

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

ELISANGELA BORSOI PEREIRA

**AVALIAÇÃO DE QUEIJOS COLONIAL E COLONIAL IMBRIAGO SUBMETIDOS
A DIFERENTES TEMPOS DE PRODUÇÃO E MATURAÇÃO.**

Marechal Cândido Rondon – Paraná
2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

ELISANGELA BORSOI PEREIRA

**AVALIAÇÃO DE QUEIJOS COLONIAL E COLONIAL IMBRIAGO SUBMETIDOS
A DIFERENTES TEMPOS DE PRODUÇÃO E MATURAÇÃO.**

Dissertação apresentada a Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição e Alimentação Animal, para obtenção do título de Mestra em Zootecnia.

Orientadora: Prof. Dra. Magali Soares dos Santos Pozza.
Co-Orientadora: Prof. Dra. Patrícia Barcellos Costa

Marechal Cândido Rondon – Paraná
2014

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca da UNIOESTE – Campus de Marechal Cândido Rondon – PR., Brasil)

P436a	<p>Pereira, Elisangela Borsoi Avaliação de queijos colonial e colonial imbrigo submetidos a diferentes tempos de produção e maturação / Elisangela Borsoi Pereira. - Marechal Cândido Rondon, 2014. 99 p.</p> <p>Orientadora: Profª Drª Magali Soares dos Santos Pozza Coorientadora: Profª Drª Patrícia Barcellos Costa</p> <p>Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon, 2014.</p> <p>1. Queijo. 2. Queijo - Fabricação. 3. Queijo - Variedades. I. ZPozza, Magali, Soares dos Santos. II. Costa, Patrícia Barcellos. III. Título.</p> <p>CDD 22.ed. 637.3 CIP-NBR 12899</p>
-------	--

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

ELISANGELA BORSOI PEREIRA RICKLI

AVALIAÇÃO DE QUEIJOS COLONIAL E COLONIAL IMBRIAGO SUBMETIDOS
A DIFERENTES TEMPOS DE PRODUÇÃO E MATURAÇÃO

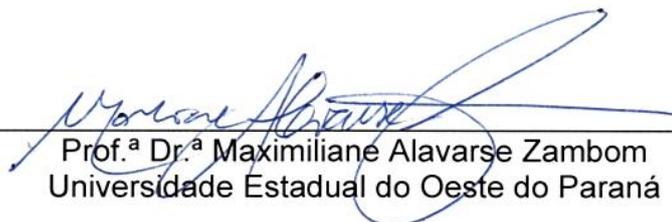
Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação *stricto sensu* em Zootecnia, Área de Concentração "Produção e Nutrição Animal", para a obtenção do título de "Mestra em Zootecnia".

Marechal Cândido Rondon, 26 de setembro de 2014.

BANCA EXAMINADORA:



Prof.^a Dr.^a Magali Soares dos Santos Pozza
Universidade Estadual de Maringá



Prof.^a Dr.^a Maximiliane Alavarse Zambom
Universidade Estadual do Oeste do Paraná



Prof.^a Dr.^a Fabiana Andre Falconi
Universidade Estadual do Oeste do Paraná



Dr.^a Milene Puntel Osmani
Universidade Estadual de Maringá

Aos meus filhos.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, pela oportunidade.

A CAPES, pela concessão da bolsa de estudos que possibilitou esta realização.

À professora Dr^a Magali Soares dos Santos Pozza, pela orientação desta dissertação e principalmente por ter adotado este projeto, que para mim, tem extrema importância e significado pessoal. Por seu apoio, confiança e por ter delineado a fase experimental de forma que fosse possível ter sido executado.

A minha coorientadora, professora Dr^a Patrícia Barcellos Costa, pelo apoio, incentivo, contribuição na compra de reagentes e por nos ajudar a delinear a fase experimental.

Ao Centro Mesorregional de Excelência em Tecnologia de Leite – CMTEL-Oeste, por ceder equipamentos e contribuir com a compra de reagentes.

Aos professores Osmar Dalla Santa e Herta Stutz Dalla Santa, por terem me recebido e cedido, não apenas os laboratórios do curso de engenharia de alimentos da UNICENTRO, mas também seu precioso tempo me treinando, esclarecendo dúvidas, sugerindo e por muitas vezes tranquilizando. Agradeço ainda mais pela oportunidade de terem se sentado junto comigo a frente de uma bancada de análises microbiológicas e me darem a grata satisfação de ouvir que aquele lugar estava a serviço de bem maior que os limites delineados por cargos institucionais. Que a pesquisa deve ser voltada ao desenvolvimento da sociedade e que para eles, é obrigação das instituições públicas disponibilizá-las à pesquisa pública responsável.

Ao agropecuarista e Médico Veterinário Luiz Alberto Rickli por ter tornado possível a execução deste projeto.

A minha mãe, Oliva Délia Borsoi, por todo conhecimento tecnológico compartilhado e principalmente por ter estado junto comigo em toda fase de produção, a qual sem sua ajuda teria sido impossível realizar este projeto. Agradeço ainda mais por ter sempre sido simplesmente, a minha mãe.

Ao meu pai, Darcy Doart Pereira, por estar sempre me apoiando e torcendo por mim com toda força que tem para me oferecer.

As minhas irmãs, Elaine e Elissandra, por serem realmente isto tudo, minhas irmãs que tanto amo.

A minha amiga e colega Suzana da Cruz Pires, que esteve presente em algumas fazer de produção e também por ser parceira de pesquisa, escrita, publicações e sobre tudo, de vida.

A minha amiga Carolina Remlinger, por ser sempre companheira.

A minha tia nona Elide Lorenzetti Borsoi, por dividido comigo com todo carinho seu processo tecnológico de produção do Formaggio Imbriago, e principalmente, por ser sua honrada guardiã.

As então laboratoristas da microbiologia de alimentos da UNICENTRO, Isabela, Priscila e Helen, por tanta louça lavada, meios de cultivo preparados e um pouco de descontração na tensão proporcionada por tantas horas no laboratório.

A Gessi e Batista da Cruz Pires, por terem me recebido por várias vezes em sua casa, com todo carinho e apoio.

Ao meu nonos Guido Genildo Borsoi e Helena Zanchetta Borsoi, que junto com meus pais e tios, delinearam o meu caráter, respeito e amor aos valores de família.

Aos meus avós, Dorvalina Duarte e Deocides Pereira, por serem um raro exemplo de companheirismo, dedicação e casamento que tenho em minha vida.

Ao meu primo Joelmir André Borssoi, Matemático, mestre em Engenharia Agrícola e doutor em Estatística, por ser um profissional sempre prestativo e ter me ajudado a ler os meus dados.

A Odila e Alberto Rickli, por me cederem os animais que integraram este projeto.

Ao gentilíssimo secretário da pós graduação em Zootecnia da UNIOESTE, Paulo Henrique Morsch. Sempre prestativo, atencioso, rápido em solucionar até mesmo o que está pouco além de seu alcance, por certamente ser um especialista em “quebrar galhos”. Registro minha admiração por ser um exemplo para o funcionalismo público.

Acima de tudo e de todos agradeço a Deus, por sempre colocar em meu caminho as pessoas certas nos momentos certos, e com toda certeza, foram as melhores dentre todas as que ele teve como opção.

As demais pessoas que de alguma forma possam ter colaborado com este projeto, recebam o meu “Muito Obrigada”.

“Se você não acredita no mensageiro, não vai acreditar na mensagem”.

James C. Hunter

AVALIAÇÃO DE QUEIJOS COLONIAL E COLONIAL IMBRIAGO SUBMETIDOS A DIFERENTES TEMPOS DE PRODUÇÃO E MATURAÇÃO.

RESUMO

Dois experimentos foram conduzidos com o intuito de identificar a melhor época para produção e tempo de maturação de queijo Colonial Tradicional e Colonial Imbriago no município de Pinhão – Paraná. Dez fêmeas bovinas Holandês, mantidas em pastagem e suplementadas, forneceram individualmente 11 litros de leite pela manhã. O volume total foi coagulado cru imediatamente pós ordenha, à 32°C, seguido processo tradicional do Colonial. Cem queijos foram produzidos em cinco diferentes épocas do ano, cada uma submetida em sete tempos de maturação, onde zero para dia da produção, um, dois, três, quatro, seis e oito meses de maturação. Em duplicata as amostras foram pesadas, mensuradas para atividade da água (*Aw*), número de bactérias lácticas (*BAL*), mesófilas lipolíticas e proteolíticas e presença de *Listeria spp.* Foram registradas temperatura e umidade relativa ambiente. Todos os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), aplicado teste de Tukey, a 5% de significância e analisados pelo programa estatístico *Sisvar*. No primeiro trabalho foram avaliados os parâmetros sobre o Queijo Colonial Tradicional do tempo zero ao oitavo meses de maturação. O delineamento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial duplo, considerando o período de produção como fator 1 e tempo de maturação como fator 2. O segundo trabalho avaliou o tratamento da casca ocorrido no terceiro mês, nos tempos quatro, seis e oito meses de maturação. O delineamento foi em blocos casualizados em esquema de parcelas subdivididas, sendo bloco: período de produção; parcela: tempo de maturação; e sub-parcela: tratamento da casca. No primeiro trabalho, para perda de peso, não houve diferença entre os queijos ao final dos oito meses. A perda foi relevante até o segundo mês de maturação, fase crítica inicial do processo. Para *Aw*, os queijos produzidos em maio e junho se mantiveram com maiores teores e os produzidos em novembro com os menores valores. Para *BAL*, para todos os queijos avaliados houve aumento significativo no primeiro mês, mas o decréscimo ocorreu apenas para os queijos produzidos em novembro e maio, indicando que o processo de acidificação e posterior estabilização da maturação pode ter ocorrido com maior eficiência nestes meses. Quanto às bactérias lipolíticas, os queijos produzidos em maio e junho tiveram as maiores contagens, provavelmente em função das menores temperaturas. Para bactérias proteolíticas, houve evidente efeito das épocas mais frias sobre as contagens, principalmente até o segundo mês de maturação. Comparados os tratamentos da casca, no

segundo trabalho, não houve efeito sobre perda de peso, contagem de bactérias mesófilas lipolíticas e proteolíticas. Os queijos Imbriago apresentaram teores para Aw e contagem de bactérias ácido lácticas significativamente superiores ao Colonial Tradicional, que ocorreu apenas no quarto mês de maturação, que pode ser consequência da hidratação ocorrida no momento do tratamento da casca. Pode-se concluir que os queijos produzidos em maio podem ser representar o melhor período para a produção, tanto para o colonial como para o Imbriago. Quanto ao tratamento da casca, a provável reidratação não representa um risco sanitário.

Palavras-chave: Queijo Colonial, Formaggio Imbriago, maturação, microbiota autóctone, lipolíticas, proteolíticas.

EVALUATION OF COLONIAL AND IMBRIAGO COLONIAL CHEESES SUBJECTED TO DIFFERENT TIMES OF PRODUCTION AND MATURATION.

ABSTRACT

Two experiments were conducted, in order to identify the best time for production and maturation of Traditional Colonial and Imbriago Colonial cheese in the municipality of Pinhão - Paraná. Ten Holstein heifers, grazing on pasture and supplemented, individually provided 11 liters of milk in the morning. The total volume was clotted raw immediately after milking, at 32°C, followed traditional Colonial process. One hundred cheeses were produced in five different seasons, each one subjected to seven maturation times, where zero for production day, one, two, three, four, six and eight months of maturation. Samples were weighed in duplicate, measured for water activity (A_w), number of lactic acid bacteria (LAB), lipolytic and proteolytic mesophilic and presence of *Listeria spp.* Temperature and ambient relative humidity were recorded. All data were subjected to analysis of variance (ANOVA), applied Tukey test, at 5% significance and analyzed by *Sisvar* statistical program. In the first study, the parameters on the Traditional Colonial Cheese were evaluated from time zero to eighth months of maturation. The lineation was completely randomized, in a double factorial scheme, considering the production period as factor 1 and maturation time as factor 2. The second work evaluated the peeling treatment occurred in the third month, in times four, six and eight months of maturation. The lineation was in randomized blocks in a scheme of split plots, being block: production period; plot: maturation time; and subplot: peeling treatment. In the first work, for weight loss, there was no difference between the cheeses at the end of eight months. The loss was relevant until the second month of maturation, the process initial critical phase. To A_w , cheeses made in May and June remained with the highest concentrations, and the ones produced in November with the lowest values. To BAL, for all assessed cheeses there was significant increase in the first month, but the decrease occurred only for cheeses made in November and May, indicating that the process of acidification and subsequent maturation stabilization may have occurred with more efficiency in these months. As for lipolytic bacteria, cheeses made in May and June had the highest scores, probably due to lower temperatures. For proteolytic bacteria, there was an evident effect of the coldest times on the counts, especially until the second month of maturation. Comparing the peeling treatments, in the second study, there was no effect on weight loss, lipolytic and proteolytic mesophilic bacteria counting. Imbriago cheeses showed contents for A_w and lactic acid

bacteria counts significantly higher than Traditional Colonial, starting only in the fourth month of maturation, which may be a consequence of the hydration occurring at the peeling treatment time. It can be concluded that cheeses produced in May can be indicated as the best period for production, both for the colonial as for the Imbriago. Regarding the peeling treatment, the probable rehydration does not represent a health risk.

