

Luana Michelle De Melo

Qualidade microbiológica e físico-química do requeijão do Norte de Minas Gerais

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Produção Animal Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Animal.

Área de Concentração: Produção Animal

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Resende de Souza

Co-orientadores: Prof. Dr. Maximiliano Soares Pinto e Prof. Dra. Anna Christina de Almeida.

**MONTES CLAROS
2016**

FICHA CATALOGRÁFICA

M528q
2016

Melo, Luana Michelle.

Qualidade microbiológica e físico-química do requeijão do Norte de Minas Gerais / Luana Michelle de Melo. Cidade: Montes Claros-MG, Universidade Federal De Minas Gerais, 2016.

53 f.: il.

Dissertação (mestrado) - Área de concentração em Produção Animal, Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias.

Orientador: Marcelo Resende de Souza.

Banca examinadora: Eduardo Robson Duarte, Cláudia Freire de Andrade Penna.

Inclui bibliografia: f. 29-34; 49-53.

1. Requeijão. 2. Contaminação. 3. Microbiologia. I. Resende, Marcelo. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 579

Luana Michelle De Melo

Qualidade Microbiológica e Físico-Química Do Requeijão Do Norte De Minas Gerais

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Produção Animal da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Animal
Área de Concentração: Produção Animal
Linha de Pesquisa: Qualidade de alimentos de origem animal
Orientador: Prof. Dr. Marcelo Resende de Souza
Instituto de Ciências Agrárias da UFMG

Aprovado pela banca examinadora constituída pelos professores:

Prof. Cláudia Freire de Andrade Penna
(Escola de Veterinária/UFMG)

Prof. Eduardo Robson Duarte
(Instituto de Ciências Agrárias/UFMG)

Prof. Marcelo Resende De Souza (orientador)
(Escola de Veterinária/UFMG)

Montes Claros, 19 de maio de 2016.

DEDICATÓRIA

Ao meu amor,
pelo companheirismo, compreensão,
amor e paciência ao longo desses
dois anos de mestrado.
Aos meus pais,
pelo amor e apoio incondicional.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus que permitiu que tudo isso acontecesse, ao longo de minha vida, e não somente nestes anos como universitária, mas que em todos os momentos é o maior mestre que alguém pode conhecer.

Ao Prof. Dr. Marcelo Resende de Souza, meu orientador, pela confiança, pela oportunidade de trabalhar ao seu lado e pela orientação e correções que contribuíram para a conclusão do trabalho com êxito.

Ao Prof. Dr. Maximiliano Soares Pinto, meu amigo e co-orientador pela infinita disponibilidade, por todos os ensinamentos e pela impecável condução deste meu trabalho e por ser o maior incentivador na superação dos meus limites.

Ao Prof. Dra. Anna Christina De Almeida pela oportunidade e apoio na elaboração deste *trabalho*.

Agradeço a todos os professores por me proporcionar o conhecimento não apenas racional, mas a manifestação do caráter e afetividade da educação no processo de formação profissional, por tanto que se dedicaram a mim, não somente por terem me ensinado, mas por terem me feito aprender. A palavra mestre, nunca fará justiça aos professores dedicados aos quais sem nominar terão os meus eternos agradecimentos.

A CAPES pelo apoio financeiro.

A Universidade Federal De Minas Gerais (ICA-UFMG), pela oportunidade de fazer o curso.

Por fim agradeço a minha mãe, a minha irmã Lorrane, meu pai e a Jack. Deixei vocês por último, porque sempre deixo o melhor para o final, e vocês são o melhor da minha vida. Obrigada mãe, pelo seu apoio incondicional a longo deste processo de dissertação e de muitos outros. Obrigada por acreditar em mim, mesmo quando eu não acreditava. Você é minha fortaleza.

Obrigada maninha, pelo amor e cumplicidade. Obrigada por estar ao meu lado, sempre.

Obrigada pai, por tudo que você me deu e me ensinou. Obrigada pela sua generosidade e simplicidade. Pelo amor incondicional, pelo carinho e afeto. Não encontro palavras que consigam te agradecer, simplesmente fico completamente envolvida por um enorme sentimento: gratidão. Muito obrigada.

Jack, obrigada pela disposição em me ajudar a concretizar este trabalho, pela paciência e pelo incentivo, você é essencial na minha vida. Ter você ao meu lado, torna essa vida mais colhedora.

*(Há um vilarejo ali
Onde areja um vento bom
Na varanda, quem descansa
Vê o horizonte deitar no chão*

*Pra acalmar o coração
Lá o mundo tem razão
Terra de heróis, lares de mãe
Paraíso se mudou para lá...)
(Marisa Monte)*

RESUMO

A adoção de indicadores de qualidade no leite cru é uma das principais medidas para melhorar a qualidade dos derivados lácteos. Os objetivos neste trabalho foram avaliar a relação dos indicadores de qualidade, contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) com a composição química do leite, e a qualidade físico-química e microbiológica do requeijão moreno. Os resultados foram expressos por estatística descritiva. Para as correlações dos dados de CCS e CBT do leite entre a composição físico-química do requeijão foram estimadas o coeficiente de correlação de Pearson. A composição química média do leite mostrou-se dentro da faixa normal para bovinos, entretanto, verificou-se aumento do teor de gordura. Essa condição pode mascarar a real qualidade do leite, haja vista a valorização de seus componentes sólidos, especialmente na produção de derivados lácteos. A média de CCS observada no leite foi de $3,01 \times 10^5$ cel/mL apresentando-se inferior ao preconizado pela legislação, porém, esse resultado sugere a presença de mastite subclínica no rebanho. A média da CBT do leite apresentou-se elevada $2,94 \times 10^4$ UFC/mL. Quanto à caracterização físico-química do requeijão, verificou-se variação dos parâmetros analisados, demonstrando falta de padronização no processo de fabricação. As condições higiênico-sanitárias do produto final foram consideradas insatisfatórias em função da contagem dos microrganismos indicadores de higiene deficiente. Para *Escherichia coli* observou-se média de $1,46 \times 10^3$ UFC/mL. Na contagem de coliformes totais verificou-se média de $2,0 \times 10^6$ UFC/mL. Foram observadas altas contagens de *Staphylococcus* spp. $2,10 \times 10^6$ UFC/mL. Quanto à correlação existente entre CCS e sua influência sobre os

constituintes do leite, observou-se correlações moderadas entre CCS e proteína 0,364421 e CSS e cinzas - 0,48535. Em relação a correlação existente entre CBT e as variáveis estudadas, apenas o teor de proteína apresentou correlação negativa com a CBT - 0,684720. Os dados sugerem a necessidade de padronização no processo de fabricação do requeijão e implantação de programas de melhoria da qualidade e segurança de alimentos.

Palavras chave: Requeijão. Leite cru. Microbiologia. Físico-química. Qualidade.

ABSTRACT

The adoption of quality indicators in raw milk is one of the main measures to improve the quality of dairy products. The objectives of this study were to evaluate the relationship of quality indicators, somatic cell count (SCC) and total bacterial count (TBC) with the chemical composition of the milk, and the physical-chemical and microbiological quality of the dark cheese. The results were expressed by descriptive statistics. For the correlations of SCC data and TBC milk between the physical and chemical composition of the curd were estimated Pearson's correlation coefficient. The average chemical composition of milk is shown within the normal range for cattle, however, it was found to increase the fat content. This condition may mask the actual quality of milk, due to the appreciation of its solid components, especially in the production of dairy products. The SCC average observed in milk was 3.01×10^5 cells / mL presenting lower than recommended by law, however, this result suggests the presence of subclinical mastitis in the herd. The average milk TBC performed high 2.94×10^4 UFC / mL. As for the physicochemical characterization of cheese, there was variation of the parameters analyzed, showing a lack of standardization in the manufacturing process. The sanitary conditions of the final product were found to be unsatisfactory due to the counting of microorganisms indicators of poor hygiene. For *Escherichia coli*, there was an average of 1.46×10^3 UFC / mL. In total coliform count was found to average 2.0×10^6 UFC / mL. *Staphylococcus spp* high counts were observed. 2.10×10^6 UFC / mL. As for the correlation between SCC and its influence on milk constituents, there was moderate correlations between SCC and protein 0.364421 and SCC and ash - 0.48535. Regarding the correlation between

CBT and the variables studied, only the protein content was negatively correlated with the CBT - 0.684720. The data suggest the need for standardization in the manufacturing process of the curd and implementation of quality improvement programs and food safety.

Keywords: Requeijão. Raw milk. Microbiological. Physicochemical. Quality.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	12
2. OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo geral	14
2.2 Objetivos específicos.....	13
3. REVISÃO DE LITERATURA	15
3.1 Queijo	15
3.2 Requeijão	16
3.3 Requeijões artesanais brasileiros	18
3.4 Processamento de requeijões	19
3.5 Qualidade microbiológica do requeijão.....	24
3.6 Qualidade físico-química do requeijão.....	27
3.7 Referências	29
4. ARTIGO- Qualidade Microbiológica e Físico-Química do Requeijão do Norte de Minas Gerais	35
Referências	49

1 INTRODUÇÃO GERAL

O requeijão é um produto tipicamente brasileiro, fabricado praticamente em todo o território nacional, com algumas variações de tecnologia e características de região para região, sendo classificado de acordo com a sua consistência em comum, cremoso, do norte e do sertão ou crioulo (MUNCK *et al.*, 1984).

Na região norte do estado de Minas Gerais a produção do requeijão é bastante empírica e alguns produtores têm seu próprio critério para definir a formulação, o que tem levado à obtenção de produtos com características variadas, podendo comprometer a sua qualidade final devido á falta de padronização existente no processo de fabricação do requeijão. Esse derivado, constitui um componente quase exclusivo na geração de renda para muitas famílias, o que justifica a importância de se intensificar o apoio ao desenvolvimento da agroindústria (SILVA; CASTRO, 1995). O processo de produção desse requeijão envolve a utilização de leite integral cru, na maioria das vezes acumulado a partir de ordenhas realizadas em períodos distintos. Ao início do processo, o leite é acidificado naturalmente, o creme é separado, e o leite é aquecido a 45°C aproximadamente, quando então é feita a retirada do soro. A massa é novamente aquecida a temperaturas de até 90 °C, quando é lavada sucessivamente com água e adicionada de leite in natura para a redução dos níveis de acidez. Ao final desse processo, é acrescentado à massa, ainda quente, o sal juntamente com uma manteiga especial, denominada de manteiga de garrafa (BRASIL, 2001b). Esses ingredientes são então misturados à massa e o requeijão ainda quente é colocado em recipientes para que haja um resfriamento natural. O produto é normalmente comercializado sem embalagem, o que favorece a contaminação microbiana.

A comercialização do requeijão artesanal permite que o pequeno produtor de leite escoar o produto no mercado, e pode garantir reconhecimento e principalmente retorno financeiro. E apesar de toda a tradição e reconhecimento nacional dos queijos artesanais, a produção e comercialização vivem às margens da ilegalidade e clandestinidade no país, por não se adequarem ás legislações vigentes (DORES; FERREIRA, 2012).

O requeijão é um produto apreciado em diferentes regiões do país e apresenta grande valor social, cultural e econômico. Devido ao processo de

produção ocorrer muitas vezes em condições de higiene inadequadas, patógenos como *Staphylococcus* spp. e *Escherichia coli* pode estar presentes nesse produto representando risco potencial para a saúde dos consumidores (RODRÍGUEZ *et al.*, 2005).

Em função da falta de fiscalização adequada de produtos artesanais, o comércio informal de queijos artesanais ocorre em diversas regiões do Brasil, sendo frequentemente elaborados em condições precárias. Essa deficiência prejudica a qualidade microbiológica e a padronização físico-química dos produtos. É importante conhecer as características intrínsecas desses produtos artesanais para determinar os marcadores de autenticidade e estabelecer a padronização dos produtos com o intuito de melhorar a qualidade.

Diante da importância sócio-econômica e cultural dos requeijões artesanais, além dos problemas de qualidade e falta de legislação específica que são os entraves para a comercialização destes produtos, o objetivo neste estudo foi caracterizar a qualidade dos requeijões produzidos no norte de Minas Gerais, quanto à composição físico-química e microbiológica.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar características microbiológicas e físico-químicas do requeijão produzido no norte de Minas Gerais.

2.2. Objetivos Específicos

2.2.1. Determinar a composição físico-química de dez amostras do requeijão artesanal produzido na região do norte de Minas Gerais.

