de gordura fabricado por ultrafiltração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 1, p. 82-87, jan./abr., 2002.

ESKIN, M.N.A. **Biochemistry of foods**. 2nd ed. London: Academic Press, 1990. 557 p.

FERREIRA, V.L.P. (Coord.) **Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos**. Campinas: SBCTA, 2000. 127p.

FLOWERS, R.S.; ANDREWS, W.; DONNELLY, C.W.; KOENIG, E. Pathogens in milk and milk products. In: MARSHALL, R.T. **Standard methods for the examination of dairy products**. Washington: American Public Health Association, 1992. chap. 5, p. 103-212.

FONSECA, C.R. **Armazenamento do leite de cabra cru em diferentes temperaturas por diferentes períodos e influência nas qualidades microbiológica, físico-química e sensorial do produto pasteurizado**. Piracicaba, SP. 2006. 87p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

FONSECA, L.F.L., SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175 p.

FOX, P.F.; GUINEE, T.P.; COGAN, T.M.; MCSWEENEY, P.L.H. **Fundamentals of cheese science**. Gaithersburg: AN Aspen Publication, 2000. 587p.

FRANCO, B. D. G. M; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1999. 182p.

FRANK, J.F.; CHRISTEN, G.L.; BULLERMAN, L.B. Tests for groups of microorganisms. In: MARSHALL, R.T. **Standard methods for the examination of dairy products**. Washington: American Public Health Association, 2005. chap. 8, p. 271-286.

FRANK, J.F.; MARTH, E.H. Fermentations. In: WONG, N.P.; JENNESS, R.; KEENEY, M.; MARTH, E.H. **Fundamentals of dairy chemistry**. Gaithersburg: An Aspen Publication, 1999. chap. 14, p. 655 – 738.

FRAZIER, W.C., WESHOFF, D.C. **Microbiologia de los alimentos**. 4.ed. Zaragoza: Acribia. 1993. 677p.

FREO, J.D.; REOLON, J. Qualidade dos produtos derivados de carne e leite, industrializados pelas agroindústrias de Frederico Westphalen, RS. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 20, n. 140, p. 53-59, abr., 2006.

FURTADO, M.M. **Principais problemas dos queijos: causas e prevenção**. Edição Revisada e Ampliada. São Paulo: Fonte Comunicação e Editora. 2005. 200p.

FURTADO, M.M.; CHANDAN, R.C. Efeito do teor de gordura na maturação de um queijo por *Penicillium caseicolum*. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 38, n. 225, p. 13-22, jan./fev., 1983.

FURTADO, M.M.; LOURENÇO NETO, J.P. de M. **Tecnologia de queijos**. São Paulo: Dipemar, 1994. 112p. (Manual técnico para a produção industrial de queijos).

GRENACRE, M.J. **Correspondence analysis in practice**. London: Academic, 1993. 193p.

GRIPON, J.C.; DESMAZEAUD, M.J.; LE BARDS, D.; BERGÉRE, J.L. Etude du rôle des micro-organismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages. **Le Lait**, Paris, v. 55, n. 548, p. 502-512, Sep./Oct., 1975.

HA, J.K.; LINDSAY, R.C. Volatile branched-chain fatty acids and phenolic compounds in aged Italian cheese flavor. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 56, n. 5, p. 1241-1247, Sept./Oct. 1991.

HITCHINS, A.D.; HARTMAN, P.A.; TODD, E.C.D. Coliforms – *Escherichia coli* and its toxins. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, R.F. 3rd ed. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington: American Public Health Association, 1992. chap. 24, p. 325-369.

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

HOLLAND, R.; LIU, S.Q.; CROW, V.L.; DELABRE, M.L.; LUBBERS, M.; BENNETT, M.; NORRIS, G. Esterases of lactic acid bacteria and cheese flavour: milk fat hydrolysis, alcoholysis and esterification. **International Dairy Journal**, Oxford, v. 15, n. 6-9, p. 711-718, Jun./Sep. 2005.

HYNES, E.; OGIER, J.C.; DELACROIX-BUCHET, A. Proteolysis during ripening of miniature washed-curd cheeses manufactured with different strains of starter bacteria on a *Lactobacillus plantarum* adjunct culture. **International Dairy Journal**, Oxford, v. 11, n. 8, p. 587-597, 2001.

ISEPON, J.S. ; OLIVEIRA, A.J. Influência das culturas lácticas no índice de proteólise do queijo Minas frescal. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 50, n. 3, p. 451-454, out./dez., 1993.

JAY, J. M. **Microbiologia moderna de los alimentos**. Zaragoza: Editora Acribia, 1994. 492p.