Keywords: Colonial Cheese, Imbriago Formaggio, maturation, autochthonous microbiota, lipolytic, proteolytic.

SUMÁRIO

1. Revisão de literatura.....	18
1.1 Queijo como forma de estocar nutrientes e de segurança alimentar.....	18
1.2 Queijo Colonial, uma fração da Identidade Cultural.....	18
1.3 Rastreamento a história do Formaggio Imbriago.....	19
1.4 Sazonalidade na produção e composição de leite e seus derivados.....	21
1.5 Produção de queijos imediatamente após a ordenha.....	21
1.6 Segurança do Alimento.....	22
1.7 Maturação.....	24
1.8 Temperatura e Umidade Relativa.....	26
1.9 Perda de Peso.....	27
1.10 Atividade da Água.....	28
1.11 Perfil microbiológico.....	29
1.11.1 Bactérias Ácido Láticas.....	30
1.11.2 Bactéria Mesófilas Lipolíticas.....	32
1.11.3 Bactéria mesófilas proteolíticas.....	33
1.11.4 <i>Listeria spp.</i>	33
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35
CAPÍTULO I – MICROBIÓTA AUTÓCTONE LÁTICA, MESÓFILA LIPOLÍTICA E PROTEOLÍTICA EM QUEIJO COLONIAL PRODUZIDO EM DIFERENTES ÉPOCAS, MATURADOS POR ATÉ OITO MESES.....	41
Abstract	43
1 Introdução.....	45
2 Material e Métodos.....	46
3 Resultados e Discussão.....	50
3.1 Temperatura e Umidade Relativa.....	50
3.2 Perda de peso.....	54
3.3 Atividade da água.....	56
3.4 Parâmetros Microbiológicos.....	58
3.4.1 Enumeração de bactérias ácido láticas (BAL).....	58
3.4.2 Enumeração de bactérias mesófilas lipolíticas.....	59

3.4.3 Enumeração de Bactérias Mesófilas Proteolíticas.....	61
3.4.4 Pesquisa de <i>Listeria spp.</i>	61
4 Conclusão.....	63
5 Referências Bibliográficas.....	64
CAPÍTULO II – COMPARAÇÃO ENTRE QUEIJO COLONIAL E COLONIAL IMBRIAGO A PARTIR DE PARAMETROS MICROBIOLÓGICOS AUTÓCTONE E AMBIENTAIS.....	67
Abstract	63
1 Introdução.....	71
2 Material e Métodos.....	71
3 Resultados e Discussão.....	75
3.1 Temperatura e Umidade Relativa.....	75
3.2 Perda de peso.....	76
3.3 Atividade da água.....	76
3.4 Parâmetros Microbiológicos.....	77
3.4.1 Enumeração de bactérias ácido lácticas (BAL).....	77
3.4.2 Enumeração de bactérias mesófilas lipolíticas.....	77
3.4.3 Enumeração de Bactérias Mesófilas Proteolíticas.....	78
4 Conclusão.....	79
5 Referências Bibliográficas.....	80
CONSIDERAÇÕES FINAIS	81
ANEXO A – Tabelas.....	82
Tabela 01. Fluxograma da determinação das médias de temperatura e umidade relativa para cada período de produção e tempo de maturação.....	82
Tabela 02. Médias de temperatura médias, mínimas, máximas e amplitude, para cada períodos de produção (PP) e subsequentes tempos de maturação (TM), expressos em graus celsius (°C). Novembro (PP1), Dezembro (PP2), Março (PP3), Maio (PP4) e Junho (PP5).....	83
Tabela 03. Médias de umidade relativa do ar médias, mínimas, máximas e amplitude, para cada períodos de produção (PP) e subsequentes tempos de maturação (TM), expressos em percentual (%).Novembro (PP1), Dezembro (PP2), Março (PP3), Maio (PP4) e Junho (PP5).....	84
Tabela 04. Taxa de perda de peso dos queijos produzidos em novembro (PP1), março	

(PP3), maio (PP4) e junho (PP5), para os tempos de maturação 1, 2, 3, 4 e 6 meses.....	84
Tabela 05. Atividade da água em queijos produzidos em novembro (PP1), março (PP3) e maio (PP4), nos tempos de maturação 0, 1, 2, 3, 4 e 6 meses.....	85
Tabela 06. Contagem de bactérias ácido lácticas (log) entre períodos de produção de novembro (PP1), dezembro (PP2), maio (PP4) e junho (PP5), nos tempos de maturação 0, 1, 2 e 6 meses, onde zero representa o dia de produção.....	85
Tabela 07. Contagem de bactérias ácido lácticas entre períodos de produção de novembro (PP1), maio (PP4) e junho (PP5), nos tempos de maturação 0, 1, 2, 3, 4 e 6 meses, onde zero representa o dia de produção.....	85
Tabela 08. Contagem de bactérias mesófilas lipolíticas entre os períodos de produção Novembro (PP1), Março (PP3), Maio (PP4) e Junho (PP5), nos tempos de maturação (TM) 0, 1, 2, 3, 4 e 6 meses, onde zero representa o dia de produção.....	86
Tabela 09. Contagem de bactérias mesófilas proteolíticas entre períodos de produção Março (PP3, Maio (PP4) e Junho (PP5), nos tempos de maturação (TM) 0, 1, 2, 3 e 6 meses, onde zero representa o dia de produção.....	86
ANEXO B – Figuras.....	87
Figura 01. Alimentador individual para suplementação dos animais.....	87
Figura 02. Animais em pastejo ao final do terceiro período produtivo, os queijos produzidos em Março.....	87
Figura 03. <i>Brachiária brizantha</i> após geada, pastagem que deu origem ao queijo do mês de Maio ou PP4, aparentemente o melhor de todos.....	88
Figura 04. Aveia até segundo pastejo, pastagem que deu origem aos queijos de Junho, PP5, os que apresentaram estufamento tardio.....	88
Figura 05. Sala de ordenha com sistema de ordenha individual de dois animais simultaneamente.....	89
Figura 06. Sala de coagulação, prensagem e salga dos queijos.....	89
Figura 07. Sala de secagem equipada com prateleiras e estrados sobre estas, com balança digital e um datalogger de registro de temperatura e umidade relativa do ar.	90

Figura 08. Datalogger de registros de temperatura e umidade relativa do ar.....	90
Figura 09. Fluxograma do processo produtivo dos queijos Colonial e Colonial Imbriago.....	91
Figura 10. Dois queijos feitos no mês de Novembro (PP1). O A no primeiro dia e o B no segundo dia. Percebe-se a casca bem firme e formada. A oleosidade aparente é liberada pelo próprio queijo, sendo este um dos fatores de perda de peso.....	92
Figura 11. A esquerda um queijo produzido em Fevereiro, até então identificado como tendo sido produzido no Período três (PP3), que teve que ser todo descartado por não ter se formado a casca e ter havido deterioração e putrefação de toda partida.....	92
Figura 12. Exemplo dos queijos que foram produzidos no mês de fevereiro, partida que teve que ser completamente descartada. Na data fixada experimentalmente estava chovendo e impossibilitou a formação da casca.....	93
Figura 13. Queijo com exatos dez dias de produção. Evidente evolução do processo de formação da casca.....	93
Figura 14. Prateleira de Queijos Colonial e Colonial Imbriago tampados, na sala de envelhecimento.....	94
Figura 15. Queijo do período de produção um (PP1) aos 30 dias de maturação (TM1) com fissuras internas típicas do Queijo Colonial.....	94
Figura 16. Variação de temperatura média nos meses correspondentes a produção e diferentes tempos de maturação (TM) dos queijos, determinados a partir da data de produção para cada período de produção (PP). Valores expressos em °C.....	95
Figura 17. Imagem de um queijo produzido em Maio (PP4), com três meses de maturação (TM3).....	95
Figura 18. Queijo do período de produção cinco (PP5) aos 30 dias de maturação (TM1) com olhaduras grandes e conseqüente deformação do produto como conseqüência do característico estufamento tardio.....	96
Figura 19. Variação de temperatura média nos meses correspondentes a produção e diferentes tempos de maturação (TM) dos queijos, determinados a partir da data de produção para cada período de produção (PP). Valores expressos em	

°C.....	96
Figura 20. Variação de umidade relativa do ar média nos meses correspondentes a produção e diferentes tempos de maturação (TM) dos queijos, determinados a partir da data de produção para cada período de produção (PP).....	97
Figura 21. Evolução gradual do peso dos queijos (%) dos períodos de produção (PP) 1, 3, 4 e 5, nos tempos de maturação (TM) 1, 2, 3, 4 e 6 meses, avaliados estatisticamente em função da perda de peso percentual ocorrida entre os tempos de maturação.....	97
Figura 22. Queijo Imbriago produzido por Elide Lorenzetti Borsoi, com aproximadamente dois anos de maturação.....	98
Figura 23. Queijo Imbriago em processo de maturação pendurados no porão da casa dos Borsoi, Santa Catarina.....	98
Figura 24. Queijo durante o processo de embriaguez (ubriacatura) realizado no projeto.....	99
Figura 25. Local de imersão tradicional dos queijos na casca da uva residual resultante da drenagem da fermentação para o vinho.....	99
Figura 26. Queijo Colonial Imbriago liberando gordura nos dias de temperatura ambiente mais elevada (aproximadamente 29°C).....	100
Figura 27. Queijo Colonial Imbriago produzido em maio (PP5), com quatro meses de maturação.....	100

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Queijo como forma de estocar nutrientes e de segurança alimentar

Para Silveira (2006), queijo é o produto proveniente da coagulação do leite seguido da desidratação da coalhada, podendo ser de massa fresca ou de massa maturada. É um concentrado protéico e gorduroso, fabricado a partir da coagulação do leite, seguido da retirada do soro e posterior maturação, se característica. É um dos alimentos mais antigos da história da humanidade. Certamente a forma mais antiga de se conservar os nutrientes do leite. Podemos tratá-lo como uma forma de dar longa vida ao leite, por ser a melhor forma de preservá-lo sem a necessidade de cozimento.

Com o advento da domesticação, principalmente dos bovinos, a possibilidade de poder transportar e obter este alimento fresco diariamente, ainda nas fases nômade da humanidade, tornou o leite um alimento presente na dieta dos seres humanos em todas as faixas etárias. Ainda mais importante por se tratar de um alimento tão nobre e perecível. Foi justamente esta perecibilidade a responsável direta sobre o surgimento do queijo primitivo, proveniente de modificações físico-químicas das micelas de caseína sob a ação de enzimas proteolíticas e/ou ácido láctico, levando à formação de uma rede protéica, seguido da separação do soro lácteo, após ruptura mecânica do coágulo (BONATO, 2006; HOHENDORFF, 2006).

O queijo é um alimento importante no tocante à segurança alimentar por ser um dos alimentos mais nutritivos que se conhece. Consumir um queijo com 48% de gordura, contendo entre 23-25% de proteína, significa em termos de valor protéico, que 210 g desse produto equivalem a 300 g de carne (PERRY, 2004)

1.2 Queijo Colonial, uma fração da Identidade Cultural

Embora a própria concepção de produto colonial ainda esteja em construção, sua imagem está relacionada aos imigrantes europeus e seus descendentes, sobretudo os de origem italiana e alemã do Sul do Brasil, onde *colono* significa o trabalhador dos núcleos coloniais, criados pelo governo para introdução de imigrantes, sendo sinônimo de agricultor. Assim, “Colonial” faz referência a certa cultura e tradição ligada ao saber-fazer dos imigrantes, ao seu modo de vida, a suas formas específicas de ocupar o território e fazer agricultura, atributos valorizados pelos consumidores (DORIGON & RENK, 2010).

Dorigon & Renk (2010) observaram que no mundo de produção artesanal, os valores remetem às relações familiares e de vizinhança, à tradição, costumes, à hierarquia e à sucessão de gerações, à relações de confiança e fidelidade. Para Poulain & Proença (2003), o processo de preparo e de servir um alimento, além de marcar as fronteiras de identidade entre os grupos humanos de uma cultura ou outra, marca também o interior de uma mesma cultura além de ser um meio de criar e delinear uma comunidade.

O processo produtivo do queijo sofreu modificações ao longo do tempo, principalmente como consequência das particularidades das diversas regiões e culturas para onde foi sendo levado, além das diferentes espécies domésticas produtoras de leite. Atualmente, os queijos são indiscutivelmente ligados ou responsáveis pela identidade, com extrema relevância econômica e cultural, de países como a França, Itália, Suíça e Portugal.