2.2.2. Avaliar a qualidade microbiológica das amostras de requeijão obtidas na região do norte de Minas Gerais, a partir da quantificação de micro-organismos indicadores e patogênicos (Coliformes Totais, *Escherichia coli*, *Staphylococcus* spp.).

2.2.3. Avaliar a qualidade do leite integral utilizado como matéria prima na produção do requeijão, e as correlações de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total do leite (CBT) em relação aos parâmetros físico-químicos encontrados nas amostras analisadas do requeijão do Norte de Minas Gerais.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Queijo

O queijo é um dos alimentos processados mais antigos da humanidade. Acredita-se que tenha originado há aproximadamente 8.000 anos, no Iraque, entre os rios Tigre e Eufrates. Existem referências aos queijos nos escritos da Grécia antiga, do Império Romano e da Bíblia. Uma das hipóteses sobre o início da produção de queijos propõe que a acidificação causada pelo crescimento de micro-organismos no leite armazenado sob clima quente causava sua coagulação. Outra propõe a coagulação enzimática de leite armazenado em recipientes feitos com estômago de animais para viagens de nômades árabes (LIMA, 2005).

Aproximadamente um terço da produção mundial de leite é empregado na elaboração de queijos, que chega a representar 30% dos produtos lácteos comercializados (FARKYE, 2004). Em relação ao cenário nacional, a produção de queijos e requeijões em Minas Gerais é bastante expressiva. Em 2011, produziu-se 867,1 mil toneladas de queijos no país, 9,4% mais que em 2010, segundo dados divulgados pela Associação Brasileira das Indústrias de Queijos (BRASIL, 1996).

De acordo com a Portaria nº146, de 07 de março de 1996, entende-se por queijo o produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, de enzimas específicas, de bactérias específicas, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar. Os queijos podem ser adicionados de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes.

A denominação queijo está reservada aos produtos em que a base láctea não contenha gordura e/ou proteínas de origem não láctea (BRASIL, 1996). Essa Portaria estabelece ainda, a classificação de acordo com o conteúdo de matéria gorda no extrato seco e de acordo com teor de umidade. Em relação ao conteúdo de matéria gorda em percentagem, os queijos são classificados em: extra gordos ou duplo creme, mínimo de 60%; gordos, entre 45,0 e 59,9%; semi-gordos, entre 25,0 e

44,9%; magros, entre 10,0 e 24,9%; e desnatados, menos de 10,0%. De acordo com o conteúdo de umidade, em percentagem, os queijos classificam-se em baixa umidade (de até 35,9%), média umidade (entre 36,0 e 45,9%), alta umidade (entre 46,0 e 54,9%) e muita alta umidade (não inferior a 55,0%).

Embora o processo básico de fabricação de queijos seja comum, variações na origem do leite, nas técnicas de processamento e no tempo de maturação favorecem essa variedade, conhecendo-se cerca de mil tipos (PERRY, 2004). Segundo Nassu *et al.* (2001), a falta de critérios de qualidade de matéria-prima e das técnicas de processamento permite que o queijo apresente características de produtos de baixa qualidade, tanto do ponto de vista higiênico-sanitário quanto a falta de padronização do produto.

Sendo o queijo um alimento de grande comercialização, apresenta as seguintes vantagens do ponto de vista tecnológico: é um produto de fácil aceitação e dependendo do tipo de queijo apresenta elevado rendimento na fabricação, o que melhora o escoamento do produto e distribuição no mercado (FURTADO, 1991).

Para se obter um produto saudável e de grande valor nutritivo, é necessário que programas de gestão de segurança de alimentos sejam implantados. As Boas Práticas de Fabricação (BPF) são indispensáveis quando se trata de qualidade e segurança alimentar. Em virtude do processo de fermentação, os queijos são constituídos de microrganismos desejáveis e indesejáveis. A presença de microrganismos desejáveis contribui para as características organolépticas, conservação e condições higiênico-sanitárias do produto. Entretanto, segundo Neto *et al.* (2004), a presença de microrganismos indesejáveis no queijo pode ser resultante de contaminações relacionadas à higiene inadequada, podendo causar a deterioração do produto e diminuir a vida de prateleira e comprometer a segurança alimentar.

3.2. Requeijão

Registros sobre a produção de queijos no Brasil ocorreram a partir do ano de 1920, com o estabelecimento de imigrantes dinamarqueses no sul de Minas e de holandeses na região de Santos Dumont e Barbacena (FURTADO, 1991).

O requeijão surgiu como derivado do leite desnatado, considerado descarte das regiões produtoras de creme para a produção de manteiga (MUNCK; CAMPOS, 1984). A produção se restringia ao uso local, mas com a evolução dos meios de transporte, de acondicionamento e de tecnologia, o requeijão se tornou expressivo no mercado de queijos, ocupando a preferência de consumo de muitos brasileiros. Atualmente, são muitas as tecnologias empregadas na fabricação de requeijão assim como o formato dos produtos, embalagens consistência e coadjuvantes tecnológicos (RODRIGUES, 2006).

Segundo o Regulamento Técnico Para Fixação de Identidade e Qualidade do Requeijão da Portaria nº 359, de 4 de Setembro de 1997, entende-se que requeijão é o produto obtido pela fusão da massa coalhada, cozida ou não, dessorada e lavada, obtida por coagulação ácida e/ou enzimática do leite opcionalmente adicionada de creme de leite e/ou manteiga e/ou gordura anidra de leite ou *butteroil*.

Os requeijões podem ser classificados de acordo com as matérias primas empregados no processo de elaboração (BRASIL, 1996). Atualmente, uma grande variedade de requeijões pode ser encontrada no mercado. Essa diversificação está relacionada às diferenças de tratamento, peculiares a cada tipo de requeijão, recebidas no momento em que a massa está sendo processada. Munck; Campos (1984) destacam quatro tipos de requeijão: o requeijão mineiro ou comum, disponível sob a forma fatiável; o requeijão cremoso, ambos de cor clara e produzidos em escala industrial, e também o requeijão do norte e o requeijão do sertão ou crioulo, em geral comercializado em formas de barras e de coloração mais escura, geralmente produzidos de forma artesanal.

O requeijão é normalmente consumido logo após a fabricação e deve apresentar sabor ligeiramente ácido, agradável ao paladar, aroma característico de produto fermentado por microrganismos lácticos e massa homogênea, com uma cremosidade ou untuosidade típica. Um requeijão mais consistente, a exemplo de requeijão do norte, apresenta-se com massa mais desidratada, de alguma forma lembrando as características de um queijo de massa filada recém-fabricado (OLIVEIRA,1986).

3.3. Requeijões artesanais brasileiros

Os requeijões eram produzidos em pequenas propriedades rurais que dispunham de uma desnatadeira, utilizada para separar o creme do leite desnatado, o restante era deixado coagular espontaneamente para obter a massa que era então transformada em requeijão (MUNCK; CAMPOS, 1984; OLIVEIRA, 1986).

Queijos artesanais como o de coalho e o de manteiga são típicos da região Nordeste e muito difundidos no estado do Rio Grande do Norte. O queijo de manteiga, também conhecido como requeijão do norte, é um produto bastante consumido nas regiões norte e nordeste (NASSU *et al.*, 2003). A microrregião do Seridó, localizada no estado do Rio Grande do Norte, destaca-se na elaboração do queijo de manteiga. A produção artesanal desta região é marcante, e tem participação considerável na economia local, colocando-se como extremamente expressiva na formação de renda do agricultor familiar. No entanto a quantificação desta produção não consta em estatísticas oficiais, mas levantamentos realizados apontam que a maior parte do queijo comercializado é originada de pequenas unidades de produção caseira, no meio rural, sem qualquer fiscalização e geralmente apresenta problemas de padronização e de qualidade microbiológica (NASSU *et al.*, 2003).

O requeijão é um produto feito de forma artesanal, em pequenas propriedades rurais (NASSU *et al.*, 2003; SILVA *et al.*, 2006), sendo tradicional na região norte do estado de Minas Gerais. O processo de produção desse requeijão envolve a utilização de leite integral cru, na maioria das vezes acumulado a partir de ordenhas realizadas em períodos distintos.

Esse requeijão é bastante apreciado em diferentes regiões do país e constitui-se de grande valor social, cultural e econômico, em se tratando da produção artesanal do Requeijão do Norte. Ventura (1987) já afirmava que 80% da produção do requeijão eram originadas de pequenas fábricas e a produção era artesanal. Segundo dados fornecidos pelo Instituto de Desenvolvimento Industrial de Minas Gerais/INDI (2002), foi estimado que apenas 0,2% da produção do Requeijão do Norte estava regulamentada pelo Serviço de Inspeção Federal. Portanto, a quantificação da produção artesanal não consta em estatísticas oficiais, mas a

existência de numerosas unidades de produção caseira que ainda comercializam extensivamente produtos no mercado informal é realidade (NASSU *et al.*, 2003).

Devido ao processo de produção do requeijão artesanal ocorrer muitas vezes em condições de higiene inadequadas, patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. podem estar presentes nesse produto representa risco potencial para a saúde dos consumidores (LELOIR, 2003; RODRÍGUEZ *et al.*, 2005). Segundo Moreno; Vialta; Valle (2006), a presença de vários tipos de microrganismos no requeijão, seja por contaminação das matérias-primas ou por falhas durante o processamento, origina diferentes tipos de deteriorações, com prejuízos sensíveis para a qualidade. Um grande problema associado a esse produto é o crescimento frequente de fungos que causam perda do produto e, conseqüentemente, prejuízos econômicos para os produtores. Cabe destacar também que essa microbiota fúngica pode propiciar o aparecimento de aflatoxina M1 (AFM1), um carcinógeno em potencial que representa grave risco a saúde dos consumidores deste produto (ARDIC *et al.*, 2009).

3.4. Processamento de requeijões

O processo de fabricação tradicional de requeijões inicia-se com a desnaturação de proteínas do soro de leite aquecido a aproximadamente 95°C, seguida das etapas de drenagem, redução da acidez e cozimento da massa. Nesse último momento são adicionados os sais fundentes de fosfatos e polifosfatos que melhoram a textura e a maciez do requeijão. Outra forma de se produzir requeijões consiste na coagulação do leite integral cru, pasteurizado ou desnatado a partir da adição de ácidos orgânicos, por coagulação enzimática (coalho) ou mesmo espontânea, com ou sem adição de cultura láctica (FURTADO; LOURENÇO NETO, 1994).

O leite é a matéria-prima utilizada na fabricação do requeijão e constitui o principal ingrediente. É importante ressaltar que devido à natureza das características físico-químicas, e das formas de obtenção do leite associados a fatores de condições higiênicas podem representar fonte de contaminação do produto final. Portanto, a obtenção higiênica do leite é o primeiro ponto crítico no processo de fabricação de derivados lácteos (PERRY, 2004).

A qualidade do leite empregado exerce forte influência no processamento e nas características básicas desses produtos, no que se refere aos atributos de aparência, consistência, textura, sabor, aroma, bem como na vida útil. É praticamente impossível obter produto de excelente qualidade a partir de matéria-prima de má qualidade. Dentre os parâmetros básicos, o leite empregado na elaboração de requeijão deve apresentar acidez titulável entre 13-18 graus Dornic (°D), pH 6,5-6,7, baixo número de microrganismos mesófilos e ausência ou presença mínima de micro-organismos anaeróbios formadores de esporos (MORENO *et al.*, 2006).

Outros fatores que interferem diretamente sobre a qualidade final do requeijão são o manuseio da coalhada, a quantidade de gordura adicionada, bem como o tempo e temperatura utilizados durante o processamento. Pintado; Malcata (1999) relataram que os teores de gordura e umidade do requeijão são influenciados positivamente pelo tempo e temperatura de aquecimento, bem como pela adição de leite, quando há o aumento da temperatura leva a uma maior retenção de gordura. Outra etapa que pode influenciar os teores de gordura e umidade é o tempo gasto durante a dessoragem, que difere muito entre os produtores (NASSU *et al.*, 2003).

Embora no mercado existam alguns requeijões fabricados a partir de massa obtida por coagulação enzimática, os mais comuns são aqueles que utilizam massa proveniente de coagulação ácida, por adição de culturas lácticas ou por acidificação direta do leite com ácido láctico a quente (OLIVEIRA, 1990). A acidificação direta do leite com ácido láctico a quente é o método mais utilizado. Em estudo comparativo realizado por Rapacci (1997), a acidificação direta a quente demonstrou ser uma técnica prática para coagulação das proteínas do leite, pois promove a redução do tempo e simplifica o método de obtenção da massa, quando comparado com o processo de acidificação por fermentação láctica.