KAMALY, K.M.; TAKAYAMA, K.; MARTH, E.H. Acylglycerol acylhidrolase (lipase) activities of *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, and their mutants. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 71, p. 280 – 290, 1990.

LAFARGE, V.; OGIER, J.; GIRARD, V.; MALADEN, V.; LEVEAU, J.; GRUSS, A.; DELACROIX-BUCHET, A. Raw cow milk bacterial population shifts attributable to refrigeration. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v. 70, n. 9, p. 5644-5650, Sept., 2004.

LEITE, R.L. **Avaliação da qualidade microbiológica de queijos “Minas frescal” e “Minas padrão” elaborados com leite proveniente de vacas com mastite sub-clínica**. Lavras, MG. 2000. 68p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, 2000.

LISITA, M.O. **Evolução da população bacteriana na linha de produção do queijo Minas Frescal em uma indústria de laticínios**. Piracicaba, SP. 2005. 61p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

LIU, S.Q.; HOLLAND, R.; CROW, V.L. Ester synthesis in na aqueous environment by *Streptococcus thermophilus* and other dairy lactic acid bactéria. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 63, p. 81-88, 2003.

LOGUERCIO, A.P.; ALEIXO, J.A.G. Microbiologia de queijo tipo Minas frescal produzido artesanalmente. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 6, p.1063-1067, 2001.

MACHADO, E.C.; FERREIRA, C.L.L.F.; FONSECA, L.M.; SOARES, F.M.; PEREIRA JÚNIOR, F.N. Características físico-químicas e sensoriais do queijo Minas artesanal produzido na região do Serro, Minas Gerais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 516-521, out./dez., 2004.

MADRID, V.A. **Nuevo manual de tecnologia quesera**. Madrid: Mundi Prensa Libros, 1994. 380p.

MAGALHÃES, F.A.R. **Evolução de características físico-químicas e sensoriais durante a maturação do queijo tipo gorgonzola**. Lavras, MG. 2002. 85p. Dissertação (Doutorado). Universidade Federal de Lavras, 2002.

MANOLOPOULOU, E.; SARANTINOPOULOS, P.; ZOIDOU, E.; AKTYPIS, A.; MOSCHOPOULOU, E.; KANDARAKIS, I.G.; ANIFANTAKIS, E.M. Evolution of microbial populations during traditional Feta cheese manufacture and ripening. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 82, n. 2, Apr., 2003.

MARCHIORI, E. **Queijo: o tesouro que vem o leite**. **Indústria de Lactínios**, São Paulo, n. 50, p 20, mar./abr., 2004.

MARQUES, M.C.; OLIVEIRA, C.A.F. **Avaliação das características físico-químicas do queijo Minas frescal produzido com leite contendo diferentes níveis de células somáticas**. Pirassununga: FZEA/USP, 2004. 15p. (Iniciação Científica)

MCSWEENEY, P.L.H. Biochemistry of cheese ripening: introduction and overview In: FOX, P.F. **Cheese: chemistry, physics and microbiology**. 3th ed. London: Elsevier Academic Press, 2004. v. 1, p. 347 – 360.

MCSWEENEY, P.L.H.; SOUSA M.J. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheese during ripening: a review. **Le Lait**, Paris, v. 80, p. 293 – 324, 2000.

MERCK. **Microbiology Manual 2000**. Darmstadt, 2000. 407 p.

MORALES, A.A. **La evaluación sensorial de los alimentos em la teoria y la práctica**. Zaragoza: Acribia, 1997. 198p.

MORALES, P.; FERNÁNDEZ-GARCÍA, E.; NUÑEZ, M. Volatile compounds produced in cheese by *Pseudomonas* strains of dairy origin belonging to six different species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, p. 6835-6843, 2005.

MORR, C.V.; RICHTER, R.L. Chemistry of processing. In: WONG, N.P.; JENNESS, R.; KEENEY, M.; MARTH, E.H. **Fundamentals of dairy chemistry**. Gaithersburg: An Aspen Publication, 1999. chap. 14, p. 739 – 766.

MOURA, C.J. **Efeito do resfriamento do leite sobre o rendimento e lipólise do queijo tipo parmesão**. Lavras, 1997. 77p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1997.

NASCIMENTO, M.G.F.; NASCIMENTO, E.R.; CUNHA, C.P.; CORBIA, A.C.G. Estudo transversal sobre alguns fatores de risco na contaminação natural de coliformes fecais em queijo Minas frescal. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 15, n. 86, p. 55-59, jun. 2001.

NOGUEIRA, M.C.L.; LUBACHEVSKY, G.; RANKIN, S.A. A study of the volatile composition of Minas cheese. **LWT-Food Science and Technology**, Oxford, v. 38, n. 5, p.555-563, Aug. 2005.