Para Zuin & Zuin (2008), por meio da produção de alimentos tradicionais, o produtor rural de pequeno porte pode afastar-se da marginalização social. Nesse sentido, um novo paradigma de desenvolvimento rural estaria vinculado à valorização espacial e à valorização cultural (CRUZ & SCHNEIDER, 2010).

A prevalência de pequenas propriedades nos estados do Sul do Brasil favorece o desenvolvimento da atividade leiteira, que está presente nos 399 municípios paranaenses além de sua importância social (FAEP, 2014; PARRÉ et al., 2010; PARRÉ et al., 2011). Segundo estudo do IPARDES (2008), baseado nos dados do último censo agropecuário, o Paraná conta com 20,4% da população vivendo em 211.936 propriedades no campo e destas, 119.810 são produtoras de leite. Destas, 55% tem produção diária de até 50 litros, alcançando um total de 14,7% da produção, já 6% com produção diária acima de 251 litros são responsáveis por 42% da produção paranaense.

1.3 Rastreamento a história do Formaggio Imbriago

Com a crise da indústria na Europa, 30% (365.710) dos imigrantes italianos vindos para o Sul do Brasil entre os anos de 1874-1920 eram originários do Veneto (FRANZINA, 2006) e trouxeram com eles seus produtos primários, como sementes, mudas de plantas e animais e de manufatura, além das técnicas de produção e hábitos culturais. De acordo com Franzina (2006), os primeiros a chegarem foram desembarcados no Rio Grande do Sul em 1875.

Seja qual for sua origem, o Formaggio Imbriago tem características estreitamente relacionadas com a origem das matérias-primas, a localização e técnicas de maturação e envelhecimento tradicionalmente utilizadas, típicos da província de Treviso (TREVISAN, 2009). Assim como a busca da identidade se dá pelo alimento, parte da cultura Veneta foi introduzida nas terras ocupadas no Brasil, reproduzindo-se características locais Trevisianas.



Queijo durante o processo de embriaguez (ubriacatura) tradicional.

“**Formaggio Imbriago**” é de uso do produto com denominação de origem protegida (DOP), e escrito com “n”. É caracterizado como de média dureza e sabor acentuado e picante quando bem maturado, incluído na categoria de queijo italiano “maturado em subprodutos do vinho” (Di CAGNO et al., 2007). Trevisan (2009) menciona que para proteger e preservar a produção tradicional deste queijo, a Associação dos Produtores de Leite de Veneto Regional (A.Pro.La.V, 2000) decidiu iniciar o processo para o reconhecimento da especialidade da DOP, do processo específico de envelhecimento e maturação posterior, seguindo um procedimento estabelecido ao longo do tempo, que prevê a imersão dos queijos em bagaço fresco e suave, mosto e vinho.

No Brasil, conhecido como queijo Colonial Curado, pintado na Casca de Uva, os entraves certamente são os mesmos, além de seu paladar tão específico que perde em preferência do consumidor para o Colonial Tradicional, curado por seis a dez dias.

O processo produtivo praticado na presente pesquisa segue as adaptações praticadas no Brasil na forma do Colonial, que como já mencionado, também não é padronizado.

1.4. Sazonalidade na produção e composição de leite e seus derivados

Um dos aspectos importantes do mercado do leite diz respeito à instabilidade da renda do produtor, provocada pela sazonalidade da produção. Na análise da variação sazonal do preço e da produção do leite no Estado do Paraná, de 2000 a 2007, destaca-se um comportamento típico no preço recebido pelos produtores de leite, que aumentam de janeiro a julho e diminuem de julho a dezembro (CAPUCHO et al., 2009).

A sazonalidade da produção constitui-se um obstáculo para a cadeia do leite como um todo. A indisponibilidade de alimento em quantidades suficientes para o rebanho leiteiro nos meses de inverno, na maioria das regiões produtoras, leva a queda na produção de leite e alterações nas proporções de seus constituintes, como gordura e proteína. Para amenizar o problema, os animais são suplementados com silagem e/ou rações e estas elevam os custos de produção (BACARI JR. et al., 2012). Um dos fatores mais relevantes que podem influenciar no volume, qualidade e composição do leite, é a temperatura, que está diretamente relacionada com fotoperíodo ou as estações do ano que atualmente não se apresentam bem definidas.

Pela adaptação ao frio, a raça Holandesa apresenta desconforto em consequência de temperatura e umidade relativa elevadas, os quais causam diminuição na produção (PLACE & MITLOEHNER, 2010). Huber (1990) preconiza que valores de temperatura média se situem na faixa de 4,0 a 26,0°C para conforto térmico. Este intervalo de temperatura para conforto térmico do rebanho leiteiro coincide em grande parte com ambiente menos propícios a multiplicação de micro-organismos mesófilos (25 a 40°C), presentes naturalmente no leite, que coincide com a temperatura tanto do corpo humano quanto do úbere, onde é sintetizado.

1.5 Produção de queijos imediatamente após a ordenha

A refrigeração do leite é uma tecnologia de conservação indispensável que tem como efeito indesejável a seleção de bactérias psicotróficas deteriorantes, produtoras de enzimas termoresistentes que podem comprometer a qualidade do leite e derivados (FERREIRA et al.,

2012). Estes autores produziram Queijo Labneh a partir de leite pasteurizado e incubado com *Pseudomonas fluorescens* numa população de 10^6 UFC/gr e a consequência foi a redução no rendimento.

Na Europa, em decorrência da refrigeração e a aplicação de normas de higiene, a diversidade de bactérias lácticas tem diminuído no leite cru, que representa uma importante fonte de novas cepas com potencial inibidor de microbiota indesejável, sobretudo, no que se refere à biopreservação de lácteos (NESPOLO, 2009). Como o Queijo Colonial, em seu processo tradicional de produção não recebe tratamento térmico (SCHMITT et al., 2011), ocorre a multiplicação de micro-organismos mesófilos, patogênicos e/ou não patogênicos, também comprometendo a produção, principalmente quanto a qualidade microbiológica e as características decorrentes desta.

A imediata produção dos queijos findada a ordenha sinaliza ser uma alternativa tanto para reduzir as perdas de rendimento quanto amenização dos problemas relacionados à microbiota autóctone indesejável.

1.6 Segurança do Alimento

Para ANVISA (2013), define-se alimento como todas as substâncias ou misturas de substâncias destinadas à ingestão por humanos, que tenham como objetivo fornecer nutrientes ou outras substâncias necessárias para a formação, manutenção e desenvolvimento normais do organismo, independente do seu grau de processamento e de sua forma de apresentação. Esta mesma agência descreve como ingredientes as substâncias utilizadas no preparo ou na fabricação de alimentos, e que estão presentes no produto final em sua forma original ou modificada.

O queijo Colonial, um alimento composto por ingredientes que podem oferecer risco microbiológico a saúde, de acordo com estudo realizado por Dalla Rosa (2005), são maturados em salas não climatizadas, sofrendo ação direta das condições e variações ambientais de temperatura e umidade relativa principalmente do período do ano em que são produzidos.

O queijo é um dos produtos mais suscetíveis a contaminações microbianas, em razão dos vários processos envolvidos na sua fabricação, como a coagulação do leite, corte do coágulo, dessora, enformagem, salga e maturação (FURTADO, 2005).

Com relação à produção de queijo, a legislação Brasileira até 16/12/2011 determinava que o período mínimo de maturação para queijos produzidos a partir de leite não pasteurizado era de dois meses, o que excluía automaticamente diversos queijos culturalmente produzidos no Brasil da possibilidade de comercialização e por consequência, restringindo as alternativas de renda familiar, além de impor limite à expressão da cultura. A partir desta data, com a regulamentação da Instrução Normativa Nº 57 de 16 de dezembro de 2011, que foi criada para:

- “Art. 1º Permitir que os queijos artesanais tradicionalmente elaborados a partir de leite cru sejam maturados por um período inferior a 60 (sessenta) dias, quando estudos técnico-científicos comprovarem que a redução do período de maturação não compromete a qualidade e a inocuidade do produto” e que para isto,

- “§ 1º A definição de novo período de maturação dos queijos artesanais será realizada por ato normativo específico, após a avaliação dos estudos por comitê técnico-científico designado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento”.

- “§ 2º para efeito de comércio internacional deverão ser atendidos os requisitos sanitários específicos do país importador” e que

- “Art. 2º a produção de queijos elaborados a partir de leite cru, com período de maturação inferior a 60 (sessenta) dias, fica restrita a queijaria situada em região de indicação geográfica certificada ou tradicionalmente reconhecida e em propriedade certificada oficialmente como livre de tuberculose e brucelose, sem prejuízo das demais obrigações dispostas em legislação específica”.

- “Art. 3º As propriedades rurais onde estão localizadas as queijarias devem descrever e implementar:

I - Programa de Controle de Mastite com a realização de exames para detecção de mastite clínica e subclínica, incluindo uma análise mensal do leite da propriedade em laboratório da Rede Brasileira da Qualidade do Leite - RBQL para composição centesimal, Contagem de Células Somáticas e Contagem Bacteriana Total - CBT;

II - Programa de Boas Práticas de Ordenha e de Fabricação, incluindo o controle dos operadores, controle de pragas e transporte adequado do produto até o entreposto; e

III - cloração e controle de potabilidade da água utilizada nas atividades.”

Entre as barreiras mais comumente usadas na conservação de alimentos estão os conservadores microbianos competidores, como as bactérias lácticas, por sua produção de bacteriocinas ou redução do pH (SILVA, 2007).

A comprovação pré-mercado da segurança de uso de determinados alimentos e ingredientes é uma exigência legal, estabelecida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2013).

Nascimento & Raszl (2012) com base em estudo de correlação entre o grau de conformidade às boas práticas agropecuárias (BPA) e a segurança do leite, acreditam que para a qualidade e a segurança dos produtos lácteos serem garantidas, antes de tudo é preciso conhecer seu processo de obtenção, que atualmente é uma das principais barreiras para se produzir leite com qualidade. Para Toledo et al. (2004), esta qualidade e segurança do leite são fatores de competitividade essenciais nas cadeias de produção agroalimentar.

A legislação é tida muitas vezes como de intuito punitivo e não como de orientação por produtores e por diversos autores, principalmente os que estudam processos artesanais. Esta percepção pode induzir a errônea dedução de que o produtor artesanal é uma pessoa incapaz de desenvolver suas atividades de produção e transformação de produtos de forma eficiente. Além disso, Chalita (2012) concluiu que faltam dispositivos formais de qualidade na estrutura dominante do mercado queijeiro que abriguem as noções de qualidade expressas pelos consumidores. Para este pesquisador estas noções de qualidade, na visão do consumidor, favorecem a valorização dos queijos artesanais nacionais e no aumento do consumo de queijos em geral, na diminuição da dependência do mercado interno por este tipo de produto estrangeiro, além disso, na visibilidade do Brasil como produtor artesanal de queijos no cenário internacional.

1.7 Maturação

O Queijo Colonial pode ser submetido a diferentes tempos de maturação, que num conceito amplo, refere-se a um processo de atualização de determinada função ou processo biológico, que depende da interação do indivíduo/produto com o meio exterior, com o consequente desenvolvimento de estados funcionais mais ou menos apurados e estáveis. Nesta fase inicia-se o metabolismo secundário com produção de substâncias aromáticas (LAW & TAMINE, 2010).

A lise da Caseína ocorre como resultado da atividade de diversas enzimas, onde seus principais contribuintes são o coalho, proteases e peptidases da flora natural ou adicionada ao leite (FOX e LAW, 1991).

A adição de proteases é uma estratégia para acelerar o processo de maturação e consequentemente reduzir custos, como no exemplo mencionado por Coelho et al. (2008), de quatro para um mês. Além de enzimas, podem ser adicionadas culturas microbianas específicas, que podem direcionar o processo para diferentes sabores e texturas, como por exemplo, na maturação predominantemente láctica dos queijos Holandês, Port-Salut e Cheedar, maturação propiônica como no Gruyere e Ermental e também na maturação por *Penicillium*, que no queijo Camembert realiza uma ação externa e no Gorgonzola e Roquefort tem efeito no interior dos queijos.

Durante a proteólise ocorre a fragilização da rede protéica e o aumento na capacidade de derretimento do queijo (TUNICK et al., 1991). A atividade proteolítica é determinada principalmente pelos níveis residuais e tipo de coagulante usado, enzimas nativas do leite, pela relação de sal na umidade, que no caso da proteólise, quanto maior este valor, menor será a proteólise (LAWRENCE et al., 1987), pela temperatura de maturação e pH durante a maturação.