A coagulação por acidificação direta caracteriza-se pela neutralização das cargas negativas das caseínas até o ponto isoelétrico, no pH 4,6 (AMIOT, 1991), mediante adição de ácidos orgânicos, em especial o ácido láctico. No entanto, a coagulação por acidificação direta depende da temperatura e do equilíbrio salino (SCOTT; ROBINSON; WILLEY, 2002), o que explica o fato de que a coagulação por acidificação direta a quente promove a formação de um coágulo com pH superior a 4,6 (ÓRDOÑEZ PEREDA *et al.*, 2005). O aumento do ponto isoelétrico das frações

de caseína com o aquecimento do leite ocorre, presumivelmente, devido à associação das frações de caseína com as proteínas do soro (VAN DENDER *et al.*, 2006). À temperatura de 82°C, a coagulação do leite desnatado ocorre quando a concentração de ácido láctico atingir 0,25% (SCOTT; ROBINSON; WILLEY, 2002). Logo, a coagulação ácida permite maior recuperação de proteínas solúveis na forma de co-precipitado com a caseína (SILVA; VAN DENDER; MELO, 2004).

Como a coagulação das proteínas do leite é efetuada quase que instantaneamente após a adição do ácido láctico, a dessoragem é realizada logo após a completa precipitação a 80°C, seguida da prensagem (RAPACCI, 1997).

A massa, assim obtida, é submetida à moagem, que possibilita o contato íntimo do sal fundente com a mistura da massa durante o processamento, seguida da adição dos ingredientes e o processo de fusão propriamente dito (RAPACCI, 1997).

O cloreto de sódio normalmente é adicionado na proporção de 1,5% - 2,0% em relação à massa a ser fundida, na forma de solução ou mesmo polvilhada sobre a mesma (VAN DENDER *et al.*, 2006).

A água desempenha importante papel no processamento tecnológico do requeijão, uma vez que auxilia na dissolução dos sais emulsificantes, na hidratação das proteínas e na dispersão dos componentes (LEE; ANEMA; KLOSTERMEYER, 2004). O teor de umidade influencia na firmeza do produto final, pois está correlacionada com o conteúdo de extrato seco desengordurado (RABÊLO *et al.*, 2002). A água pode ser adicionada tanto de uma só vez, no início do processo de fusão, como no início e no final do processo. Esse último procedimento é mais vantajoso uma vez que a absorção de caseína é acelerada, pois o sal fundente se encontra mais concentrado quando se adiciona só metade da água no início do processo (VAN DENDER *et al.*, 2006).

Os sais fundentes, na forma de sal sódico, adicionados, sob agitação constante e calor, promovem troca interna de íons, transformando o paracaseinato de cálcio, de hidratação instável, em paracaseinato de sódio, cuja solução é coloidal e estável (DIMITRELI; THOMAREIS, 2004).

Em geral, utilizam-se misturas, de citratos dissódicos e trissódicos em solução aquosa, que originam queijo firme ao corte, e de fosfatos, que apresentam bom poder de dispersão. Dessa forma os processos de hidratação se desenvolvem com

rapidez e uniformemente (ECK, 1987).

O tratamento térmico caracteriza-se pela fusão e cozimento da massa. Pode-se utilizar aplicação indireta ou direta de calor na forma de vapor. O uso de vácuo durante o aquecimento é opcional e pode ser utilizado para regular a quantidade de umidade, quando é feita a injeção direta de vapor na massa e também para remoção de ar da massa (ALVES, 2004). A fusão propriamente dita é realizada com aquecimento e agitação vigorosa da massa, em temperatura mínima de 80°C durante 15 segundos, ou qualquer outra combinação tempo/ temperatura equivalente (BRASIL, 1997). Essa etapa deve ser rápida e a agitação deve ser de forma a evitar a queima da massa e promover completa homogeneização do produto (OLIVEIRA, 1990). Em processamento por batelada, a combinação de tempo/temperatura varia (70 - 95°C/ 4 - 15 minutos), dependendo da formulação, do nível de agitação e das características desejadas no produto final em termos de textura, consistência e vida útil. No processo contínuo, a mistura é aquecida a 80 - 90°C em misturador a vácuo e bombeada para bateria de trocadores de calor tubulares, onde é aquecida a 130-145°C por poucos segundos, sendo, na sequência, rapidamente resfriado a 90°C (ALVES, 2004).

Por outro lado, como o requeijão sofre tratamento térmico mais intenso do que o da pasteurização do leite, não há necessidade de pasteurização da matéria-prima, sob o ponto de vista higiênico-sanitário (OLIVEIRA, 1984).

Na Figura 1 será representado um fluxograma das etapas de produção artesanal do requeijão. A tecnologia de produção envolve, basicamente, as seguintes etapas:

1. Coagulação: o leite cru é deixado à temperatura ambiente por até 48 horas para formação da coalhada resultante da ação da microbiota acompanhante.

2. Retirada do creme: remoção da camada de gordura sobre a superfície da coalhada que, posteriormente, será utilizada para a fabricação da Manteiga de Garrafa.

3. Precipitação: a coalhada é aquecida à temperatura de aproximadamente 45 °C por 20 minutos. As micelas de caseína se agregam resultando na liberação de soro.

4. Primeira dessoragem: a massa é colocada em sacos de pano branco higienizados para filtragem do leite. O conjunto é suspenso e deixado em repouso até a retirada completa de soro da massa.

5. Desacidificação: água quente é adicionada, em quantidade suficiente para cobrir a massa, com o intuito de reduzir a acidez excessiva da massa. Em seguida a massa é novamente colocada em sacos brancos para drenagem. Paralelamente, o mesmo volume de leite cru, utilizado no preparo da coalhada, é aquecido à temperatura de 90 °C por aproximadamente 3 horas. Esta etapa além de auxiliar na redução da acidez vai favorecer a formação da cor característica do produto, devido à caramelização dos açúcares do leite, e contribuir para o aumento no rendimento da massa.

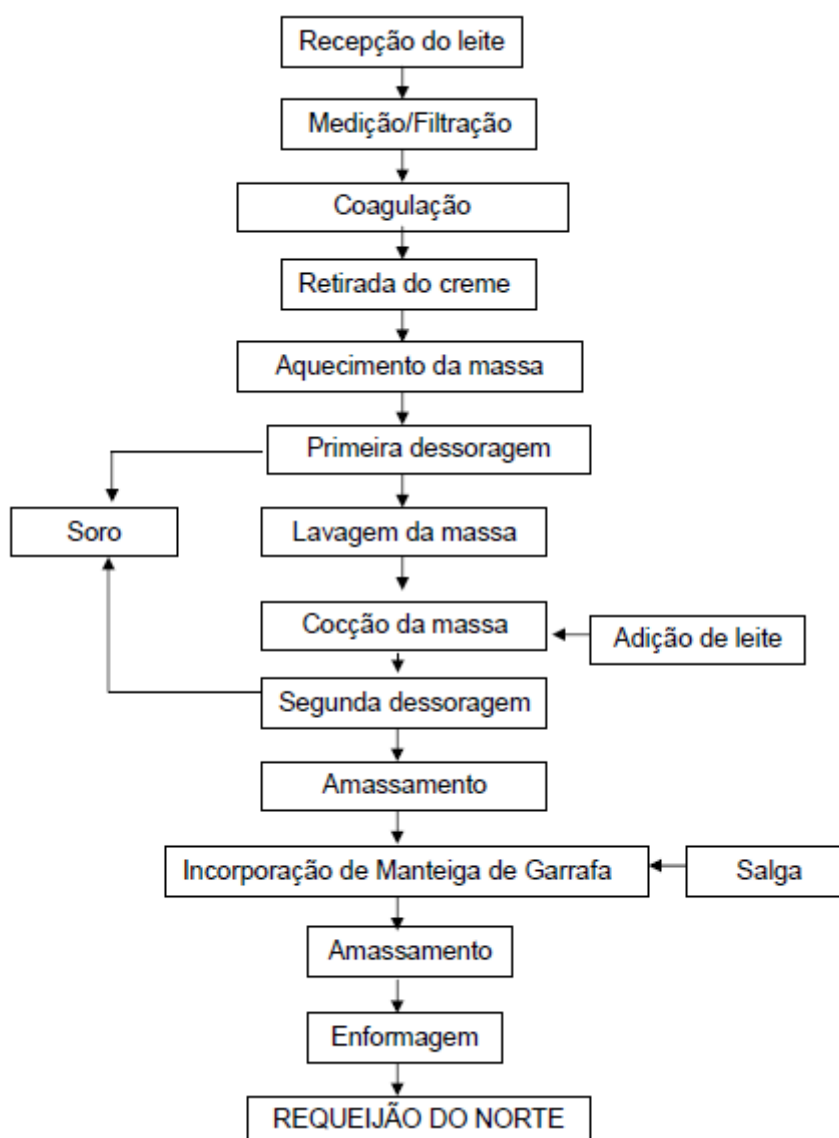
6. Cozimento: a massa, ainda ácida, é submetida à cocção (100 °C) juntamente com o leite caramelizado que esporadicamente são agitados, por um período de até 2 horas. Nesta etapa as proteínas do leite precipitam em razão do baixo pH da massa e se incorporam à mesma, com mais desprendimento de soro. A adição de cloreto de sódio à massa também ocorre nesta fase.

7. Segunda dessoragem: da mesma forma que a etapa 4.

8. Amassamento: feito vigorosamente e sobre aquecimento para homogeneizar a massa e manteiga. Nesta etapa o bicarbonato de sódio pode ser adicionado. O objetivo é elevar o pH para corrigir a acidez da massa e conseqüentemente evitar a formação de produtos com massa quebradiça.

9. Adição de Manteiga de Garrafa: a manteiga é incorporada à massa. Cor, sabor e aroma característicos são realçados nesta etapa.

10. Enformagem: a massa é colocada em formas de madeira e moldada. Os requeijões são retirados das formas já frios e armazenados em caixas de papelão, cobertos com plástico e mantidos à temperatura ambiente, até o momento em que serão distribuídos aos pontos de venda.



Fonte: VIANNA, 2008.

Figura 1 – Fluxograma proposto das etapas de produção artesanal do Requeijão do Norte. Município de Salinas – MG.

3.5. Qualidade microbiológica do requeijão

O interesse pela qualidade dos alimentos tem aumentado consideravelmente, sobretudo no que diz respeito aos perigos associados a contaminantes e metabolitos. A qualidade microbiológica do queijo é de primordial importância, por estar relacionado á saúde pública (FERNANDES; ANDREATTA; OLIVEIRA, 2006).

A qualidade dos produtos lácteos incentiva a aceitação e a demanda pelos consumidores. Apesar das exigências de que o leite destinado à fabricação de queijos seja higienizado por meios mecânicos adequados e submetidos à pasteurização ou tratamento térmico equivalente, é intensa a comercialização de produtos elaborados fora dessas especificações (ALBUQUERQUE; RODRIGUES, 2008). A contaminação microbiana desses produtos assume destacada relevância, tanto para indústria, devido às perdas econômicas, como para a saúde pública, pelo risco de causar doenças transmitidas por alimentos (FEITOSA *et al.*, 2003).

Dentre os microrganismos constantemente presentes em produtos lácteos que oferecem risco a saúde dos consumidores destacam-se as enterobactérias, que incluem os gêneros *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli* e *Yersinia*, entre outros, e *Staphylococcus* spp. Os fungos filamentosos são os principais deterioradores desses produtos. A presença desses micro-organismos pode indicar riscos de infecções e/ou intoxicações alimentares, baixas condições higiênicas de produção ou processamento inadequado e matéria-prima de baixa qualidade. Esses micro-organismos podem ser provenientes da matéria-prima, do ar, do solo, do processamento do produto, das instalações, dos equipamentos e/ou manipuladores (FERNANDES; ANDREATA; OLIVEIRA, 2006).

Em relação às bactérias mesófilas, não existem padrões recomendados pela legislação brasileira (ANVISA) quanto à presença desse grupo de microrganismo no requeijão. A presença dessas bactérias em elevadas quantidades é um fator preocupante devido ao risco oferecido à saúde dos consumidores, uma vez que demonstra a baixa qualidade microbiológica do alimento em decorrência da má qualidade da matéria prima e/ou higiene inadequada durante o processamento e/ou armazenamento. Quanto à contagem de bolores e leveduras, a presença desses fungos no queijo compromete qualidade e a validade comercial do produto, uma vez que são potenciais deterioradores de produtos lácteos (FRANCO; ALMEIDA, 1992).