O'CONNOR, T.P.; O'BRIEN, N.M. Nutricional Aspects of cheese. In: FOX, P.F.; GUINEE, T.P.; COGAN, T.M.; MCSWEENEY, P.L.H. **Fundamentals of cheese science**. Gaithersburg: AN Aspen Publication, 2000. chap. 21, p. 504-513.

PAIVA, M. B. **Comparação da qualidade microbiológica e físico-química entre queijos Minas frescal disponíveis no mercado produzidos pelos métodos de ultrafiltração e tradicional**. Piracicaba: ESALQ/USP. 2005. 36p. (Iniciação Científica)

PERRY, K.S.P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 2, p. 293-300, 2004.

PICOLI, S.U.; BESSA, M.C.; CASTAGNA, S.M.F.; GOTTARDI, C.P. T., SCHIMIDT, V.; CARDOSO, M. Quantificação de coliformes, *Staphylococcus aureus* e mesófilos presentes em diferentes etapas da produção de queijo frescal de leite de cabra em laticínios. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 1, n. 26, p. 64-69, jan./mar., 2006.

RAYNAL-LJUTOVAC, K.; GABORIT, P.; LAURET, A. The relationship between quality criteria of goat milk, its technological properties and the quality of the final products. **Small Ruminant Research**, Surgères, v. 60, n. 1-2, p. 167-177, Oct., 2005.

ROBINSON, R.K. **Microbiologia de la leche**. Madrid: Acribia, 1987. v.1, 230p.

ROBINSON, R.K. **Modern dairy technology**: advances in milk processing. 2nd ed. Gaithersburg: Aspen Publishers, 1994.

ROCHA, J.S.; BURITI, F.C.A.; SAAD, S.M.I. Condições de processamento e comercialização de queijo de Minas frescal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 58, n. 2, p. 263-272, 2006.

ROSA, V.P. **Efeitos da atmosfera modificada e da irradiação sobre as características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais do queijo Minas frescal**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, 2004.

RÓTULOS já contam com algumas normas. **Indústria de Laticínios**, São Paulo, v. 1, n. 4, p. 26-28; 1996.

SABIONI, J.G. Contribuição da atividade lipolítica e proteolítica na formação de flavor em queijos e no desenvolvimento de produtos aromáticos de origem Láctea. **Informativo da Escola de Nutrição**. Universidade Federal de Ouro Preto – MG. Disponível em <<http://www.nutline.enut.ufop.br/artigos/artigo13/artigo13.html>>. Acesso em: 19 de set. de 2005.

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. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 4, p.368-378, out./dez. 1998.

SANTOS, F.A.; NOGUEIRA, N.A.P.; CUNHA, G.M. Aspectos microbiológicos do queijo tipo coalho comercializado em Fortaleza – CE. **Boletim Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 13, n. 1, p. 31-36. jan./jun., 1995.

SAS Institute. **SAS user's guide: statistic**. 6th ed. Cary: SAS Institute, 1998, 584p.

SILVA, I.M.M.; ALMEIDA, R.C.C.; ALVES, M.A.^o; ALMEIDA, P.F. Occurrence of *Listeria ssp.* in critical control points and the environment of Minas Frescal cheese processing. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 81, p. 241-248, 2003.

SILVA, J. A. **Tópicos da tecnologia de alimentos**. São Paulo: Varela, 2000. 231p.

SILVA, N.da; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. 2.ed. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 2001. 105p.

SIQUEIRA, R.S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília: EMBRAPA – SPI; Rio de Janeiro: EMBRAPA – CTAA, 1995. 159p.

SPADOTI, L.M.; DORNELLAS, J.R.F.; ROIG, S.M. Avaliação sensorial de queijo prato obtido por modificações do processo tradicional de fabricação. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 705 – 712, out./dez., 2005.

VARNAN, A.H.; SUTHERLAND, J.P. **Leche y productos lácteos: tecnología, química y microbiología**. Zaragoza: Acribia, SA, 1994. 476p.

VIDAL-MARTINS, A.M.C.; SALOTTI, B.M.; ROSSI JUNIOR, O.D.; PENNA, A.L.B. Evolução do índice proteolítico e do comportamento reológico durante a vida de prateleira de leite UAT/UHT. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 698-704, out.-dez., 2005.

WOLFSCHOON-POMBO, A.L. Índice de proteólise em alguns queijos brasileiros. **Boletim do Leite e seus Derivados**, São Paulo, v. 56, n. 661, p. 1-8, nov. 1983.

WOLFSCHOON-POMBO, A.L.; LIMA, A. Extensão e profundidade da proteólise em queijo Minas Frescal. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 44, n. 261-266, p. 50-52, 1989.