Outro componente natural do leite são as lipases, que proporcionam sabor picante característico de queijos italianos e outros queijos especiais (CE, 2006; LE GUICCIARDE, 2014). Elas hidrolisam os lipídeos do leite produzindo ácidos graxos e estes, de acordo com concentração e tipo de cadeia determinam o flavor. Em condições naturais, como na produção de queijos autóctones, os lípidos são atacados também pelas enzimas de micro-organismos lipolíticos, que apesar de fracamente ativas, produzem fortes alterações das características do queijo, por gerarem substâncias fortemente aromáticas.

Uma característica inerente a dieta animal pode provocar alterações no tamanho dos glóbulos de gordura do leite bovino (COUVREUR et al., 2006) e por consequência a exposição destes as lipases.

O queijo Colonial não maturado, que representa a grande maioria do produto comercializado, em função da própria demanda, apresenta teor de umidade acima de 55%, classificado como de muito alta umidade (OLIVEIRA et al., 2012).

Estudos específicos a respeito do potencial da microflora nativa isolada de queijos artesanais indicaram que estas podem produzir características sensoriais mais pronunciadas que os inóculos industriais (MARILLEY e CASEY, 2004).

A produção para comercialização tem como finalidade agregar valor à produção, no entanto descumprem a Instrução Normativa nº 57 (BRASIL, 2011), incluindo os produtores artesanais na marginalidade (CINTRÃO, 2012), uma vez que descumprem o tempo mínimo de 60 dias de maturação, quando não realizados estudos técnico-científicos que comprovem a

sanidade destes antes do prazo indicado, além de serem certificados como área livre de Brucelose e Tuberculose Bovina.

Dentro do período de maturação ocorre a fermentação da lactose com consequente acidificação do meio, o que torna o ambiente desfavorável para micro-organismos patogênicos.

Queijos de casca, como o Colonial, precisam de umidade (entre 85% e 95%) e temperatura amenas para conservar sua leveza e sua qualidade. A recomendação é de que não havendo disponibilidade de tradicionais porões, que possuem as construções de arquitetura italiana, para dispor os queijos durante a maturação, Sperat-Czar (2012) aconselha sua conservação em uma mobilha com gaveta de madeira, onde há conservação da umidade para não haver desidratação, que já acontece espontaneamente na maturação.

1.8 Temperatura e Umidade Relativa

Variáveis ambientais, além de determinarem a composição do leite, como já discutido, exercem efeitos diretos sobre os queijos. A temperatura ambiente tem efeito direto sobre a temperatura interna dos alimentos e no caso de alimentos cuja esta variável ambiental não é controlada para seu armazenamento, sofre variações internas em função do ambiente externo.

Enzimas são catalisadores por excelência e tem seu efeito potencializado sob maiores temperaturas, logo, a soma de ambos os fatores, além de influenciar diretamente a velocidade de maturação de queijos, proporciona variações na viabilidade de crescimento de diferentes micro-organismos (JAY et al. 2005; COELHO et al., 2008).

A eficiência do complexo de reações ocorridas a partir de diferentes temperaturas sofre ainda, efeito direto sobre, ou da umidade do ar. Uma maior umidade relativa do ar proporciona menores taxas de desidratação e por consequência manutenção da atividade da água no alimento (DE NARDI, 2009). Fator este que combinado a temperatura contribui para a velocidade das reações físico-químicas ocorridas no processo de produção e principalmente na maturação do Queijo.

Das Dores (2007) avaliando Queijo Minas Artesanal da Canastra, maturados por 64 dias à temperatura ambiente e sob refrigeração constatou que as alterações das variáveis físico-químicas sofridas pelos queijos não refrigerados, ao longo do período de maturação, teve papel importante na modulação da microbiota desses queijos, pela redução do número

dos contaminantes avaliados, tendo atingido os padrões mínimos de contagens exigidos pela legislação vigente.

Quanto maior a temperatura, maior a extensão da hidrólise da caseína e maiores alterações se produzem no parâmetro textura de queijos (PARK, 2001; LAWRENCE, 1987; VIEROS, 2005; FEDRYCK, I. A. & DULLEY, J. R., 1984). Variação de temperatura também tem efeito direto sobre as taxas de oxidação lipídica. Nesta relação direta e positiva, quanto menor a temperatura ambiente menor será a taxa de oxidação e vice-versa (DAMODARAN et al., 2010).

O teor de umidade do queijo também tem efeito diretamente proporcional sobre a taxa de maturação de queijos (DAS DORES, 2007; VIEROS, 2005). Este é um fator tão significativo que, alguns tipos de queijo exigem diferentes temperaturas e umidades relativas em diferentes etapas da maturação (LAWRENCE et al., 1987). Quanto ao tempo de maturação, é inversamente proporcional ao teor de umidade, ou seja, maiores teores de umidade demandam menor tempo de maturação (DAS DORES, 2007).

Para Feeney et al. (2001), avaliando a temperatura de maturação sobre a qualidade de Queijo Mozzarella de baixa umidade, evidenciaram que alterações das temperaturas de maturação são uma ferramenta de controle da extensão da proteólise, sem alterar o tipo de proteólise. Assim, pode-se afirmar que a proteólise tem efeito sinérgico com a temperatura, umidade e tempo de maturação (PARK, 2001).

1.9 Perda de Peso

Para Law & Tamime (2010), os métodos envolvidos no processo de produção, que podem afetar a desidratação de queijos, incluem a desestabilização e agregação da caseína e fosfato de cálcio sob a forma de uma rede de gel que separa a gordura e o soro através de hidrólise enzimática específica da caseína, acidificação limitada, temperatura elevada e várias operações mecânicas.

A intensidade da desidratação depende do tamanho e forma do queijo, assim como das condições ambientais nas quais se realiza a maturação (FOX et al., 2000). Na primeira etapa de formação da casca, esta faz o papel de membrana semipermeável que permitirá a migração do sal para o interior do queijo pelo fenômeno de difusão, ao mesmo tempo em que permitirá a saída de soro do queijo com seus elementos solúveis, principalmente ácido láctico, lactose e nitrogênio não protéico (MARK & MORISON, 1998).

O parmesão é um queijo de longa maturação, podendo se estender por mais de três anos, ao longo dos quais o queijo perde por desidratação até 25% do seu peso inicial (SPERAT-CZAR,2012). Pereira & Guiné (2013) verificaram uma diminuição de peso ao longo do tempo, sendo que nos primeiros 8-9 dias foi mais acentuada, onde os queijos com maior teor de gordura tiveram menor redução quando comparados aos de maior teor de proteína, o que atribuíram à maior proporção de água.

A formação da casca tem função determinante em queijos de casca. Correia & Roncada (1997) relatam ocorrência de contaminação externa cruzada para queijo mineiro exposto em feira e que esta foi significativamente maior aos queijos prato e mussarela e que isto teria ocorrido pela ausência de embalagem no queijo mineiro, uma vez que a casca formada durante a maturação é sua “embalagem”. Este fator está diretamente relacionado ao rendimento do queijo, uma vez que provoca a redução do seu peso de comercialização.

1.10 Atividade da Água

Esta é uma variável de relevância tecnológica e econômica, que tem como principal função a conservação dos alimentos, uma vez que os micro-organismos precisam de água para se desenvolver. No entanto, mais importante do que a quantidade de água no alimento é a sua disponibilidade, valor este definido pela atividade da água (A_w). Para Law & Tamime (2010) e Damoradam et al. (2010) este é um parâmetro que avalia as chances que um alimento tem de se deteriorar. Estes mesmos autores constataram que alimentos com valores de atividade de água altos (acima de 0,90), têm grande chance de sofrer contaminação microbológica, uma vez que as soluções diluídas dos alimentos servem de substrato para o crescimento de micro-organismos.

Nos alimentos com A_w entre 0,40 e 0,80, as reações químicas e enzimáticas ficam favorecidas por ocorrer aumento da concentração dos reagentes e a partir de 0,60 (A_w), tem-se pequeno ou nenhum crescimento de micro-organismos. Em suas pesquisas Law & Tamime (2010) e Damoradam et al. (2010) também verificaram que quando a atividade de água alcança valores inferiores a 0,30 atinge-se a zona de adsorção primária na qual não há dissolução dos componentes do alimento pela água, o que reduz a velocidade das reações, com exceção da oxidação lipídica, uma vez que esta pode ocorrer tanto em baixa quanto em elevada A_w . Segundo estes autores, em termos gerais, diminuindo-se a A_w conserva-se mais o alimento, por isso a salga é usada com sucesso desde a antiguidade.

Alguns queijos que são maturados sob refrigeração, ou mesmo à temperatura ambiente que se assemelhem as condições de refrigeração controlada e até mesmo temperaturas ambientais inferiores, apresentam uma menor pressão de água, que é característica desta condição e por consequência a A_w é menor (LAW & TAMINE 2010; DAMORADAM et al. 2010). Logo, a A_w é termodependente.

A umidade relativa do ar também impõe variações sobre a atividade de água de alimentos em função da troca de água entre o sistema e o alimento, que quando a A_w da solução ou ambiente for inferior à A_w do alimento, o alimento perde água até as duas entrarem em equilíbrio e vice-versa.

Conforme evolui a hidrólise das proteínas do queijo, a disponibilidade de água para o desenvolvimento microbiano vai sendo reduzida, e compostos secundários, derivados desta hidrólise, por sua vez, vão ligar-se a moléculas de água, reduzindo ainda mais a A_w (VEIROS, 2005; LAWRENCE et al., 1987). Pequenas alterações das proporções de caseína podem alterar significativamente a disponibilidade de umidade na massa do queijo, uma vez que uma quantidade de umidade está ligada às moléculas de caseína e os seus produtos de degradação. Logo, pode haver redução na umidade sem necessariamente haver redução de peso (LAWRENCE et al., 1987)

1.11 Perfil microbiológico

Além das enzimas nativas do leite, a microbiota autóctone intrínseca de $10^2 - 10^4$ UFC/ml, produz enzimas glicolíticas (bactérias ácido lácticas), lipolíticas e proteolíticas (FORSYTHE, 2002). Em sua revisão, Nespolo (2009) descreve que a microbiota do queijo pode ser dividida em iniciadora e não iniciadora, que no caso do Queijo Colonial, ambos são autóctones. Este mesmo autor relata que o grupo das iniciadoras ainda divide-se tecnologicamente entre primárias e secundárias. Estas são adicionadas aos queijos para determinar funções específicas. Quanto às primárias, tem como rota metabólica inicial, garantir um desenvolvimento consistente de ácido durante a produção do queijo e é o grupo que está envolvido na degradação de proteínas e gorduras durante a maturação.

Para Nespolo (2009) sua função específica durante a maturação ainda não está elucidada. Sabe-se que, o fato de se usar leite cru na fabricação de queijos aumenta os níveis de aminoácidos, peptídeos e ácidos graxos livres, que além de acentuar o sabor e aroma dos queijos, aceleram o processo de maturação.

Para Coda et al. (2006), as bactérias lácticas não iniciadoras encontram-se em pequeno número na coalhada fresca, no entanto, tornam-se dominantes no queijo maturado. De acordo com os mesmos pesquisadores, estas bactérias crescem em temperaturas baixas, são ácido-tolerantes, suportam a perda de carboidratos fermentáveis e baixa atividade da água, além de tolerarem bacteriocinas. Coda et al. (2006) ainda relata que este grupo encontra condições de crescimento decorrentes da maturação dos queijos, como substratos compostos por lactato, citrato, glicerol e aminoácido, logo, podem ser consideradas contaminantes desejáveis.

Os principais micro-organismos envolvidos com a contaminação do leite são bactérias, vírus, fungos e leveduras. Mais especificamente quanto às bactérias, o leite pode proporcionar o desenvolvimento de dois grandes grupos: os mesófilos e os psicrotróficos e estes, de acordo com a International Dairy Federation (IDF), são definidos como sendo micro-organismos que podem desenvolver-se a 7 °C ou menos, independente da temperatura ótima de multiplicação, tendo a maioria seus integrantes temperatura ótima de multiplicação entre 20 e 30 °C (McPHEE & GRIFFITHS, 2011), ou seja, são micro-organismos mesófilos capazes de se adaptar ao frio alterando seu metabolismo.

O metabolismo dos micro-organismos psicrotróficos tem em temperaturas inferiores à 7°C um ótimo crescimento, no entanto, em temperaturas inferiores a 10°C torna-se predominantemente lipo-proteolítico e expressam-se pela produção de enzimas intra e extracelulares e sua produção de enzimas hidrolíticas é máxima na fase de crescimento exponencial ou estacionária (MONTANHINI, 2012).

Zacharov & Halpern (2007), investigando comunidades bacterianas psicrotróficas e sua atividade proteolítica e lipolítica de leite cru, encontraram diferenças significativas nos níveis das populações psicrotróficas e mesófilas nas diferentes datas de amostragem e que houve correlação positiva de 0,86 entre a dinâmica populacional psicrotróficos e mesófilos.