Das alterações microbiológicas, os fungos filamentosos são referidos como os principais causadores de problemas econômicos na indústria queijeira. Entre as consequências provocadas pelo desenvolvimento, destacam-se a rejeição de produtos mofados, perdas por raspagem ou retirada total da casca, além da redução do tempo de vida útil do produto (MEDINA *et al.*, 1984; TANIWAKI; VAN DENDER, 1991), e podem também representar riscos à saúde humana, pois existe a

possibilidade dessa microbiota produzir micotoxinas (PITT; CRUICKSSHANK, 1990; FRISVAD; THRAN, 1995).

Dentre as condições do local de armazenamento, consideradas por Lira (1995), destaca-se a variação de temperatura, bastante comum na comercialização desse produto, o que favorece o desenvolvimento de fungos em contagens mais elevadas do que se estocado à temperatura contínua de 25 °C. Escudero *et al.* (1981) analisaram os efeitos das alterações ocorridas na composição química sobre a qualidade do Queijo de Manteiga durante 15 dias de armazenamento em temperatura ambiente e de refrigeração, e observaram melhor sabor para as amostras mantidas sobre refrigeração.

Estudos realizados com outros tipos de requeijão, também relataram a presença de contaminantes e/ou patógenos associados às más condições higiênicas devidas à manipulação (SOUSA *et al.*, 2002; FEITOSA *et al.*, 2003; LOURENÇO; SOUSA, 2005).

Segundo a legislação brasileira o limite máximo para coliformes termotolerantes em queijos de alta umidade é de 5×10^3 (BRASIL, 2001). Os padrões microbiológicos para alimentos definidos pela RDC N° 12 para esse produto referem-se aos Coliformes a 45 °C ou coliformes termotolerantes e estafilococos coagulase positivo (BRASIL, 2001a). Ainda que não contemplado pela legislação, o estudo da presença de estafilococos coagulase negativo se faz necessário, uma vez que cepas enterotoxigênicas não são necessariamente coagulase positiva (VERAS *et al.*, 2007). Quanto aos padrões microbiológicos, o produto deverá cumprir os seguintes requisitos, de acordo com o quadro 1.

Quadro 1- Critérios microbiológicos do Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Requeijão.

Micro-organismo	Critério de Aceitação	Categoria I.C.M.S.F.	Método de Análise
Coliformes/g (30°C)	n = 5 c = 2 m = 10 M= 100	5	FIL 73 A: 1985
Coliformes/g (45°C)	n = 5 c = 2 m < 3M = 10	5	APHA 1992 Cap. 24 (1)
Estafilococos Coag. Pos./g	n = 5 c = 2 m = 100 M = 1000	5	FIL 145: 1990

Fonte: Brasil, Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1997b.

Estudos relatam a necessidade de melhoria das condições higiênicas e sanitárias em unidades de processamentos de queijos, bem como a implantação de boas práticas de fabricação para estes produtos (TORNADIJO *et al.*, 2001; ASSUMPÇÃO *et al.*, 2003; CARVALHO *et al.*, 2005; SOUSA *et al.*, 2005; BORELLI *et al.*, 2006a).

3.6. Qualidade físico-química do requeijão

A fixação de identidade e os requisitos mínimos de qualidade para queijos foram estabelecidos pela legislação, de acordo com a AOAC e o Codex Alimentarius. A classificação dos queijos é determinada a partir dos teores de gordura e umidade. Em relação ao requeijão do norte, os teores de gordura nos sólidos totais variam de 25% a 59,9%, enquadrando-se, portanto à classificação corresponde aos queijos gordos e semi-gordos. Quanto aos teores de umidade, esse produto pode ser considerado como queijo de baixa até muito alta umidade, com teor máximo de 58% (BRASIL, 1996).

O conteúdo de lactose em ácido láctico é de 3% aproximadamente em requeijões. A composição do Requeijão do Norte é semelhante à de produtos descritos na literatura como: Requeijão do Nordeste (VENTURA, 1987), quanto aos teores de umidade, proteínas, cinzas e pH; Requeijão cremoso tradicional

(HOFFMANN *et al.*, 2001) quanto ao pH; Queijo de Manteiga (NASSU *et al.*, 2003), quanto aos teores de umidade, proteínas e gordura.

A legislação brasileira (BRASIL, 1996) classifica os queijos em diferentes categorias quanto ao teor de umidade. O tempo e a temperatura utilizados no processo de cozimento da massa podem influenciar o teor de umidade, e a variação na porcentagem de gordura do queijo podem também estar relacionadas à adição de Manteiga de Garrafa, que é adicionada sem controle. Jassen Escudero; Rodriguez Amáya (1981) e Nassu *et al.* (2003) relatam variações consideráveis na composição química do Requeijão do Norte, principalmente quanto ao teor de gordura, atribuindo essas diferenças a proporção de manteiga adicionada ao produto

Quanto aos teores de gordura no extrato seco os valores obtidos indicam que o produto pode ser classificado em dois tipos segundo a legislação em vigor para queijos (BRASIL, 1996), que classifica como gordos os produtos com teores entre 45,0% a 59,9% e semi-gordos aqueles que contenham entre 25,0% a 44,9% de gordura no EST. Este parâmetro, juntamente com o teor em umidade determina a qualidade do produto.

Parâmetros físico-químicos como a atividade de água (A_w) influenciam o risco microbiológico do consumo do alimento, pois Coliformes Totais, *Escherichia Coli*, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* spp. são capazes de crescer em atividade de água mínima de 0,86, com um ótimo maior que 0,99 (EUROPEAN COMMISSION, 2003).

3.7. Referências

ALBUQUERQUE, I.P.S.; RODRIGUES, M. A. M. Qualidade microbiológica do queijo tipo mussarela artesanal comercializado em Uberlândia, MG. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.22, n. 162, p. 101-105, jun. 2008.

ALVES, R. M. V. **Estabilidade de requeijão cremoso em diferentes embalagens com e sem exposição à luz**. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2004.

AMIOT, J. **Ciência y tecnologia de la leche**. Zaragoza: Acribia, 1991.

ARDIC, M.; KARAKAYA, Y.; ATASEVER, M.; ADIGUZE, G. Aflatoxin M1 levels of Turkish white brined cheese. **Food Control**, v.20, p. 196–199, 2009.

ASSUMPÇÃO, E. G.; PICCOLI-VALLE, R. H.; HIRSCH, D.; ABREU, L. R. Fontes de contaminação por *Staphylococcus aureus* na linha de processamento de queijo prato. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, nº3, p. 366-370, 2003.

BORELLI, B. M.; FERREIRA, E. G.; LACERDA, I. C. A.; SANTOS, D. A.; CARMO, L.S.; DIAS, R. S.; SILVA, M. C. C.; ROSA, C. A. Enterotoxigenic *Staphylococcus* spp. and other microbial contaminants during production of Canastra cheese, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, p. 545-550, 2006a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146 de 07 de março de 1996. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos. **Diário Oficial**, Brasília, 11 março, 1996, p.3977-3978.

BRASIL. **Regulamento Técnico Mercosul de Identidade e Qualidade do Requeijão**. Artigo 10 da Decisão Nº 4/91 do Conselho do Mercado Comum. Brasília, 1 novembro 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 359 de 04 de setembro de 1997. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Requeijão ou Requeson. **Diário Oficial**, Brasília, 8 setembro 1997, p.19695.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001a. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos e seus anexos I e II. **Diário oficial**, Brasília, 12 janeiro 2001, p. 45.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 30, de 26 de junho de 2001b. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade

de Manteiga da Terra ou Manteiga de Garrafa; Queijo de Coalho e Queijo de Manteiga. **Diário Oficial**, Brasília, 16 julho 2001, p.13-15.

CARVALHO, J. D. G.; VIOTTO, W. H.; KUAYE, A. Y. The quality of Minas Frescal cheese produced by different technological processes. **Food Control**, v.18, p.262-267, 2005.

DIMITRELI, G.; THOMAREIS, A. S. Effect of temperature and chemical composition on processed cheese apparent viscosity. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v. 64, p. 265-271, 2004.

DORES, M.T. e FERREIRA, C. L. L. F. Queijo Minas Artesanal, tradição centenária: ameaças e desafios. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)**, v.2, n.2, p.26-34, Dezembro, 2012.

ECK, A. **O queijo**. v. 1 e 2. Portugal: Europa-América, 1987.

ESCUADERO, C. J.; AMAYA, D. B. R.; MORAES, M. A. S. Changes in composition and quality of Requeijão do Norte on storage. **Ciência e Cultura**, v.33, n° 8, p.1091-1095, 1981.

EUROPEAN COMMISSION (2003) Health & consumer protection. Directorate general. Opinion of the scientific committee on veterinary measures relating to public health on staphylococcal enterotoxins in milk products, particularly cheeses. Disponível em: <http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scv/outcome_en.html/title>. Acesso em: 29/04/2014.

FARKYE, N. Y. Cheese technology. **International Journal of Dairy Technology**, [S.l.], v. 57, n. 2/ 3, p. 91-98, may./aug. 2004.

FEITOSA, T. et al. Pesquisa de *Salmonella ssp*, *Listeria sp* e microrganismos indicadores higiênico sanitários em queijos produzidos no estado do Rio Grande do Norte. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.23, n. 6, p. 162-165, jun. 2003.

FERNANDES, A. M.; ANDREATTA, E.; OLIVEIRA, C. A. F. Ocorrência de bactérias patogênicas em queijos no Brasil: Questão de saúde pública. **Higiene Alimentar**, v.20, p. 49-56, 2006.

FRANCO, R. M.; ALMEIDA, L. E. F. Avaliação microbiológica de queijo ralado tipo Parmesão, comercializado em Niterói, RJ. **Revista de Higiene Alimentar**, v.6, n.21, p.33-36, 1992.

FRISVAD, J. C.; THRANE, U. Mycotoxins production by food-borne fungi. In: SAMSON, R. A.; HOEKSTRA, E. S.; FRISVAD, J. C.; FILTENBORG, O. (Ed.)

Introduction to Food-borne Fungi, 4th ed. **Centraalbureau voor Schimmelcultures: Baarn**, 1995. p. 251– 260.

FURTADO, M. M.; LOURENÇO NETO, J.P.M. **Tecnologia de queijos**. São Paulo: Dipemar, 1994.

FURTADO, M.M. **A arte e a ciência do queijo**. 2. ed . São Paulo: Globo, 1991. 297p.

HOFFMANN, F.L.; PENNA, A.L.B.; MANSOR, A.P.; COELHO, A. R.; VINTURIM, T. M. Estudo da qualidade do requeijão cremoso. **Indústria de Laticínios**, v. 6, nº 32, p.55-58, 2001.

INDI (Instituto de Desenvolvimento Industrial de Minas Gerais). *A Indústria de Laticínios Brasileira e Mineira em números*. 2002. Disponível em:<<http://www.indi.mg.gov.br/perfil/setores/ai.html>>. Acesso em: 21/04/2014.

JASSEN-ESCUADERO, C.; RODRIGUES-AMÁYA, D. B. Composition of the Brazilian cheese “requeijão do norte”. **Journal Food Science**, v.46, p.917-919, 1981.

LEE, S. K.; ANEMA, S.; KLOSTERMEYER, H. The influence of moisture content on the rheological properties of processed cheese spreads. **International Journal of Food Science and Technology**, [S. l.], v. 39, p. 763-771, 2004.

LE LOIR, Y.; BARON, F.; GAUTIER, M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. **Genetics and Molecular Research**, v. 2, p. 63-76, 2003.

LIMA, Carla Daniela de Las Casas. **Avaliação microbiológica e química do queijo minas artesanal da Serra do Salitre-MG**. 2005.138f. Tese (Doutorado em Microbiologia do Instituto de Ciências biológicas) – Universidade Federal de Minas Gerais.

LIRA, B. F. Avaliação das condições higiênico-sanitárias e microbiológicas dos queijos artesanais produzidos na Região do Seridó/RN. In: CONGRESSO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 14, 1995, São Paulo. Resumo. São Paulo: SBCTA, 1995, p.124.

LOURENÇO, L. F. H.; SOUSA, C. L. Análise microbiológica e teste de aceitação de requeijão Marajoara elaborado com leite de búfala. **Higiene Alimentar**, v. 19, nº 132, p.84-88, 2005.

MEDINA, M.; GAYA, P.; NUNES, M. Micotoxinas em queso. I. Aflatoxina M1 y metabolitos producidos por mohos contaminantes durante lamaduración. **Revista Española de Lechera**, v.132, p.123-131, 1984.

MORENO, I. *et al.* Impacto da qualidade da matéria-prima no produto final. In: MORENO, I.; VIALTA, A.; VALLE, J. L. E. Microrganismos responsáveis pelas

principais deteriorizações de requeijão e outros queijos fundidos. **Revista Indústria de Laticínios**, São Paulo, v. 41, n.6, p. 72-75, nov./dez. 2006.

MUNCK, A.V.; CAMPOS, W.A. Requeijão: um produto brasileiro. **Informativo Agropecuário**, v.10, p.35-38, 1984.

NASSU, R. T.; ARAÚJO, R. S.; GUEDES, C. G. M.; ROCHA, R. G. A. Diagnóstico das Condições de Processamento e Caracterização Físico-Química de Queijos Regionais e Manteiga no Rio Grande do Norte. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento - Online**, 24 p., EMBRAPA, 2003.

NASSU, R.T; ARAÚJO, R. dos SANTOS; BORGES, M.DE FÁTIMA, LIMA, J.R; MACEDO, B.A; LIMA, M.H.P; BASTOS, M. do SOCORRO R. Diagnóstico das condições de processamento de produtos regionais derivados do leite no Estado do Ceará. **Fortaleza: Boletim de pesquisa e desenvolvimento Embrapa Agroindústria Tropical**, n.1, p.28, 2001.

NETO, L. G. G., VELOSO, F. P., PAIVA, R. M. B., NEVES, M. V. O., FONSECA, L. M., SANTOS, W. L. M. Qualidade físico-química e microbiológica de queijos produzidos no Brasil – Revisão. In: Anais do XXI Congresso Nacional de Laticínios. nº.339, v. 59, p.233-236. Juiz de Fora, MG, 2004.

OLIVEIRA, C. S. Queijos artificiais. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.39, n.235, p.49-51, 1984.

OLIVEIRA, J. S. **Queijos: Fundamentos Tecnológicos**. Campinas: Ícone, 1986.

OLIVEIRA, J. S. **Queijo: fundamentos tecnológicos**. 2 ed. São Paulo: Ícone, 1990.

ÓRDOÑEZ PEREDA, J. A. *et al.* **Tecnología de alimentos**. v. 2 – Alimentos de origem animal. Porto Alegre: Artmed, 2005.

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

PINTADO, E. M.; MALCATA, F. X. Estudos descritivos e tecnológicos sobre Requeijão: caracterização e conservação. **Boletim de Biotecnologia**, nº 62, p.19-26, 1999.

PITT, J. I.; CRUICKSHANK, R.H. Speciation and synonymy in *Penicillium* subgenus *Penicillium*—towards a definitive taxonomy. In: SAMSON, R.A.; PITT, J. I. (Ed.) **Modern Concepts in Penicillium and Aspergillus Classification**. New York: Plenum Press, 1990. p.103-119.

RABÊLO, A. M. S. *et al.* Avaliação das características físico-químicas e viscosidade de requeijão cremoso tradicional e *light* comercializado em Goiânia, GO. **Revista do**

Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, v. 57, n. 327, p. 242-245, jul./ago. 2002.

RAPACCI, M. **Estudo comparativo das características físicas e químicas, reológicas e sensoriais do requeijão cremoso obtido por fermentação láctica e acidificação direta**. Tese de doutorado, UNICAMP, Campinas, 1997.

RODRIGUES, F. **Requeijão, Fondue, Especialidade, Queijo Processado**. Juiz de Fora: Do Autor, 2006.

RODRÍGUEZ, E.; CALZADA, J.; ARQUÉS, L.; NUÑEZ, M.; MEDINA, M. Antimicrobial Activity of Pediocin-producing *Lactococcus lactison* *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157:H7 in cheese. **International Dairy Journal**, v.15, p.51-57, 2005.

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

SILVA, A. E. A.; SANTOS, N. N.; SEABRA, L. M. J.; DAMASCENO, K. S. F. S. C. Quantificação de lipídios, cinzas e umidade de queijos tipos manteiga e coalho comercializados na cidade de Natal, RN. **Higiene Alimentar**, v.20, p.101-104, 2006.

SILVA, A. T.; VAN DENDER, A. G. F.; MELLO, F. M. Características de fusão de quatro diferentes tipos de massas utilizadas na fabricação de requeijão cremoso. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 59, n. 339, p. 97-103, 2004.

SILVA, M. C. C.; CASTRO, D. G. Ocorrência de surto de toxinfecção alimentar causada por queijo tipo "Minas". In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, VIII, 1995, Juiz de Fora. Resumo. Juiz de Fora. 1995. p.145-147.

SOUSA, C. L.; NEVES, E. C. A.; CARNEIRO, C. A.; FARIAS, J. B.; PEIXOTO, M. R. S. Avaliação microbiológica e físico-química de doce de leite e requeijão produzidos com leite de búfala na Ilha do Marajó – PA. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 20, p. 191-202, 2002.

SOUSA, C. L.; TORO, M. J. U.; NEVES, E. C. A. Avaliação microbiológica e físico-química do queijo cottage comercializado na cidade de Belém, PA. **Higiene Alimentar**, v. 19, nº 133, p. 86-91, 2005.

TANIWAKI, M. H.; VAN DENDER, A. G. F. Bolores produtores de toxinas em queijos: ocorrência e significado. **Revista Coletânea ITAL**, v.21, nº 2, p.187-200, 1991.

TORNADIJO, M. E.; GARCIA, M. C.; FRESNO, J. M.; CARBALHO, J. Study of *Enterobacteria* ceaduring the mufacture and ripening of San Simón cheese. **Food Microbiology**, v. 18, p. 499-509, 2001.

VAN DENDER, A. G. F. *et al.* **Requeijão cremoso e outros queijos fundidos: tecnologia de fabricação, controle do processo e aspectos de mercado.** São Paulo: Fonte Comunicações e Editora Ltda, 2006.

VENTURA, R. F. Requeijão do Nordeste: tipos e fabricação. **Revista do Instituto de Laticínios Candido Tostes**, v. 42, nº 254, p. 3-21, 1987.

VERAS, J. F.; CARMO, L. S.; TONG, L. C.; SHUPP, J. W.; CUMMINGS, C.; DOS SANTOS, D. A.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; CANTINI, A.; NICOLI, J. R.; JETT, M. A study of the enterotoxigenicity of coagulase-negative and coagulase-positive staphylococcal isolates from food poisoning outbreaks in Minas Gerais, Brazil. **International Journal of Infectious Diseases**. V. 12, p. 1-7, 2007.

4 ARTIGO

4.1 Artigo 1. QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DO REQUEIJÃO DO NORTE DE MINAS GERAIS

Este artigo foi elaborado conforme as normas da Revista Ciência Animal Brasileira.

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DO REQUEIJÃO DO NORTE DE MINAS GERAIS

Resumo

Avaliou-se a qualidade microbiológica e físico-química do requeijão do Norte de Minas Gerais produzido em dez propriedades da região por intermédio de pesquisas de Coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus* spp. do requeijão. Foram realizadas também análises físico-químicas do leite cru e do requeijão. Os resultados foram analisados por estatística descritiva. As correlações dos dados de CCS e CBT do leite e a composição química do requeijão foram estimadas pelo o coeficiente de correlação de Pearson. No requeijão, coliformes totais apresentaram média de $2,0 \times 10^6$ UFC/g e *Escherichia coli* média de $1,46 \times 10^3$ UFC/g estando ambas fora dos padrões estabelecidos e verificaram-se contagens elevadas de *Staphylococcus* spp. $2,10 \times 10^6$. A CCS média do leite foi de $3,01 \times 10^5$ células/mL sugerindo mastite subclínica nos animais. Observou-se CBT elevada no leite, com média de $2,94 \times 10^4$ UFC/mL. A composição química média do leite mostrou-se dentro do normal. Houve variação dos parâmetros físico-químicos do requeijão, demonstrando falta de padronização no processo de fabricação. Observaram-se correlações moderadas de CCS do leite com teores de proteína 0,36 e cinzas -0,48 dos requeijões. Apenas o teor de proteína dos requeijões apresentou correlação negativa -0,68 com CBT do leite cru. Os resultados indicam diversidade na composição química e qualidade microbiológica dos requeijões do Norte de Minas Gerais analisados, além de várias amostras com resultados fora dos padrões da legislação, sugerindo possível risco para a saúde dos consumidores do requeijão.

Palavras chave: requeijão; contaminação; microbiologia; físico-química; qualidade.

MICROBIOLOGICAL AND PHYSICAL-CHEMICAL QUALITY OF “REQUEIJÃO” PRODUCED IN NORTH OF MINAS GERAIS

Abstract

Microbiological and physical-chemical quality of “requeijão” – an artisanal cheese elaborated from raw milk in small farms located in the North region of Minas Gerais State, Brazil – was assessed. The samples were collected in the local of production and submitted to the counts of total coliforms, *Escherichia coli* and *Staphylococcus* spp. Raw milk used to elaborate the cheeses was also collected and were submitted to the physical-chemical analyses as well as samples of “requeijão”. Descriptive statistics was used to analyze the results. The coefficient of correlation of Pearson was used to study the correlations of somatic cell counts (SCC) and total bacterial count (TBC) in milk with the physical-chemical composition of the cheeses. Mean counts of total coliforms, *Escherichia coli* and *Staphylococcus* spp. in “requeijão” were high, reaching the values of 2.0×10^6 CFU/g, 1.46×10^3 CFU/g and 2.10×10^6 CFU/g, respectively. Counts of total coliforms and *Escherichia coli* were superior to the Brazilian official standards. Mean of SCC of milk was 3.01×10^5 cels/mL, pointing out the probability of

existence of mastitis in the studied herds. Mean of TBC was also high, reaching the value of 2.94×10^4 /mL. Although, mean values of chemical components of the milk were in agreement with the normality. However, the mean values of physical-chemical parameters of “requeijão” varied, showing a lack of standardization during its production. Moderate correlations of SCC of milk with protein 0.36 and ashes -0.48 contents of “requeijão” were detected. Only protein content of “requeijão” showed negative correlation with TBC of milk. The results indicate a wide range of the variation of the chemical composition and the microbiological quality of the “requeijão” from the North of Minas Gerais State. The great number of samples in disagreement with the microbiological standards also emphasizes a possible risk for public health and may serve as an alert to the inspection officers.

Keywords: “requeijão”; contamination; microbiology; physical-chemical; quality

INTRODUÇÃO

A produção dos queijos fundidos surgiu no início do século XX devido à necessidade de controlar a contaminação microbiana e deterioração enzimáticas em queijos suíços e alemães com o intuito de facilitar as exportações para países com climas quentes (GARRUTI *et al.*, 2003)¹.

O requeijão é denominado como sendo o produto obtido pela fusão da massa coalhada, cozida ou não, dessorada e lavada, obtida por coagulação ácida e/ou enzimática do leite, opcionalmente adicionada de creme de leite e/ou manteiga e/ou gordura anidra de leite (BRASIL, 1997)².

Encontram-se no mercado requeijões com diferentes teores de umidade, incluindo produtos bem cremosos, até bastante consistentes possíveis de serem cortados em fatias, como é o caso do requeijão do Norte do Brasil (OLIVEIRA, 1990)³.

Atualmente, o requeijão é fabricado em todo o território nacional, com algumas variações de tecnologia características de cada região (SOARES *et al.*, 2002)⁴. A variação na composição dos diferentes tipos de requeijão encontrados no mercado está relacionada com um amplo espectro de consistência desses produtos (CUNHA *et al.*, 2006)⁵. Caso essa variabilidade de composição na produção do requeijão não seja reduzida, será o principal fator pela falta de padronização das características de qualidade deste produto.

A avaliação da presença de microrganismos deteriorantes ou patogênicos em alimentos tem sido alvo de pesquisas em todo o mundo. No caso do requeijão do Norte de Minas Gerais

nem sempre é elaborado segundo normas de BPF e inspeção adequada, podendo oferecer riscos à saúde devido a contaminações provenientes da matéria-prima ou do processamento. Dentre essas contaminações podem-se destacar alguns grupos de microrganismos importantes, indicadores de manipulações deficientes, como *Staphylococcus* spp. e enterobactérias. Por isso, existe a necessidade de realização de estudos com o intuito de caracterizar esse produto lácteo, elaborado a partir de leite cru.

Portanto, esta pesquisa foi realizada com o objetivo de se conhecer a qualidade microbiológica e físico-química do requeijão artesanal produzido no norte de Minas Gerais.