1.11.1 Bactérias Ácido Lácticas

As bactérias lácticas são assim denominadas em função de sua preferência em utilizar lactose como fonte de carbono, transformando a lactose em ácido láctico e este responsável pela acidificação “espontânea” do leite (RAPACCI & VAN DENDER, 1997). Foram definidas inicialmente como grupo de micro-organismos com capacidade de coagular ou de fermentar o leite. São fastidiosas (produzem ácido láctico) e estão presentes em ambientes

nutricionalmente ricos em matéria orgânica. São anaeróbias, anaeróbias facultativas e microaerofílicas.

São basicamente mesófilas, capazes de crescer num intervalo de 5 a 45°C, com a maior parte sendo destruída pelo aquecimento a 70°C. A multiplicação de alguns destes micro-organismos é acompanhada pela liberação de enzimas proteolíticas capazes de degradar a caseína. Podem ser classificadas de acordo com a temperatura de crescimento em termofílicas, que crescem a uma temperatura ótima de 42 °C e as mesófilas por volta de 30°C (FOX et al., 2000). As Bactérias Lácticas empregam as vias homo ou heterofermentativas. A via homofermentativa tem no ácido láctico seu produto primário, a partir da fermentação da glucose enquanto que pela via heterofermentativa são produzidos ácido láctico, CO₂, ácido acético e etanol (KLEEREBEZEM & HUGENHOLTZ, 2003; CARR et al., 2002).

Bactérias heterofermentativas muitas vezes contribuem com a caracterização do aroma, textura, valor nutritivo e para a vida de prateleira mais prolongada quando comparados os produtos fermentados em relação às suas matérias-primas (LEROY & DE VUYST, 2004). Na sua utilização em alimentos busca-se sua habilidade em produzir compostos flavorizantes, muito mais do que pela sua habilidade acidificante (CARR et al., 2002).

Bactérias ácido lácticas (BAL) contribuem para a extensão da vida útil de alimentos de maneira geral, causada pela degradação dos carboidratos presentes na matéria prima, diminuindo o pH e assim torna o meio inóspito para a maioria dos micro-organismos deterioradores e patogênicos. No entanto, este acúmulo de ácidos modifica as propriedades reológicas e organolépticas do produto, num processo que é complementado pela produção e em alguns casos, pela secreção de enzimas hidrolíticas, principalmente proteinases e peptidases e ainda, embora em menor quantidade, de lipases e esterases (MADERA et al., 2003). Bactérias ácido lácticas exercem função enzimática proteolítica para satisfazer sua demanda por diferentes aminoácidos para seu crescimento.

Essas bactérias são inerentes da matéria-prima leite, e desempenham um papel primordial no processo de fermentação do mesmo, além de produzir substâncias capazes de combater patógenos, conhecida como atividade antagonista das BAL. Esta característica é atribuída ao crescimento competitivo em relação a outros micro-organismos, potencializado pelos efeitos inibitórios dos seus metabólitos.

Bactérias lácticas compõem o principal grupo de micro-organismos Gram positivos, produtores de bacteriocinas e são agrupadas nas classes I, compostas por lantibióticos, grupo que, após algumas transformações, produzem aminoácidos que não são usualmente

encontrados na natureza. A classe II é composta por pequenos peptídeos e classe III, por proteínas grandes e termo-sensíveis (MORAES, 2011).

Estas bactérias são desejáveis e amplamente utilizadas na indústria de alimentos pois apresentam diferente perfil de sensibilidade a proteases, que interferem em sua atividade no alimento e garantem degradação ao ser ingerida, com excessão de espécies **Bifidobacterium**, capazes de passarem pela digestão e chegar ilesas ao intestino (MORAES, 2011).

Outra particularidade relevante se refere a influência da altitude da unidade produtora de leite e queijo sobre as características físico-químicas e microbiológicas de queijos artesanais. Resende (2010), estudando especificamente o queijo Minas artesanal da Serra da Canastra, descreveu como o ambiente é propício ao desenvolvimento de bactérias endógenas responsáveis pelo sabor característico deste queijo. Em 2012, esta mesma autora e seus colaboradores obtiveram resultados que sugerem que as espécies pesquisadas estejam bem adaptadas ao ambiente de produção do queijo minas artesanal na região, contribuindo, talvez, para o desenvolvimento de características sensoriais do produto.

O Queijo di Malda Trentino é um dos produtos mais típicos da província de Trentino, feita a partir de leite de vaca cru , apenas no verão, em leiterias localizadas entre 1000 e 2000 m acima do nível do mar. Dos 614 isolados microbianos por Franciosi (2013) e seus colaboradores, 431 foram BAL, que se tornaram predominantes já após o primeiro dia, onde o *Lactococcus lactis* foi predominante até o primeiro mês de maturação. Este mesmo autor constatou ainda que, mesmo após o sétimo mês de maturação, principalmente a espécie *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus* e *Pediococcus pentosaceus* foram contados em maior número.

1.11.2 Bactéria Mesófilas Lipolíticas

Os lipídeos estão entre os componentes mais importantes do leite em termos de custo e rentabilidade para a indústria de laticínios, sendo o componente mais usado para fabricação dos derivados. No leite, os lipídeos estão na forma de glóbulos de gordura de variados tamanhos revestidos por uma membrana de natureza protéica. A parte central dos glóbulos tem aproximadamente 97,5% de triglicerídeos e 0,36% de diglicerídeos, além de vitaminas e carotenóides (PÁDUA, 2013).

É a hidrólise dos lipídeos que determina a formação do sabor sem provocar alterações na textura do queijo e é mais significativa em queijos de leite cru, por possuir enzimas

naturalmente presentes no leite, porém, inativadas em pH inferiores à 6,5 e temperaturas elevadas (DAS DORES, 2007).

Além da condição inerente no leite, enzimas lipolíticas são produzidas por microorganismos de relevância alimentar integrantes dos gêneros *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Alteromonas* e *Flavobacterium*.

Bactérias lipolíticas podem ser consideradas indesejáveis em queijos, pois hidrolisam ou oxidam os lipídios (McSWEENEY & SOUSA, 2000), podendo causar deterioração. Esta lipólise bacteriana, hidrolisa os triacilgliceróis com liberação de ácidos graxos e glicerol (FURTADO & CHANDAN, 1983), uma das principais causas do ranço (PERRY, 2004).

1.11.3 Bactéria mesófilas proteolíticas

Este grupo é caracterizado por uma forte atividade proteolítica e seus componentes de interesse alimentar são os *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Alteromonas*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Enterobacteriaceae*, *Brevibacterium* (LAFARGE et al., 2004). Produzem fortes proteases extracelulares que hidrolisam a proteína e muitos dos que compõem a microbiota do leite são psicrotóxicos, reduzindo a vida de prateleira (TEBALDI, 2008) do leite e derivados ou causando deterioração durante a maturação. As proteases estão associadas ao sabor amargo do leite e queijo, a gelificação de leite esterilizado UHT (ultrahigh temperature processing), e a redução do rendimento de queijo e o desenvolvimento de sua população depende da temperatura e tempo de armazenamento (LAFARGE et al., 2004 e ZACHAROV & HALPERN, 2007).

1.11.4 *Listeria* spp.

Sperat-Czar (2012) ranqueia a *Listeria* como o contaminante que mais preocupa a indústria de queijos mundial, principalmente no que diz respeito aos queijos artesanais. Preocupação que considera desnecessária, uma vez que queijos maturados por pelo menos dois meses e os de massa prensada cozida (40° à 60°C) representam risco muito reduzido para o consumidor, que somados as características do processamento, estes queijos contam com os fatores de defesa naturais do leite. Por outro lado, queijos de massa mole estão mais frequentemente expostos a serem veículo deste agente patogênico.

Sperat-Czer (2012) menciona ainda que, nos casos de queijos de casca, em que estas são frequentemente lavadas e manipuladas podem acontecer eventuais contaminações e que de acordo com os especialistas da Organização Mundial da Saúde (OMS), é preciso pelo menos 10.000 UFC/g para que haja risco grave de desencadear Listeriose em pessoas consideradas de risco, que inclui idosos, crianças, gestantes e imunodeprimidos (JAY et al., 2005). Esta mesma organização considera risco inexistente em contagens menores que 100 UFC/g de queijo.

Dentro de gênero *Listeria*, a *Listeria ivanovii* e *Listeria monocytogenes* são patogênicas e a primeira causa abortos em animais e a segunda causadora de infecções alimentares. Esta é móvel entre 10 e 25°C devido a presença de flagelos peritríquios, movimentando-se por “tombamento” ou “turbilhonamento”, tolerando pH superior a 4,4, com ideal entre 6,0 e 8,0 (JAY et al., 2005), com temperatura ótima entre 30 e 37° para crescimento. A **Listeria** está amplamente distribuída na natureza e seus locais de origem de maior relevância na produção de queijo são o solo, fezes de animais, em vegetação em decomposição e silagem.

Schwab & Edelweiss (2003) relatam que no ano de 2000, no hospital-escola de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, foi detectada a presença de *Listeria monocytogenes* em 33% de 254 placentas obtidas após abortos ou partos prematuros, indicando que a infecção por este agente está presente e que as fontes de contaminações precisam ser identificadas e controladas.

De maneira geral, as estações do ano influenciaram no isolamento de *Listeria spp.*, sendo a primavera com o maior número de isolados e o verão com o menor (ZAFFARI et al., 2007).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A.Pro.La.V., 2000, *Disciplinare di produzione del Formajo Inbriago* A cura di: UNIVERSITA' DI PADOVA, PARMA, MILANO, 2005. **Analisi econômica del comparto lattiero – caseario del Veneto**. Ed. Veneto Agricoltura.

ANVISA, 2013 – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para Comprovação da Segurança de Alimentos e Ingredientes**. Brasília – DF, Fevereiro de 2013. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/2b84a5004eb5354885fb878a610f4177/Guia+par+a+Comprova%C3%A7%C3%A3o+da+Seguran%C3%A7a+de+Alimentos+e+Ingredientes.pdf?MOD=AJPERES>, acesso em 20.01.14.

BONATO, E. P. **Leites fermentados e queijo**. 2006, UFSC - Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis – SC.

BRASIL, 2011. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamenta Produção de Queijos Artesanais, Instrução Normativa Nº 57 de 16 de dezembro de 2011**.

CAPUCHO, T. O. ; ZANMARIA, N. A.; ALVES, A. F.; PARRÉ, J. L. **Variação sazonal do preço e da produção do leite no estado do Paraná – 2000 A 2007**. 47º SOBER. Porto Alegre, 26 a 30 de julho de 2009.

CARR, F. J.; CHILL, D. & MAIDA, N. **The acid lactic bacteria: A literature survey**. *Critical Reviews in Microbiology*. v. 28, n. 4, 2002.

CE, 2006. **Publication of an amendment application pursuant to Article 6(2) of Council Regulation (EC) No 510/2006 on the protection of geographical indications and designations of origin for agricultural products and foodstuffs**. Official Journal of the European Union. Disponível em: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:C:2012:186:0011:0017:EN:PDF>, acesso em 18.04.14.

CHALITS, M. A. N. **O consumo de queijo como referência para a análise do mercado de qualidade do produto**. *Rev. Econ. Sociol. Rural* [online]. 2012, vol.50, n.3, pp. 545-562. ISSN 0103-2003.

CINTRÃO, R. P. **Comida, vigilância sanitária e patrimônio cultural: Conflitos e contradições entre políticas públicas**. I SEMINÁRIO SOBRE ALIMENTOS E MANIFESTAÇÕES CULTURAIS TRADICIONAIS. Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE – 21 a 23 de maio de 2012.

CODA, R.; BRECHANY, E.; DE ANGELIS, M.; DE CANDIA, S.; DI CAGNO, R. & GOBBETTI, M. **Comparison of the Compositional, Microbiological, Biochemical, and Volatile Profile Characteristics of Nine Italian Ewes' Milk Cheeses**. *J. Dairy Science* 89:4126–4143, 2006. Disponível em: <http://download.journals.elsevierhealth.com/pdfs/journals/0022-0302/PIIS0022030206724584.pdf>, acesso em 29.04.14.

COELHO, M. A. Z.; SALGADO, A. M. & RIBEIRO, B. D. **Tecnologia Enzimática**. Ed. EPUB, 2008, p.288. Petrópolis - Rio de Janeiro.

CORREIA, M; RONCADA, M. J. **Características microscópicas de queijos prato, mussarela e mineiro comercializados em feiras livres da Cidade de São Paulo.** Revista Saúde Pública. São Paulo, v. 31, n. 3, p. 296-301, jun. 1997.

COUVREUR, S.; HURTAUD, C.; LOPEZ, C.†; DELABY, L. & PEYRAUD, J. L. **The Linear Relationship Between the Proportion of Fresh Grass in the Cow Diet, Milk Fatty Acid Composition, and Butter Properties.** J. Dairy Science 89:1956–1969, 2006.