MATERIAL E MÉTODOS

As coletas de requeijão do Norte de Minas Gerais foram realizadas em dez propriedades rurais nos municípios de: Botumirim, Porteirinha, Mucambinho, Guaraciama, Adão Colares, Grão Mogol e Cristália. Foram obtidas dez amostras de requeijão de elaboração artesanal, mantidas sob temperatura ambiente após cinco dias de produção. Foram também coletadas dez amostras do leite cru utilizado na produção dos requeijões. As coletas foram realizadas de forma asséptica, em recipientes isotérmicos sob refrigeração e as amostras foram encaminhadas imediatamente ao laboratório, para a realização das análises físico-químicas e microbiológicas. Todas as análises foram feitas em triplicatas.

Análises físico-químicas do leite

As amostras de leite foram conservadas com bronopol e azidiol e enviadas sob refrigeração para o LabUFMG, onde foram processadas. As análises físico-químicas foram realizadas utilizando aparelho eletrônico Bentley2000. Esse equipamento realiza análise por meio da mensuração da absorção de energia no infravermelho médio, a amostra de leite é aquecida a 40 °C, é agitada, aspirada e finalmente homogeneizada, a fim de reduzir o diâmetro dos glóbulos de gordura, e recebe irradiação pelo feixe de luz infravermelha em uma cubeta. A diferença de energia absorvida entre a amostra a ser analisada e a amostra de referência é captada por um detector de infravermelho e é quantificada e transformada automaticamente em teores de componentes, tendo como referência a curva de calibração (BENTLEY, 1998)⁷.

Análises microbiológicas do requeijão

Para as análises microbiológicas do requeijão, 25 gramas da amostra foram pesados e homogeneizados com 225 ml de solução salina 0,85% esterilizada. A partir dessa diluição inicial, foram preparadas diluições decimais, utilizando-se o mesmo diluente.

Para a contagem de coliformes totais e *E. coli*, as diluições foram inoculadas em placas Petrifilm (Petrifilm AOAC 991.14). Realizou-se a semeadura de 1 mL das diluições 10^{-1} a 10^{-3} sobre a superfície das placas e incubou-se a 35°C por 48 horas, sob aerobiose (BRASIL, 2003b)⁸.

Para a contagem de *Staphylococcus* spp. 1 mL de cada uma das mesmas diluições descritas anteriormente foi inoculado em placas *Petrifilm* (Petrifilm AOAC 991.14), e incubou-se a 37°C, e após 24 horas, as colônias vermelho-violetas foram contadas como *Staphylococcus* ssp. . Calculou-se a população, e os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônias/g (AOAC, 2000)⁹. As análises microbiológicas foram realizadas de acordo com os procedimentos determinados pelo fabricante, sendo indicados para análises em leite e queijos (SCHOELLER e INGHAM, 2001)¹⁰.

Análises físico-químicas do requeijão

Os parâmetros físico-químicos analisados nas amostras de requeijão foram: acidez titulável, pH e teores percentuais de umidade, gordura, proteína, cinzas e sólidos totais. Todas as análises foram realizadas em triplicatas e segundo os protocolos recomendados pela Instrução Normativa nº 68 do Ministério da Agricultura (BRASIL., 2006)¹¹.

Análise Estatística

Os resultados das análises físico-químicas e microbiológicas foram avaliados de acordo com os métodos de estatística descritiva Sampaio (2000)¹², calculando-se os valores médios, coeficiente de variação e desvio padrão para todas as variáveis.

Calculou-se o coeficiente de correlação linear (coeficiente de Pearson) dos valores de contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) do leite com os resultados das variáveis pH, gordura, umidade, sólidos totais, cinza, acidez e proteína encontradas nas amostras dos requeijões (SAEG, 1999)¹³.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análises físico-químicas e microbiológicas do leite cru

A composição química do leite individual varia devido a fatores associados com estágio de lactação, raça, alimentação, frequência de ordenha, idade do animal, estado sanitário, estação do ano e o clima (WALDNER et al., 2014)¹⁴.

O teor de gordura é o constituinte do leite que apresentou o coeficiente de variação mais elevado entre os parâmetros físico-químicos avaliados (Tabela 1) que pode estar relacionado com a característica genética dos animais que compõem os rebanhos da região do Norte de Minas Gerais, geralmente animais zebuínos ou resultados de cruzamentos de zebuínos com raças européias.

A gordura do leite cru utilizado para elaboração do requeijão do Norte de Minas Gerais apresentou uma variação de 0,13 a 4,86%, e o coeficiente de variação (Tabela 1) foi de 39,53%. Apenas três amostras apresentaram resultados menores que 3,0%, mínimo previsto pela legislação (BRASIL, 2011)¹⁵, sendo que isso pode reduzir o rendimento da produção de requeijão. Essas variações nos teores de gordura das amostras podem estar relacionadas ao desnate do leite pelo produtor no momento da produção do requeijão.

Tabela 1: Médias, desvios-padrão e coeficiente de variação da composição química, da contagem de células somáticas e da contagem bacteriana total do leite cru utilizado na elaboração do requeijão do Norte de Minas Gerais (n=10)

Parâmetro	Variação		Média±DP	CV (%)
	Mínimo	Máximo		
Gordura ¹ (%)	0,13	4,86	3,44±1,36	39,53
Proteína ¹ (%)	2,88	3,30	3,10±0,14	4,51
Lactose ¹ (%)	4,28	4,86	4,65±0,16	3,44
EST ¹ (%)	8,89	13,86	12,17±1,32	10,84
ESD ¹ (%)	8,26	9,11	8,73±0,22	2,52
CCS/mL ²	7,40x10 ¹	5,0x10 ³	3,01x10 ⁵ ±1,35x10 ⁵	168,89
CBT/mL ³	1,30x10 ¹	>5,6x10 ³	2,94x10 ⁴ ±2,37x10 ⁴	80,56

¹Valores expressos em g/100g; ²x 1000 cel/mL; ³x 1000 UFC/mL. DP: desvio-padrão EST: extrato seco total ESD: extrato seco desengordurado CCS: contagem de células somáticas CBT: contagem bacteriana total CV: coeficiente de variação

Neste estudo as variações no teor de proteína (Tabela 1) foram semelhantes aos descritos por Martins *et al.* (2006)¹⁶, que encontraram valores entre 2,82 a 3,25% de proteína no leite. Das amostras analisadas, apenas uma apresentava teor de proteína abaixo do valor mínimo exigido pela legislação brasileira (BRASIL, 2011)¹⁵, que corresponde a 2,9%.

A média dos valores de lactose para as amostras de leite cru foram semelhantes a valores descritos na literatura, Lima *et al.* (2006)¹⁷ verificaram média de 4,47% de lactose pra 31 amostras estudadas de leite utilizado na produção de queijo fundido no estado de Pernambuco. A lactose é o componente que menos varia no leite bovino segundo (GONZALEZ, 2001)¹⁸.

Com relação ao extrato seco total (EST), o valor médio das amostras de leite cru analisadas foi de 12,17%. Segundo Foschiera (2004)¹⁹, a avaliação da percentagem de extrato seco é indispensável para se avaliar a integridade de um leite. Admite-se no leite normal o mínimo de 11,41% de extrato seco total.

Houve variações nos teores de ESD do leite cru entre 8,26 e 9,11% (Tabela 1), porém, os valores atenderam ao que é preconizado pela legislação vigente - no mínimo 8,4% (BRASIL, 2011)¹⁵. O percentual de ESD pode ter variado em função do tipo de alimentação fornecida aos animais. O aumento do nível de energia na dieta de vacas pode conduzir a um aumento de até 0,2% no percentual de ESD (RENEAU & PACKARD, 1991)²⁰.

As médias dos componentes químicos do leite cru das propriedades avaliadas apresentaram valores próximos àqueles relatados em diversos estudos realizados no Brasil: Durães *et al.* (2001)²¹, para gordura; Lima *et al.* (2006)¹⁷, para proteína; Lima *et al.* (2006)¹⁷, para lactose; Durães *et al.* (2001)²¹, para EST.

De uma maneira geral, o leite cru utilizado na produção dos requeijões atende aos limites estabelecidos pela legislação (BRASIL, 2006)¹¹ para os parâmetros físico-químicos. Fernandes *et al.* (2013)²², ao avaliarem leite cru produzido na região do Norte de Minas Gerais, encontraram valores próximos aos do presente estudo.

Em relação às CCS, a Instrução Normativa N° 62 (BRASIL, 2011)¹⁵, preconiza o limite máximo 4×10^5 células/mL desde 2014. O valor médio de CCS das amostras de leite cru nesta pesquisa foi de $3,01 \times 10^5$ células/mL, atendendo à legislação. A média de CCS, corrobora com as médias encontradas em leite cru e relatadas por Paula *et al.* (2004)²³, de $4,87 \times 10^4$ células/mL, e por Machado *et al.* (2000)²⁴, de $5,05 \times 10^5 \pm 593.000$ células/mL.

Para produção de queijos, CCS acima de 2×10^5 células/mL sugere perdas significativas na produção, baixo rendimento do leite e diminuição da vida útil do produto processado.

Indicativos de mastite subclínica em bovinos são CCS acima de $2,0 \times 10^3$ a $7,5 \times 10^3$ células/mL de leite (SOUZA *et al.*, 2009)²⁵. Portanto, as médias de CCS verificadas nas análises desta pesquisa sugerem a presença de mastite subclínica nos rebanhos das propriedades amostradas.

Durante a mastite, o teor de caseína no leite é normalmente diminuído, devido à redução da síntese e a ocorrência de proteólise (SENIK *et al.*, 1985)²⁶. Enzimas proteolíticas quebram a caseína do leite e podem comprometer o rendimento do leite usado na fabricação de queijos (POLITIS e NG-KWAI-HANG, 1988a)²⁷. CCS alta no leite tem sido associada com o aumento do tempo de coagulação e a obtenção de textura menos firme da massa do queijo (POLITIS e NG-KWAI-HANG, 1988b)²⁸. É possível, ainda, que a multiplicação de bactérias ácido-láticas seja inibida por ação antibacteriana de componentes das células de defesa do sangue. Também é um sério problema para a saúde pública, pois o leite proveniente de uma vaca com mastite apresenta-se contaminado com microrganismos nocivos a saúde, podendo conter enterotoxinas e, principalmente, resíduos de antibióticos. Observa-se então, que esta enfermidade é um grande entrave econômico e sanitário da exploração leiteira e um fator limitante da qualidade do leite (RIBEIRO, 2014)²⁹.

Em relação à CBT, as amostras de leite cru apresentaram contagens superiores ao permitido pela legislação, com um valor médio de $2,94 \times 10^4 \pm 2,37 \times 10^4$ UFC/mL sendo que na IN 62 (BRASIL, 2002)³⁰ determina o valor máximo de 1×10^5 UFC/mL. Contagens elevadas de CBT podem estar associadas à mastite, e refletem condições de higiene inadequadas do leite destinado a produção de requeijão, além de pouca atenção com o controle de temperatura de resfriamento do leite. Como consequência, o leite com elevada CBT pode apresentar aumento da acidez, queda no rendimento e deterioração dos derivados lácteos. Em situações em que há falta de higiene ou falhas na refrigeração do leite, essa microbiota é representada predominantemente por microrganismos mesófilos. Bactérias mesófilas como *Lactobacillus* spp., *Streptococcus* spp. e *Lactococcus* spp. atuam na fermentação da lactose, produzindo ácido lático que, ao acidificar o leite, reduz drasticamente o uso e valor comercial (SANTOS; FONSECA, 2007³¹; TAFFAREL *et al.*, 2013³²). O aumento da CBT pode acarretar alterações na composição química do leite e,

conseqüentemente, trazer prejuízos para a qualidade do leite e, conseqüentemente, produção de derivados, indicando falhas na produção e higiene (BUENO *et al.*, 2008)³³.

Análises microbiológicas do requeijão do Norte de Minas Gerais

A quantificação de coliformes totais nas amostras de requeijão do Norte de Minas Gerais variou de $7,3 \times 10^3$ a $5,0 \times 10^6$ UFC/mL (Tabela 2). Segundo a legislação brasileira, o limite máximo para coliformes em queijos de alta umidade é de 5×10^3 UFC/mL, estando às amostras do presente estudo de em desacordo com os limites estabelecidos pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Requeijão (BRASIL,1997)². Estes resultados sugerem que as condições de produção do requeijão favoreceram a contaminação por coliformes em decorrência de práticas inadequadas de processamento e manipulação dos ingredientes, manteiga e o sal, ou mesmo do produto final após processamento.

Tabela 2: Médias, variações e coeficiente de variação (CV) da contagem de Coliformes, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* presentes nas amostras de requeijão do Norte de Minas Gerais (n=10)

Microrganismos	Variação (UFC/g)		Média (UFC/g)	CV (%)
	Mínimo	Máximo		
<i>Escherichia coli</i> ¹	$3,00 \times 10^1$	$3,40 \times 10^3$	$1,46 \times 10^3$	93,06
Coliformes totais ¹	$7,30 \times 10^3$	$5,00 \times 10^6$	$2,10 \times 10^6$	108,33
<i>Staphylococcus spp.</i> ¹	$4,40 \times 10^3$	$5,10 \times 10^6$	$2,0 \times 10^6$	93,59

1-UFC g⁻¹ (UFC = Unidade Formadora de Colônia). CV= Coeficiente de Variação.

A legislação preconiza máximo de 5×10^2 UFC/mL para *Escherichia coli* e 5×10^3 UFC/mL para coliformes totais em requeijões (BRASIL, 1997)². Neste estudo, foram observadas algumas amostras fora dos padrões exigidos pela legislação para *Escherichia coli*. Todas as amostras de Coliformes totais estavam em desacordo com a legislação (Tabela 2). A ingestão de requeijão contaminado pode trazer conseqüências para a saúde dos consumidores,

como, por exemplo, gastroenterites. Altas contagens de *Escherichia coli* sugerem a falta de procedimentos higiênicos adequados durante toda a cadeia de produção do requeijão, incluindo a comercialização do produto sem embalagem. A presença de coliformes fecais é um indicativo da manipulação incorreta e falta da aplicação de procedimentos de boas práticas de fabricação, evidenciando assim risco para a saúde dos consumidores (SALOTTI *et al.*, 2006)³⁴.

A presença de *Escherichia coli* em um alimento pode ser avaliada sob dois significados. Inicialmente, indica o alimento apresenta contaminação microbiana de origem fecal indicando que o produto está em condições higiênicas insatisfatórias. O outro aspecto a ser considerado é que diversas linhagens de *E. coli* (*E. coli* enteropatogênica clássica, *E. coli* enteroinvasora, *E. coli* enterotoxigênica e *E. coli* enterohemorrágica) são comprovadamente patogênicas para o homem e animais (FRANCO; LANDGRAF, 1996)³⁵.

O consumo de queijos elaborados a partir de leite cru representa um grande risco à população devido à alta incidência de *E. coli* neste produto (ÖKSUZ *et al.*, 2003)³⁶.

No presente estudo, foram observadas altas contagens de *Staphylococcus* spp. (Tabela 2) que indicam que o consumo do requeijão pode causar prejuízos à saúde pública. Segundo Tortora *et al.* (2002)³⁷, *Staphylococcus* spp. em contagens superiores a 10^5 UFC g⁻¹ são capazes de produzir toxinas em quantidade suficiente para causar intoxicações alimentares.

O grupo de bactérias estafilococos encontra-se largamente distribuído no meio ambiente e tem como o principal habitat a pele, as glândulas e as membranas mucosas e o trato intestinal do homem e dos animais. A presença de *Staphylococcus* spp. observada nas amostras de requeijão sugere uma provável participação de manipuladores portadores desse microrganismo (BALABAN; RASOOLY, 2000)³⁸.

A alta contagem de *S. aureus* em queijos artesanais é frequentemente detectada em trabalhos relacionados à microbiologia de queijos elaborados com leite cru no Brasil (FARIA *et al.*, 2002)³⁹ e no mundo (PSONI *et al.*, 2003)⁴⁰. A contaminação dos alimentos pode sugerir condições de manipulação inadequada e deficientes de limpeza e desinfecção (BORGES *et al.*, 2008)⁴¹.

Análises físico-químicas do requeijão do Norte de Minas Gerais

Nassu *et al.* (2003)⁴² encontraram valores de pH oscilando entre 4,9 a 7,4 nas amostras de requeijão e relataram que diferenças na determinação do ponto final da redução de acidez,

seja por adição de bicarbonato de sódio e/ou lavagens sucessivas da massa com água e adição de leite, influenciam o pH e a acidez do produto final.

Tabela 3: Médias, desvios-padrão e coeficiente de variação da composição química e propriedades físico-químicas do requeijão do Norte de Minas Gerais (n=10)

Parâmetro	Média±DP ¹	CV ² (%)
Ph	5,04±0,51	10,11%
Acidez titulável (unidade?)	0,13±0,03	23,07%
Gordura (%)	28,09±5,48	19,50%
Proteína (%)	19,74±2,78	14,08%
Umidade (%)	42,90±6,39	14,89%
EST (%)	57,00±6,39	11,21%
Cinzas (%)	2,54±0,51	20,07%

^{1/} Desvio padrão; ^{2/} Coeficiente de variação. EST: extrato seco total

Segundo Lerayer *et al.* (1998)⁴³, não há diferenciação entre requeijão cremoso e de corte. De acordo com o RTIQ (BRASIL, 1997)², do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, o teor de gordura do requeijão deve ser entre 24 e 32%. A média do teor de gordura observado nas amostras de requeijão analisado foi de 28,09% (Tabela 3), estando dentro dos padrões estabelecidos. Jassen-Escudero; Rodriguez-Amaya (1981)⁴⁴ e Nassu *et al.* (2003)⁴² relataram variações consideráveis na composição química do requeijão, principalmente quanto ao teor de gordura, atribuindo essas diferenças a proporção de manteiga adicionada ao produto.

A Portaria nº 359/1997 (BRASIL, 1997)² estabelece que o requeijão em barras deve apresentar teor de umidade de até 60 %. Entretanto, observou-se nas amostras analisadas valor médio de 42,9% (Tabela 3), valor bem abaixo do permitido pela Portaria nº359/1997, o que pode ajudar no tempo de conservação do produto, uma vez que a alta umidade favorece o crescimento de micro-organismos deteriorantes. O RTIQ (BRASIL, 1997)² classifica os queijos em diferentes categorias quanto ao teor de umidade: requeijão em barras máximo 60%, requeijão cremoso máximo 65% e requeijão de manteiga 58%. As amostras de requeijão apresentaram variações de umidade de 33,98 a 59,23% (Tabela 3). Essas variações de umidade podem ocorrer devido ao tempo e a temperatura utilizados no processo de cozimento da massa, os quais podem afetar o teor de umidade, assim como as etapas de lavagem da

massa e a ausência de embalagem durante o transporte e a estocagem. O requeijão analisado se classifica como de média umidade.

Foram observadas variações nas amostras de requeijão para EST (40,76 a 66,02%). A falta de padronização das operações de processamento contribuiu para estas variações, bem como a utilização de ingredientes variados no preparo do requeijão, seja o leite, a manteiga de garrafa ou o sal.

Vianna *et al.* (2008)⁴⁵ encontraram valores próximos aos observados no presente estudo para o teor de cinzas. Nassu *et al.* (2003)⁴² e Silva *et al.* (2006)⁴⁶ também associaram a variação de parâmetros físico-químicos das amostras de requeijão à falta de padronização dos ingredientes, aliados a vários fatores inerentes a cada processamento e a utilização de processos artesanais com tecnologias simples adotados individualmente por cada produtor resultando na diferenciação das características físico-químicas entre requeijões produzidos na mesma região.

Análises de correlação das contagens células somáticas (CCS) e bacteriana total (CBT) do leite e composição química do requeijão do Norte de Minas Gerais

Quanto à correlação existente entre CCS e sua influência sobre os constituintes do leite (Tabela 4), observou-se correlação positiva entre CCS e proteína; assim como para a gordura, os resultados referentes à concentração protéica do leite frente ao aumento da CCS são discordantes em diversos trabalhos.

Tabela 4: Correlações lineares de Pearson entre a contagem de células somáticas (R^1) e contagem bacteriana total (R^2) encontradas das amostras analisadas de leite cru utilizado na elaboração do requeijão e os teores percentuais de gordura, proteína, sólidos totais, cinzas, umidade, pH e acidez das amostras analisadas do requeijão do Norte de Minas Gerais (n=10)

Variável	R^1	R^2
Gordura	-0,23909	0,492618
Proteína	0,364421	-0,684720
Sólidos Totais	-0,0023	0,264114
Cinzas	-0,48535	0,393744
Umidade	0,00223	0,684985
Ph	-0,07723	0,187044
Acidez titulável	-0,07358	0,420328

r- Coeficiente de correlação linear de Pearson.

Machado; Pereira e Sarrís (2000)²⁴ constataram menor concentração de proteína nas amostras de requeijão conforme aumentou a CCS do leite. Contudo, Noro et al. (2006)⁴⁷ encontraram maior concentração de proteína com o incremento da CCS idem. Nesse caso, o aumento na concentração total de proteína não deve ser considerado favorável à qualidade do leite, pois em situações de mastite, normalmente, ocorre redução das proteínas sintetizadas na glândula mamária e aumento das proteínas séricas (albuminas séricas e imunoglobulinas) no interior da glândula mamária, devido à alteração da permeabilidade dos capilares sanguíneos, (PEREIRA *et al.*, 1999)⁴⁸. Fernandes *et al.* (2004)⁴⁹ observaram correlação positiva para conteúdo de proteína nas amostras de requeijão somente quando o leite apresentou CCS inferior a 500.000 céls./mL, e não encontraram correlação entre níveis de CCS e gordura. Nesta pesquisa, a umidade também apresentou correlação positiva (Tabela 4), embora este valor possa ser considerado baixo. Outros autores também observaram queijos com maior umidade a partir de leite com maior CCS (VIANNA *et al.*, 2008)⁴⁵.

O coeficiente de correlação entre CCS e teor de gordura foi negativo (Tabela 4), evidenciando a existência de controvérsia sobre os efeitos da CCS sobre a concentração de gordura no leite (MOURA *et al.* 2009)⁵⁰, pois o aumento da concentração de alguns componentes do leite, como a gordura, pode ser ocasionado pela diminuição da produção de leite devido à infecção da glândula mamária (PEREIRA *et al.*, 1999)⁵¹.

Houve correlação moderada CCS e teor de cinzas (Tabela 4). Isso se explica devido ao fato de o cálcio abaixar consideravelmente em função da CCS. Os parâmetros sólidos totais, pH e acidez apresentaram correlações negativas com CCS (Tabela 4) esses resultados são semelhantes aos encontrados por Matioli *et al.* 2000⁵².

Elevados de CCS pioram significativamente os conteúdos de gordura, proteína, sólidos totais e a proporção de umidade das substâncias não gordurosas, quando o leite contendo 600.000 células/mL apresentou um queijo com 0,5% menos de gordura, 0,4% menos de proteína, 0,9% menos sólidos totais e 0,9% mais de umidade que o queijo produzido com 100.000 células/mL (Politis e Ng-Kwai-Hang, 1988a)²⁷.

Em relação à correlação entre contagem bacteriana total (CBT) e as variáveis estudadas, apenas o teor de proteína apresentou correlação negativa com a CBT (Tabela 4). Andrade, Hartmann e Masson (2009)⁵² verificaram redução do teor protéico do leite com o aumento da CBT e atribuíram essa ocorrência à produção de proteases por micro-organismos psicrotróficos, que hidrolisam a caseína do leite. Entretanto, as proteases reduzem principalmente a K-caseína, visto que essa fração protéica está localizada na porção externa

da micela, enquanto a β -caseína e a α -caseína encontram-se nas camadas mais internas. A K-caseína, ao ser hidrolisada, provoca desestabilização da micela, levando à coagulação e acúmulo de peptídeos responsáveis pelo aparecimento de sabor amargo e adstringente no leite (SANTOS; FONSECA, 2007)³¹.

Em à acidez titulável, foi observada correlação positiva com a CBT (Tabela 4). De maneira geral, os microrganismos mesófilos predominam em situações que há falta de condições básicas de higiene e deficiências relacionadas com a refrigeração do leite. Nessas circunstâncias, algumas enterobactérias agem intensamente quando ocorre a fermentação da lactose, produzindo ácido láctico e, conseqüentemente, acidez do leite. A acidez do leite pode ocasionar a coagulação da caseína e, assim, limitar o uso para o processamento em derivados como no caso deste estudo o requeijão.

Houve correlação positiva na concentração de gordura e EST do leite conforme a CBT aumentou neste estudo (Tabela 4). A justificativa para a correlação positiva entre EST e CBT, possivelmente, deve-se ao aumento do teor de gordura com o incremento da CCS.