CRUZ, F. T. Da & SCHNEIDER, S. **Qualidade dos alimentos, escalas de produção e valorização de produtos tradicionais.** Rev. Bras. de Agroecologia. 5(2): 22-38 (2010) ISSN: 1980-9735.

DALLA ROSA, T. **Atividade proteolítica e microrganismos envolvidos na maturação do queijo Serrano.** Tese, 2005, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre – RS.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. & FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema.** Ed. Artemed, 4ªed, Porto Alegre, 2010, 900p.

DAS DORES, M. T. **Queijo Minas Artesanal da Canastra Maturado à temperatura ambiente e sob refrigeração.** Dissertação, 2007. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – Minas Gerais. Disponível em: http://www.tede.ufv.br/teedesimplificado/tde_arquivos/39/TDE-2009-08-03T080615Z-1927/Publico/texto%20completo.pdf, acesso em 12.05.14.

DE NARDI, S.; FURLANETTO, P. & GOGGI, B. P.A.T.I - **Regione Veneto, Provincia di Treviso. Relazione Agronomico Ambientale.** Março de 2009. <http://www.comune.paderno.tv.it/alfstreaming-servlet/streamer/resourceId/f362d86c-d87a-4df4-80f0-8f607c2ed2db/23.PDF>, acesso em 12.01.14.

DI CAGNO, R., BUCHIN, S., CANDIA, S. DE, ANGELIS, M. DE, FOX, P. F. & GOBBETTI, M. **Characterization of Italian Cheeses Ripened Under Nonconventional Conditions.** Journal of Dairy science, 90:2689-2704, 2007. <http://download.journals.elsevierhealth.com/pdfs/journals/0022-0302/PIIS0022030207700796.pdf>, acesso em 20.03.12.

DORIGON, C. & RENK, A. **Técnicas e métodos tradicionais de processamento de produtos coloniais: de “miudezas de colonos pobres” aos mercados de qualidade diferenciada.** Ponencia presentada al VIII Congreso Latinoamericano de Sociologia Rural, Porto de Galinhas, 2010.

FAEP, 2014. PR, SC e RS. **A meca do leite.** Boletim Informativo do Sistema FAEP nº 1267. Semana de 21 a 27 de julho de 2014. <http://www.sistemafaep.org.br/wp-content/uploads/2014/07/BI1267.pdf>, acesso em 23.07.2014.

FEDRYCK, I. A. & DULLEY, J. R. **The effect of elevated storage temperatures on the rheology of Cheddar cheese.** N. Z. J. Dairy Sci. Technol., 1984, 19:141.

FEENEY, E. P.; FOX, P. F. & GUINEE T. P. **Effect of ripening temperature on the quality of low moisture Mozzarella cheese: 1. Composition and proteolysis.** INRA, EDP Sciences, 2001. Lait 81 (2001) 463–474.

FERREIRA, A. A.; MARQUES, K. DE A.; BARBOSA, J. B.; MARTINS, E. M. F.; PINTO, C. L. de O. & MARTINS, M. L. **Influência da atividade enzimática de *Pseudomonas fluorescences* 041 em Labneh**. Rev. Inst. Latic. “Cândido Tostes”, Mar/Abr, nº 385, 67: 17-24, 2012.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Ed. Artmed, 2002. 424 p.

FOX, P. F.; GUINEE, T. P.; COGAN, T. M. & McSWENEY, P. L. H. **Fundamentals of Cheese Science**. Gaithersburg: Aspen Publishers. 2000.

FOX, P. F. & LAW, J. **Enzimology of cheese ripening**. Food Biotechnology, v. 5, n.3, p. 239 – 262. 1991.

FRANCIOSI, E. Formaggio di Malfa Trentino: Ecologia microbica di um formaggio fermentato espontaneamente. *Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia*, 64 (3-4), 83-90, 2013. Disponível em: <http://www.aitel-latte.it/pdf/rivista/2013/Fasc%203-4%20vol%2064%20anno%202013.pdf>, acesso em 03.06.14.

FRANZINA, E. **A grande emigração. O êxodo dos italianos do Vêneto para o Brasil**. Editora UNICAMP, 2006. Pg 480.

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

HOHENDORFF, C. G. **Produção de queijos, 2006**. Disponível em: <www.enq.ufsc.br/labs/probio/disc_eng_bioq/.../queijos.doc>. Acesso em: 25 maio 2011.

HUBER, J. T. **Alimentação de vacas de alta produção sob condições de stress térmico**. In: Bovinocultura Leiteira. Piracicaba: FEALQ, 1990. p. 33-48.

IPARDES, 2008. Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social. **Caracterização socioeconômica da atividade leiteira no Paraná**. Curitiba, 2008.

JAY, J. M.; LOESSNER, M. J. & GOLDEN, D. A. **Modern Food Microbiology**. Seventh Edition, 2005, ed. Springer, p.790.

KLEEREBEZEM, M. & HUGENHOLTZ, J. **Metabolic pathway engineering in lactic acid bacteria**. *Current Opinion in Biotechnology* 14, 232–237, 2003.

LAFARGE, V.; OGIER, J. C., GIRARD, V., MALADEN, V., LEVEAU, J.Y.; GRUSS, A. & BUCHET, A. D. **Raw Cow Milk Bacterial Population Shifts Attributable to Refrigeration**. *Applied Environmental Microbiology*, v. 70, n. 9, p. 5644-5650, 2004.

LAW, B. A. & TAMINE, A.Y. Livro 2010. **Technology of Cheesemaking**. Ed. 2, 515p.

LAWRENCE, R. C.; CREAMER, L. K. & GILLES, J. **Texture development during cheese ripening**. *Journal of Dairy Science*, v. 70, p. 1748-1760. 1987.

LE GUICCIARDE, 2014. **Formaggio & dintorni: III edizione.** Associazione Culturale. Disponível em: http://leguicciarde.it/dispensa_formaggio3.pdf, acesso em 18.04.14.

LEROY, F. & DE VUYST, L. **Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry.** *Trends in Food Science & Technology* 15, 67–78, 2004.

MADERA, C.; GARCIA, P.; JANSEN, T.; RODRÍGUEZ, A. & SUÁREZ, J. E. **Characterisation of technologically proficient wild *Lactococcus lactis* strains resistant to phage infection.** *International Journal of Food Microbiology*, v. 86, n. 3, p. 213-222, 2003.

MARILLEY, L & CASEY, M. G. **Flavours of cheese products: metabolic pathways, analytical tools and identification of producing strains.** *International Journal of Food Microbiology*. Vol. 90, Issue 2, p.139–159, 2004.

MARK, R. & MORISON, K. R. **A multi – component approach to salt and water diffusion in cheese.** *International Dairy Journal*. Department of Chemical and Engineering. University of Canterbury. Christchurch, New Zealand, 1998.

McSWEENEY, P. L. H. & SOUZA, M. J., 2000. **Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review.** *Lait* 80, 293–324.

MONTANHINI, M. T. M. **Caracterização fenotípica e genotípica de *Bacillus cereus* isolado em produtos lácteos com relação ao seu comportamento psicrotrófico.** Tese (Doutorado), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2012.

MORAES, P. M. **Identificação Molecular de Bactérias Ácido Lácticas isoladas de leite cru e queijo e pesquisa de genes de bacteriocinas.** Dissertação, 2011, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG.

NASCIMENTO, S. P. & RASZL, S. M. **Estudo de correlação entre o grau de conformidade às BPA e a segurança do leite.** TCC do MBA em Gestão para Segurança de Alimentos, SENAIsc. Atualidades tecnológicas para competição industrial, Florianópolis, n. esp. Alimentos, p. 69 – 85, 2012. <http://revista.ctai.senai.br/index.php/edicao01/article/viewFile/200/108>, acesso em 20.03.14.

NESPOLO, C. R. **Características microbiológicas e Físico-Químicas durante o processamento de Queijo de Ovelha.** Tese, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2009. <http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/28525/000722325.pdf?sequence=1>.

OLIVEIRA, D. F.; BRAVO, C. E. C. & TONIAL, I. B. **Sazonalidade como fator interferente na composição físico-química e avaliação microbiológica de queijos coloniais.** *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v.64, n.2, p.521-523, 2012.

PÁDUA, F. S. De. **Qualidade, segurança microbiológica e enumeração da microbiota láctica autóctone do leite de cabra produzido na região Centro-Oeste.** Dissertação, 2013. Universidade de Brasília, Brasília – DF.

PARK, Y. W. **Proteolysis and Lipolysis of Goat Milk Cheese.** *The American Dairy Science Association*, 2001. Vol. 84, E. Suppl., 2001 E84.

PARRÉ, J. L.; SANTOS, G. T.; MASSUDA, E. M. et al. **Análise espacial da produção e produtividade da pecuária leiteira paranaense.** In: SANTOS, G. T.; MASSUDA, E. M.; KAZAMA, D. C. S. et al. (Org.). *Bovinocultura leiteira: bases zootécnicas, fisiológicas e de produção.* Maringá: Eduem, 2010. p.29-46.

PARRÉ, J. L.; BANKUTI, S. M. S.; ZANMARIA, N. A. **Perfil sócio-econômico de produtores de leite da região sudoeste do Paraná: um estudo a partir de diferentes níveis de produtividade.** *Revista de Economia e Agronegócio*, v. 9, p. 275-299, 2011.

PEREIRA, F. A. & GUINÉ, R. P. F. **Análise físico-química e microbiológica durante o processo de produção de Queijo.** VII congresso ibérico de agroingeniería y ciencias hortícolas, Madrid, 26-29.08.2013, Ref. N° C0030.

PERRY, K. S. **Queijos: Aspectos Químicos, Físicos e Microbiológicos.** *Química Nova*. v. 27, n.2, p. 293-300, 2004.

PLACE, S. E. & MITLOEHNER, F. M. **A review of the dairy industry's role in climate change and air quality and the potential of mitigation through improved production efficiency.** *Journal of Dairy Science*, v.93, n.3, p.3407-3416, 2010.

POULAIN, J. P. & PROENÇA, R. P. da C. **O espaço social alimentar: um instrumento para o estudo dos modelos alimentares.** *Rev. Nutr.* [online]. 2003, vol.16, n.3, pp. 245-256. ISSN 1415-5273.

RAPACCI, M. & VAN DENDER, A. G. F. **Qualidade da matéria-prima e cuidados nos processamentos de requeijão cremoso e queijos fundidos.** *Revista Leite e Derivados*, n. 37, v. 8, p. 18-26, 1997.

RESENDE, M. De F. S. de. **Queijo Minas Artesanal da Serra da Canastra: Influência da altitude e do nível de cadastramento das queijarias nas características físico-químicas e microbiológicas.** Dissertação, 2010. Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG.

SCHMITT, C. I.; CERESER, N. D.; BOHRZ, D. de A.; NOSKOSKI, L. **Contaminação do Queijo Colonial de produção artesanal comercializado em mercados varejistas do RS.** *Vet. Not.*, Uberlândia, v.17. n.2, p. 111-116, jul./dez. 2011. <http://www.seer.ufu.br/index.php/vetnot/article/view/19787/12352>, acesso em 21.10.2013.

SCHWAB, J. P. & EDELWEISS, M. I. A. **Identificação imunohistoquímica de *Listeria monocytogenes* em placentas fixadas em formol e embebidas em parafina.** *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*, Rio de Janeiro, v.25, p.501-505, 2003.

SILVEIRA, P. R. C. Da. **Riscos alimentares em uma sociedade de risco: compreendendo o comportamento do consumidor de alimentos artesanais.** Tese (Doutorado em Ciências Humanas). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

SPERAT-CZAR, A. **Os queijos de Leite Cru.** Sertão Bras., 2012. <http://media.sertaobras.org.br/livro/OsQueijosDeLeiteCruFinalWEB.pdf>, acesso em 20.09.13.

TEBALDI, V. M. R.; OLIVEIRA, T. L. C.; BOARI, C. A.; PICCOLI, R. H. **Isolamento de coliformes, estafilococos e enterococos de leite cru provenientes de tanques de**

refrigeração por expansão comunitários: identificação, ação lipolítica e proteolítica. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 28, n. 3, p. 753-760, 2008.

TOLEDO, J. C.; BORRÁS, M. A. A.; SCALCO, A. R. & LIMA, L. S. **Coordenação da qualidade em cadeias de produção: estrutura e métodos para cadeia agroalimentares.** Gestão & Produção, São Carlos, v.11, n.3, p.355- 372, set/dez 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/gp/v11n3/a09v11n3.pdf>, acesso em 20.03.2014.

TREVISAN, P. **Caratterizzazione Del Formaggio Inbriago.** Università Deglistudi di Padova. Tesi Di Laurea in Scienze e Cultura Della Gastronomia e Della Ristorazione, 2009.

TUNICK, M. H.; MACKEY, K. L.; SMITH, P. W. & HOLSINGER, V. H. **Effects of composition and storage on the texture of Mozzarella cheese.** Netherlands Milk Dairy J. 1991, 45. 117-25.