Porém, o aumento nos teores de gordura e minerais à medida que se eleva a contagem bacteriana total (CBT) não deve ser considerado favorável à qualidade do leite, visto que o aumento da contaminação bacteriana, como dito anteriormente, ocorre como resultado de deficiências higiênico-sanitárias do processo produtivo do leite.

Contrariamente a esse resultado, espera-se que com aumento da CBT ocorra diminuição na percentagem de gordura em leite cru refrigerado (BUENO *et al.*, 2008³³, ANDRADE; HARTMANN; MASSON, 2009⁵²), devido à ação de fosfolipases produzidas por bactérias psicrótróficas, que são os principais deterioradores desse tipo de alimento. Essas enzimas favorecem a hidrólise dos triglicerídeos, originando ácidos graxos livres que conferem sabor rançoso ao leite (SANTOS; FONSECA, 2007)³¹. Contudo, o aumento concomitante da CBT e do teor de gordura nas amostras analisadas pode estar relacionado à infecção da glândula mamária que, ao contribuir para o aumento da CBT do leite, diminui o volume da produção, aumentando a concentração de gordura.

CONCLUSÕES

O leite cru apresentou qualidade inadequada para elaboração de requeijão e seu teor de proteínas foi negativamente alterado pelas elevadas CCS no leite cru.

A qualidade microbiológica dos requeijões produzidos na região Norte de Minas Gerais foi insatisfatória, tanto pela população dos indicadores higiênicos detectados, Coliformes totais, quanto pela presença de *Staphylococcus* spp. e *Escherichia coli*, podendo representar risco à saúde pública ao ser consumido.

Variações dos parâmetros físico-químicos do leite determinaram a falta de padronização dos mesmos indicadores de composição e qualidade do requeijão.

REFERÊNCIAS

1. GARRUTI, D. et al. Desenvolvimento do Perfil Sensorial e Aceitação de Requeijão Cremoso. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 23(3), p. 434-440, set/dez, 2003.
2. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 359 de 04 de setembro de 1997. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Requeijão ou Requesõn. *Diário Oficial*, Brasília, 8 setembro 1997, p.19695.
3. OLIVEIRA, J. S. Queijo: fundamentos tecnológicos. 2 ed. São Paulo: Ícone, 1990.
4. SOARES, F.M. et.al. Influência do concentrado protéico de soro na composição do requeijão em barra com teor reduzido de gordura. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v.54, n.6, p.91-96, 2002.
5. CUNHA, C. R.; VIOTTO, W. H.; VIOTTO, L. A. Use of low concentration factor ultrafiltration retentates in reduced fat “Minas Frescal” cheese manufacture: Effect on composition, proteolysis, viscoelastic properties and sensory acceptance. *International Dairy Journal*, v.16, n.3, p.215-224, 2006.
6. ALVARES, C.A., J.L. STAPE, P.C. SENTELHAS, J.L.M. GONÇALVES, 2013: Modeling monthly mean air temperature for Brazil. – *Theor. Appl. Climatol.* 113, 407–427.
7. BENTLEY INSTRUMENTS INC. Bentley 2000. Bentley Instruments Inc., 1998. 79 p.
8. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Métodos Oficiais para Análise Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Instrução Normativa nº62 de 26 de agosto de 2003b.

9. A.O.A.C. 2000. Official Methods of Analysis Association of Official Analytical Chemist. EUA.
10. SCHOELLER, N. P.; INGHAM, S. C. Comparison of the Baird-Parker agar and 3MTM PetrifilmTM rapid *S. aureus* count plate methods for detection and enumeration of *Staphylococcus aureus*. Food Microbiology, Amsterdam, v. 18, n. 6, p. 581-587, 2001.
11. BRASIL. MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 68, de 12 dezembro de 2006 – Oficializar os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 2006.
12. SAMPAIO, I.B.M. Estatística aplicada à experimentação animal. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2000. Estatística descritiva básica, p.14-19.
13. UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA-UFV. Manual de utilização do programa SAEG (Sistemas para Análises Estatísticas e Genéticas). Viçosa: Imprensa Universitária, 1999. 59 p.
14. WALDNER, D.N. et al. Managing milk composition: normal sources of variation. Acesso em 12 set. 20014. Online. Disponível na Internet <http://www.osuextra.com>
15. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62 de 29 dezembro de 2011. Altera o caput... da Instrução Normativa n.51 de setembro de 2002. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 30 de dez. de 2011, Seção 1, p.6-11.
16. MARTINS, P. R. G. et al. Produção e qualidade do leite na bacia leiteira de Pelotas-RS em diferentes meses do ano. Ciência Rural, Santa Maria, v.36, n.1, p.209-214, 2006.
17. LIMA, M.C.G.; SENA, M.J.; MOTA, R.A. *et al.* Contagem de células somáticas e análises físico-químicas e microbiológicas do leite cru tipo c produzido na Região Agreste do Estado de Pernambuco. Arq. Inst. Biol., v.73, p.89-95, 2006.
18. GONZÁLEZ, F.H.D. Composição bioquímica do leite e hormônios da lactação. In: Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras, 1., 2001, Passo Fundo. Anais... Porto Alegre: 2001 . p.5-21.
19. FOSCHIERA, Jose Luiz. Indústria de Laticínios: Industrialização do leite, Análises, Produção de derivados. Porto Alegre: Suliani Editografia Ltda, 2004.
20. RENEAU, J.K. & PACKARD, V.S. Monitoring mastitis, milk quality and economic losses in dairy fields. Daire, Food and Environmental Sanitation, 11: 4-11, 1991.
21. DURÃES, M.S.; FREITAS, A.R.; COSTA, C.N. Influência da raça e do touro na qualidade do leite. Rev. Balde Branco, p.36-42. 2001.

22. FERNANDES, R. F.; PEREIRA, A. S. F.; PINHO, L. Influência da sazonalidade em parâmetros físico-químicos do leite cru recebido por um laticínio no Norte de Minas Gerais. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v. 68, n. 393, p. 36-41, Juiz de Fora, jul/ago, 2013.
23. PAULA, M. C. de et al. Contagem de células somáticas em amostras de leite. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 33, n. 5, p. 1303-1308, 2004.
24. MACHADO, P. F.; PEREIRA, A. R.; SARRÍES, G. A. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 29, n. 6, p. 1883- 1886, 2000.
25. SOUZA, G.N., BRITO, J.R.F., MOREIRA, E.C., BRITO, M.A.V.P., SILVA, M.V.G.B. Variação da contagem de células somáticas em vacas leiteiras de acordo com patógenos da mastite. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.61, n.5, p.1015-1020, 2009.
26. SENYK, G. F.; BARBANO, D. M.; SHIPE, W. F. Proteolysis in milk associated with increasing somatic cell counts. *J. Dairy Sci.* v. 68, p. 2189-2194, 1985.
27. POLITIS, I.; NG-KWAI-HANG, K. F. Association between somatic cell count of milk and cheese-yielding capacity. *J. Dairy Sci.* v. 71, p. 1720-1727, 1988a.
28. POLITIS, I.; NG-KWAI-HANG, K. F. Effects of somatic cell counts and milk composition on the coagulating properties of milk. *J. Dairy Sci.* v. 71, p. 1740–1746, 1988b.
29. RIBEIRO, W. O.; OLIVEIRA, R. L.; MARTINS, M. L. et al. Enumeração de microrganismos causadores da mastite bovina e estudo da ação de antimicrobianos. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v. 69, n. 1, p 45-52, 2014.
30. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Aprova os Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, de 20 de setembro de 2002, Seção 1, p.13.
31. SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. Contagem de células somáticas e qualidade industrial do leite. In: 2º curso online sobre qualidade do leite. Instituto Fernando Costa, Milkpoint, 2007.
32. TAFFAREL, L. E. et al. Contagem bacteriana total do leite em diferentes sistemas de ordenha e de resfriamento. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 80, n. 1, p. 7-11, 2013.
33. BUENO, V. F. F. et al. Contagem bacteriana total do leite: relação com a composição centesimal e período do ano no Estado de Goiás. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 15, n. 1, p. 40-44, 2008.

34. SALOTTI, B.M.; CARVALHO, A.C.F.B.; AMARAL, L.A.; VIDAL MARTINS, A.M.C.; CORTEZ, A.L. Qualidade microbiológica do queijo Minas Frescal comercializado no município de Jaboticabal, SP, Brasil. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, v.73, n.2, p.171-175, 2006.
35. FRANCO, B.D.G.M., LANDGRAF, M. Microbiologia dos alimentos. São Paulo : Atheneu, 1996. 182p
36. ÖKSÜZ, Ö.; ARICI, M.; KURULTAY, S.; GÜMÜS, T. Incidence of *Escherichia coli* O157 in raw milk and white pickled cheese manufactured from raw milk in Turkey. 2003. Food Control. Disponível em: www.sciencedirect.com. Acesso em 15 nov. 2015.
37. TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C.L. Microbiologia. Porto Alegre: Artmed Editora, 2002.
38. BALABAN, N.; RASOOLY, A. Staphylococcal enterotoxins: a review. International Journal of Food Microbiology, Amsterdam, v.61, n. 10, p. 1-10, nov. 2000.
39. FARIA, L. M.; FONSECA, L. M.; CABRAL, M. C.; FERREIRA, C. L. L. F.; MACHADO, E. C. Avaliação microbiológica de queijos Minas Artesanal fresco e maturado produzido na região do Serro-MG. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, n. 327, v. 57, p. 66-70, Juiz de Fora, jul./ago. de 2002.
40. PSONI, L.; TZANETAKIS, N.; LITOPOULOU-TZANETAKI, E. Microbiological characteristics of Batzos, a traditional Greek cheese from raw goat's milk. Food Microbiology, v. 20, p. 575-582, 2003.
41. BORGES, M. F et al. Contamination profile for staphylococci and its enterotoxins and monitorization of the conditions of hygiene in a 'coalho' cheese production line: Ciência Rural, Santa Maria, v.38, n.5, p. 1431-1439, set/out. 2008
42. NASSU, R. T.; ARAÚJO, R. S.; GUEDES, C. G. M.; ROCHA, R. G. A. Diagnóstico das Condições de Processamento e Caracterização Físico-Química de Queijos Regionais e Manteiga no Rio Grande do Norte. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento- Online, 24 p., EMBRAPA, 2003.
43. LERAYER, Alda Luiza Santos et al. Nova legislação de produtos lácteos e de alimentos para fins especiais, diet, light e enriquecidos. São Paulo: Fonte, 1998.
44. JASSEN-ESCUADERO, C.; RODRIGUES-AMÁYA, D. B. Composition of the Brazilian cheese "requeijão do norte". Journal Food Science, v.46, p.917-919, 1981.
45. VIANNA, P.C.B.; MAZAL, G.; SANTOS, M.V.; BOLINI, H.M.A.; GIGANTE, M.L. Microbial and a sensory changes throughout the ripening of Prato cheese made from milk with different levels of somatic cells. Journal of Dairy Science, v.91, p.1743-1750, 2008.

46. SILVA, A. E. A.; SANTOS, N. N.; SEABRA, L. M. J.; DAMASCENO, K. S. F. S. C. Quantificação de lipídios, cinzas e umidade de queijos tipos manteiga e coalho comercializados na cidade de Natal, RN. *Higiene Alimentar*, v.20, p.101-104, 2006.
47. NORO, G. et al. Fatores ambientais que afetam a produção e a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 35, n. 3, p. 1129-1135, 2006.
48. PEREIRA, A. R. et al. Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite I – gordura e proteína. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 36, n. 3, 1999.
49. FERNANDES, A.M.; OLIVEIRA, C.A.F.; TAVOLARO, P. Relação entre a contagem de células somáticas e a composição do leite individual de vacas holandesas. *Arq. Inst. Biol.*, v.71, p.163-166, 2004.
50. MOURA, A. C. et al. Avaliação da qualidade do leite cru refrigerado no estado de Alagoas. *Revista Higiene Alimentar*, v. 23, n. 172/173, p. 156-160, 2009.
51. MATIOLI, G.P.; PINTO, S.M.; ABREU, L.R.; XAVIER, L.; TEIXEIRA, L.A.M. Influência do leite proveniente de vacas mastísticas no rendimento de queijo Minas frescal. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v.54, n.313, p.38-45, 2000.
52. ANDRADE, U. V. C.; HARTMANN, W.; MASSON, M. L. Isolamento microbiológico, contagem de células somáticas e contagem bacteriana total em amostras de leite. *Revista Ars Veterinária*, v. 25, n. 3, p. 129-135, 2009.