VEIROS, C. B. R. **Contributo para a caracterização do Queijo Terrincho: Estudo da proteólise e avaliação da autenticidade por HPLC/UV.** Dissertação, 2005. Universidade do Porto, Porto – Portugal.

ZACHAROV, E. H. & HALPERN, M. **Culturable Psychrotrophic Bacterial Communities in Raw Milk and Their Proteolytic and Lipolytic Traits.** Applied and Environmental Microbiology, Nov. 2007, p. 7162–7168.

ZAFFARI, C. B., MELLO J. F. & COSTA M. **Qualidade Bacteriológica de Queijos Artesanais Comercializados em Estradas do Litoral Norte do Rio Grande do Sul, Brasil.** Ciência Rural. 37(3): 862-867. 2007.

ZUIN, L. F. S. & ZUIN, P. B. **Produção de alimentos tradicionais: Contribuindo para o desenvolvimento local/regional e dos pequenos produtores rurais.** Revista Brasileira de Gestão e Desenvolvimento Regional, Taubaté, SP, v. 4, n. 1, p. 109-127, jan-abr. 2008.

CAPÍTULO I – MICROBIOTA AUTÓCTONE LÁTICA, MESÓFILA LIPOLÍTICA E PROTEOLÍTICA EM QUEIJO COLONIAL PRODUZIDO EM DIFERENTES ÉPOCAS DO ANO, MATURADOS POR ATÉ OITO MESES.

RESUMO

Este trabalho objetivou identificar qual a melhor época do ano para produção e tempo de maturação de queijo Colonial Tradicional, tendo como parâmetros a microbiota autóctone, atividade da água, temperatura e umidade relativa na produção ao tempo oito meses de maturação, no município de Pinhão-PR. Dez fêmeas bovinas Holandês, entre segundo e quinto parto, paridas entre 50 e 70 dias do início da adaptação as dietas, foram mantidas em pastagem, que mudou de acordo com a variação sazonal natural da propriedade e foram nutricionalmente complementadas diariamente com silagem de milho e ração após a ordenha. O leite utilizado na produção de queijo foi ordenhado pela manhã, individualmente 11 litros por animal, a fim de reduzir o efeito animal sobre a fórmula do queijo. Estatisticamente foram comparadas as médias entre e dentro dos cinco períodos de produção (novembro, dezembro, março, maio e junho), nos sete tempos de maturação (TM0, TM1, TM2, TM3, TM4, TM6 e TM8 meses). Foi usado delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial duplo, considerando o período de produção como fator 1 e o tempo de maturação como fator 2. As amostras foram pesadas e analisadas quanto à contagem de bactérias ácido lácticas, mesófilas lipolíticas e proteolíticas e para presença de *Listeria spp.*, além de atividade da água. Os queijos foram produzidos em cinco diferentes épocas do ano (PP1=09-11/11/12, PP2=21-23/12/12, PP3=22-24/03/13, PP4=14-16/05/13 e PP5=21-23/06/13) e maturados por sete diferentes tempos (TM0, TM1, TM2, TM3, TM4, TM6 e TM8 meses), sendo a data da produção denominada tempo de maturação zero meses. Cada queijo correspondeu a uma unidade experimental, sempre analisadas em duplicata, onde cada uma foi analisada em triplicata para atividade da água e duplicata para a contagem de bactérias. Estatisticamente foram comparadas as médias entre e dentro dos cinco períodos de produção e para esta análise, os dados foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA), aplicado teste de Tukey a 5% de significância e posteriormente analisados pelo programa estatístico *Sisvar*. Foi usado delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial duplo, considerando o período de produção como fator 1 e o tempo de maturação como fator 2. O período correspondente ao mês de maio foi o que dispôs de maior média e estabilidade de umidade relativa do ar até o primeiro mês de maturação, somado a temperaturas médias

amenas, também estáveis. Estes queijos apresentaram, junto com os queijos produzidos em junho, maiores contagens de bactérias ácido láticas ao final de um mês de maturação, que ao final do tempo de dois meses de maturação, apresentaram redução nas contagens, indicando que as reações de acidificação podem ter sido mais satisfatórias em relação aos demais. A atividade da água superior a 0,9 indica um processo de maturação mais lento, induzido pelas médias mensais de temperatura. Para a maioria das épocas de produção a maturação por três meses representa um limite para que não haja significativas perdas de peso, além da que ocorre no primeiro mês.

Palavras-chave: Queijo Colonial, microbiota autóctone, maturação, bactérias láticas, lipolíticas, proteolíticas.

CHAPTER I – LACTIC AUTOCHTHONOUS MICROBIOTA, LIPOLYTIC AND PROTEOLYTIC MESOPHILIC IN COLONIAL CHEESE PRODUCED IN DIFFERENT SEASONS OF THE YEAR, MATURED UP TO EIGHT MONTHS.

ABSTRACT

This study aimed to identify the best time of year for production and maturation time of Traditional Colonial cheese, taking as parameters the autochthonous microbiota, water activity, temperature and relative humidity in production at time eight months of maturation, in the municipality of Pinhão- PR. Ten Holstein heifers, between the second and fifth delivery, calved between 50 and 70 days from the beginning of diets adaptation, were kept on pasture, which changed according to the natural seasonal variation of the property and were daily nutritionally supplemented with corn silage and feed after milking. The milk used in cheese production was milked in the morning, individually to 11 liters per animal, in order to reduce the animal effect on the cheese formula. Statistically, the means were compared between and within five production periods (November, December, March, May and June), in seven maturation times (MT0, MT1, MT2, MT3, MT4, MT6 and MT8 months). It was used a completely randomized experimental lineation in double factorial scheme, considering the production period as factor 1 and the maturation time as factor 2. The samples were weighed and analyzed for lactic acid bacteria count, lipolytic and proteolytic mesophilic and *Listeria* spp. presence, beyond water activity. Cheeses were produced in five different seasons (PP1 = 09-11/11/12, PP2=21-23/ 12/12, PP3=22-24/03/13, PP4=14-16/05/13 and PP5=21-23/06/13) and matured for seven different times (MT0, MT1, MT2, MT3, MT4, MT6 and MT8 months), being the production date called maturation time zero months. Each cheese corresponded to an experimental unit, always analyzed in duplicate, where each one was evaluated in triplicate for water activity and duplicate for bacteria count. Statistically, the means were compared between and within five periods of production and for this analysis, the data were subjected to an analysis of variance (ANOVA), applied Tukey test at 5% significance and subsequently analyzed by *Sisvar* statistical program. It was used a completely randomized experimental lineation in double factorial scheme, considering the production period as factor 1 and the maturation time as factor 2. The period corresponding to the month of May was which had higher average and relative humidity of air stability until the first month of maturation, coupled with average mild temperatures, also stable. These cheeses had, together with the cheese produced in June, higher lactic acid bacteria counts after one

month of maturation, which at the end of two maturation months, showed reduction in counts, indicating that the acidification reactions may have been more satisfactory in relation to the others. The water activity exceeding 0.9 indicates a slower maturation process, induced by the average monthly temperature. For the most production times, the maturation for three months represents a limit so that there is no significant weight loss, beyond the one that occurs in the first month.

Keywords: Colonial Cheese, autochthonous microbiota, maturation, lactic acid bacteria, lipolytic, proteolytic.

1 Introdução

Para Silveira (2006), queijo é o produto proveniente da coagulação do leite seguido da desidratação da coalhada, podendo ser de massa fresca ou de massa maturada e tanto as propriedades como características particulares a cada tipo de queijo são determinadas por variáveis como a espécie e raça produtora do leite, alimentação destas e padrões tecnológicos aplicados sobre este leite, como pasteurização ou não do leite.

Segundo Silveira (2006), na produção artesanal, o conhecimento inter-geracional e o enraizamento cultural das práticas adotadas são características fundamentais.

No sul do Brasil, o termo Colonial refere-se justamente a lotes de terras onde famílias de imigrantes italianos e alemães eram alocadas. Junto com estes imigrantes vieram hábitos culturais e processos tecnológicos que acabaram por estabelecer uma fronteira étnica de maioria Ítalo-Germânica, onde surgiu o Queijo Colonial.

Existem no Brasil cerca de 5,2 milhões de propriedades rurais e em 25% destas ocorre produção de leite. O maior percentual de propriedades produtoras de leite com relação ao número total de estabelecimentos rurais ocorre nos três estados do sul (41%) (ZOCCAL et al., 2011).

Rezende et al. (2004), constataram que a produção em escala industrial não substituiu os queijos artesanais no mercado europeu e que vários queijos artesanais perdem consumidores ao utilizar padronização do leite ou se mantiverem os animais sob mesmo regime alimentar ao longo do ano.

A maturação é o estágio da produção onde as enzimas bacterianas degradam lentamente os maiores componentes do leite, como as proteínas e as gorduras, produzindo substâncias que dão ao queijo sua estrutura característica (PERRY, 2004).

A extensão e o tipo de maturação dependem da temperatura, do tempo de maturação, da composição do queijo, principalmente teores de umidade e sal, e dos tipos e atividades de enzimas e micro-organismos presentes, que são responsáveis pela produção de enzimas microbianas, que juntamente com as nativas, hidrolisam proteína e gordura (COELHO et al., 2008), importantes no desenvolvimento do sabor ao longo da maturação. De acordo com estes autores, a maturação é a fração mais onerosa do processo de produção, pois demanda espaço para armazenagem por períodos variados de tempo. Logo, quanto maior o tempo de maturação, mais caro torna-se o processo.

Assim, a microbiota proveniente deste úbere se multiplica a um ótimo de 37°C, enquanto que os contaminantes ambientais multiplicam-se em temperaturas mais baixas (12 a 24°C), inclusive nas temperaturas de refrigeração, que ocorrem em condições ambientais frequentes no período de inverno de diversas regiões produtoras.

Os fatores climáticos temperatura (°C) e umidade relativa (UR), além dos efeitos acima citados, têm influencia direta sobre as curvas de crescimento microbiano por tornar o leite um meio mais ou menos propício para sua multiplicação. A variação da composição do leite ocorre por ação direta ou mesmo indireta, pela variação sazonal de alimento, disponibilizando mais ou menos substratos específicos em um mesmo rebanho ao longo do ano.

Apesar de seus efeitos negativos, a sazonalidade apresenta fatores favoráveis a produção, principalmente de alimentos artesanais, atuando como o principal fator de caracterização do produto, podendo disponibilizar ao mercado consumidor, a partir de um mesmo local e processo produtivo, diferentes produtos.

Para Sperat-Czar (2012) o processo de pasteurização e padronização do leite anula os efeitos da sazonalidade, disponibilizando produtos de mesmo perfil o ano todo, sem identidade.

Nos Alpes europeus, o leite atinge sua melhor fase ao longo da segunda metade da primavera. Antes disso, tem tendência de perder matéria seca pelo alto teor de água dos pastos. No decorrer do verão torna a perder em qualidade, que retorna no outono (SPERAT-CZAR, 2012).

O queijo Salers, dos Alpes Franceses, é um bom exemplo de produção sazonal, que só pode ser fabricado entre os dias 15 de abril (primavera) a 15 de novembro (outono), exclusivamente com leite cru integral, de vacas alimentadas 100% de pastagem, restritas à maior parte do Território Cantal. Os produtores que continuam a fabricar no inverno (58%) o fazem, então, sob a denominação “Cantal Fermier”.

2 Material e Métodos

Dez fêmeas bovinas Holandês, entre segundo e quinto parto, paridas entre 50 e 70 dias do início da adaptação as dietas, foram mantidas em pastagem, alternadas de acordo com a variação sazonal natural das espécies forrageiras existentes na propriedade (Anexo B - Figuras 02, 03 e 04) e foram nutricionalmente complementadas diária e individualmente com

20 Kg (MN) de silagem de milho e equivalente a 1% (MS) do PV inicial de ração composta por milho, farelo de soja, triticale, canola grão, calcáreo calcítico e mistura mineral comercial, divididos em dois tratos ofertados após a ordenha (Anexo B - Figura 01). O leite utilizado na produção de queijo foi ordenhado pela manhã, individualmente, possibilitando a obtenção dos 11 litros por animal (Anexo B - Figura 05), a fim de reduzir o efeito animal. A opção por utilizar apenas a ordenha da manhã foi para possibilitar a realização de todo processo no decorrer do dia, para que fosse realizada a coagulação do leite ainda naturalmente quente, principalmente para que não fosse necessário aquecê-lo artificialmente e que não houvesse fracionamento da gordura, além de ser a ordenha que disponibiliza maior quantidade em volume. Por três dias, 110 litros foram coagulados cru em uma panela (Anexo B - Figura 06) imediatamente pós ordenha, à 32°C, com adição de 13,75mL de coagulante líquido (HALA®). Após 50 – 60 minutos o coágulo foi cortado, drenado, enformado em formas Janda Plast, modelo RH-1000, com capacidade de 0,8-1,2kg. O fluxograma de produção completo está descrito na Figura 09 (Anexo B).



Forma Janda Plast, modelo RH-1000.

No dia da produção, denominado primeiro dia, os queijos eram prensados (Anexo B - Figura 06) e assim permaneciam até o final da tarde, quando eram virados e novamente prensados, onde permaneciam até a manhã do dia seguinte, quando eram pesados, identificados e salgados com sal grosso apenas na superfície, dentro da própria forma. Ao final da tarde deste segundo dia, eram virados, salgados no outro lado e ainda mantidos dentro das formas. Na manhã do terceiro dia eram lavados com água à 50°C, secos com papel toalha e acondicionados sobre estrados distribuídos aleatoriamente nas prateleiras de secagem e primeira fase de maturação, onde permaneceram por 45 dias (Anexo B - Figuras 07, 10 e 11). A partir da primeira lavagem, eram lavados em água a 50°C todos os dias que apresentassem viscosidade ao toque na casca, percebida quando eram virados. Cessada esta viscosidade e

obtida a casca característica deste tipo de queijo, eram lavados em água sem aquecimento quando necessário, de acordo com processo tradicional do Queijo Colonial.

Enquanto os queijos estivessem apresentando nítida desidratação pela dessora, pela perda de peso e as marcas visíveis na casca (Anexo B - Figura 13), os queijos eram virados entre duas a três vezes diárias, sempre utilizando papel toalha para secar o soro tanto dos queijos como dos estrados. As viragens passavam para uma ao dia quando a aparente desidratação reduzia, evidenciada pela redução das manchas de menor desidratação da parte dos queijos em contato com o estrado e pela redução da perda de peso diária.

Aos 45 dias eram transferidos para uma sala de envelhecimento (Anexo B - Figura 14), com o intuito de disponibilizar a sala de secagem (Anexo B - Figura 07) para a exclusiva manipulação dos queijos frescos da produção seguinte, evitando contaminação cruzada (Anexo B - Figura 11). Na sala de envelhecimento, foram mantidos sobre estrados sendo virados em tempos variados, de acordo a necessidade de cada momento, até que fossem tampados (Anexo B - Figura 14) ao atingirem 100 dias da data da produção, a fim de reduzir drasticamente a desidratação.

De cada um dos cinco períodos produtivos, distribuídos em diferentes épocas do ano (PP1=09-11/11/12, PP2=21-23/12/12, PP3=22-24/03/13, PP4=14-16/05/13, PP5=21-23/06/13 e um sexto, que foi descartado (Anexo B - Figura 12), produzidos de 04-06/02/13) foram analisados um total 70 queijos ou unidades experimentais, 14 de cada época do ano, sendo duas repetições para cada um dos sete diferentes tempos de maturação, onde foram denominados de tempo zero (TM0) os queijos analisados no dia da produção, tempo um os analisados ao final do primeiro mês (TM1), dois meses (TM2), três (TM3), quatro (TM4), seis (TM6) e oito meses (TM8) findado o oitavo e último tempo de maturação. Na data das análises, as amostras foram pesadas e mensuradas para atividade da água, número de bactérias lácticas, mesófilas lipolíticas e proteolíticas e presença de *Listeria spp.* Registros constantes de temperatura ambiente, umidade relativa do ar foram realizados na sala maturação.

Os valores percentuais para perda de peso foram determinados a partir da diferença de peso entre a data da retirada da prensa e a do vencimento das respectivas maturações.

As médias mensais de temperatura e umidade relativa foram determinadas por 30 dias (Anexo A - Tabela 01), contados a partir da data do primeiro dia de produção dos queijos nos cinco períodos, dos queijos que foram analisados, além do mês de fevereiro, quando uma sexta partida produzida teve que ser descartada devido às condições ambientais extremamente desfavoráveis para a formação da casca, quando os queijos se deterioraram. Nos resultados obtidos a partir desta metodologia, as médias foram diferentes mesmo sendo o mesmo mês

(Anexo A - Tabela 01), no entanto, por se tratar de período de produção diferente. Isto ocorreu pelos registros destas variáveis terem sido realizados diariamente, a cada três horas, com auxílio de um datalogger Akso, modelo AK 172 (Anexo B - Figuras 07 e 08), onde primeiro foram determinadas as médias diárias e posteriormente as médias de cada intervalo de 30 dias.

A atividade da água do interior dos queijos foi determinada em triplicata, em cada unidade experimental, desprezando uma distância de 0,8cm da casca, com auxílio do aparelho AquaLab, modelo 4TE, comercializado pela BrasEq.

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava – Paraná, de acordo com a recomendação e exigências da RDC n. 12 de 2 janeiro de 2001 (ANVISA, 2001 e 2009). A metodologia de análises foi de acordo com Instrução Normativa nº. 62, de 26 de agosto de 2003 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2003), que oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água.

No laboratório, as amostras foram pesadas em uma balança semi-analítica e tiveram a fração da casca cortada com auxílio de uma faca. Foram amostradas $25 \pm 0,2$ g ao longo de seu interior até um limite de 8 mm das bordas, pesadas em placa de Petri estéreis, trituradas e adicionadas e homogeneizadas em 225 mL de água peptonada tamponada a 0,1%, para as contagens de bactérias lácticas, lipolíticas e proteolíticas.

Para contagem de bactérias lácticas e proteolíticas 1mL de solução foi semeado em profundidade. O meio de cultivo das bactérias lácticas foi o Lactobacillus MRS Agar e das mesófilas proteolíticas em 9 – 11 mL de uma solução composta por Agar Contagem Padrão – PCA (HIMEDIA) enriquecido com 1% de leite desnatado em pó (LDR). Para o preparo 10% da água peptonada da solução total é reservada para reconstituição do leite em pó desnatado (LDR). Ambas as soluções foram autoclavadas em frascos individuais, precisamente a uma temperatura de 121°C por 15 minutos e misturadas pouco antes do uso, em torno de 50°C (PCA10%LDR) (FRANK et al., 1992).

As bactérias mesófilas lipolíticas foram semeadas na quantidade de 0,1ml das respectivas diluições, em superfície de ágar base tributirina (HIMEDIA) adicionado de Suplemento Tributirina (HIMEDIA), com auxílio de uma alça de Drigalsky, em duplicata, conforme metodologia proposta por Freire (1996).

Todas as placas foram incubadas a 36 ± 1 °C por 48 horas e posteriormente contadas as placas que continham entre 25 e 250 colônias com halo transparentes e/ou saturação branca

no entorno da colônia, devido a lise de Caseína, no caso das proteolíticas, halos transparentes para as lipolíticas. A contagem foi total nas placas de bactérias lácticas, sendo os resultados expressos em log de UFC por grama de queijo.

Como o objetivo da pesquisa foi prevendo que os queijos serão comercializados maturados, a pesquisa de *Listeria* não foi realizada no tempo zero de maturação (TM0), correspondente ao dia da produção. Foram realizadas aos 30 dias (TM1) e repetidas na maturação seguinte em caso de presença do micro-organismo aos 30 dias.

Para pesquisa de *Listeria spp.* foram pesados outros $25 \pm 0,2$ gr da amostra e adicionados 225 ml de caldo LEB (*Listeria* Enrichement Broth), homogeneizados por agitação intensa por 30 segundos e incubados a 36 ± 1 °C por 24 horas. Posteriormente as amostras foram estriadas em placas prontas para uso, com Meio Cromogênico para Pesquisa de *Listeria*, da Laborclin® (LISTERIA-ALOA-AGAR) e incubadas por 24 a 48 horas a 36 ± 1 °C. Os resultados foram expressos por presença ou ausência de *Listeria* em 25 gr de queijo.

Para esta análise estatística os dados foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA), aplicado teste de Tukey, a 5% de significância e posteriormente analisados pelo programa estatístico *Sisvar* (FERREIRA, 2011). Foi usado delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial duplo, considerando o período de produção como fator 1 e o tempo de maturação como fator 2.

3 Resultados e discussão

3.1 Temperatura e Umidade Relativa

As médias de temperatura e umidade relativa do dia de produção foram estabelecidas a partir do início da ordenha até o momento em que as amostras de queijos prensados foram coletados e conduzidos ao laboratório para análises microbiológicas.

Todos os valores de médias, máximas, mínimas e de amplitudes térmicas estão descritos na Tabela 02 (Anexo A) e as médias também podem ser visualizadas na Figura 19 (Anexo B). De acordo com os registros de temperatura realizados ao longo do período experimental, com os queijos produzidos em dezembro, correspondentes ao segundo período produtivo (Anexo B - Figura 16), na média de temperaturas mais elevadas (21,6°C), sendo maturados a temperaturas decrescentes (Anexo B - Figura 19), até o oitavo mês de maturação.

De forma inversa, para os queijos produzidos na estação climática de inverno (junho), referente ao quinto período produtivo (Anexo B - Figura 18), a uma média de temperatura de 10,6°C, foram maturados sob temperaturas médias constantemente crescentes.

Como o período crítico para reações físico-químicas ocorre dentro do primeiro mês de maturação, as condições de temperatura para o dia da produção e as médias as quais os queijos foram submetidos ao longo deste primeiro mês podem esclarecer algumas características aparentes do produto (Anexo B - Figura 18), principalmente em relação à formação e ao tamanho de olhaduras, dos queijos da quinta e última partida produzida.

Como mencionado anteriormente, a partida de queijos produzida no mês de fevereiro e descartada, apesar de não terem sido submetidos a temperatura ambiente tão elevada quanto os queijos produzidos em dezembro, tiveram efeito negativo da combinação de temperatura e umidade relativa elevada nos dias de produção, o que certamente dificultou a desidratação necessária para a rápida formação da casca, fundamental neste tipo de queijo. Como o leite não foi pasteurizado, as condições ficaram muito propícias ao processo de deterioração.

Os queijos que tiveram aparentemente as melhores características foram os produzidos em novembro (PP1) e maio (PP4). Já os produzidos em novembro, apesar de terem sido expostos a uma temperatura crescente até o final do primeiro mês de maturação (Anexo B - Figura 19) e esta ter sido estável até o final do terceiro mês, contou com uma umidade relativa inferior a 85% (Anexo B - Figura 20) na fase de formação da casca, o que deve ter favorecido esta formação (Anexo B - Figura 15). Além do mais, o leite do qual os queijos produzidos em novembro derivou de pastagem de aveia em final de pastejo, o que permite deduzir que houve uma maior proporção de gordura, o mesmo que aconteceu com os queijos produzidos em maio (PP4), conforme Figura 03 (Anexo B), no final do ciclo vegetativo da *Brachiaria brizantha*.

Quanto as variáveis temperatura e umidade relativa, os queijos produzidos em maio (Anexo B - Figuras 17 e 19), foram também maturados nos dois primeiros meses sob temperaturas amenas, o que aparentemente pode ter sido determinante na aparência extremamente satisfatória.

A partir dos valores médios de temperatura, pode-se afirmar que os queijos produzidos nos meses mais quentes, de novembro e dezembro, apresentam alterações importantes e que podem determinar a modulação da microbiota desses queijos, quando comparados aos produzidos no mês de junho, que podem ser atribuídos às condições ambientais semelhantes às dos queijos sob refrigeração.

Temperaturas baixas favorecem a seleção de micro-organismos deteriorantes (Anexo B - Figura 18), desfavorecem as desejáveis bactérias lácticas acidófilas, além de reduzir o efeito físico de redução da atividade da água por desidratação (FURTADO, 2005).

Das Dores (2007) obteve conformidade sanitária aos 22 dias de maturação em Queijos Minas Artesanal, produzidos e maturados a temperatura média de 23°C e 62% UR, quando comparados aos refrigerados a 8°C e 77% de UR. Em sua pesquisa, os queijos refrigerados demandaram 35 dias de maturação para os produzidos em setembro (seca) até 87 dias para atingir a conformidade sanitária, nos queijos produzidos em maio (águas).

A Figura 18 (Anexo B) ilustra os queijos produzidos em junho ao final do primeiro mês de maturação, visivelmente alterado pela produção de gás de micro-organismos indesejáveis, uma vez que o padrão de fermentação do Queijo Colonial não demanda formação de olhaduras, típicas de estufamento tardio que ocorre a partir da segunda semana de maturação (FURTADO, 2005). Isto ocorre quando os esporos microbianos normalmente encontram condições ideais de germinação, como baixo potencial de óxido-redução (resultado da fermentação láctica), ou antes da distribuição uniforme do sal em toda a massa (FURTADO, 2005; BERESFORD et al., 2001), motivo pelo qual as olhaduras tendem a ocorrer na parte central do queijo.

O estufamento tardio em queijos de longa maturação tem como causa mais comum a presença de micro-organismos do grupo butírico, como por exemplo o *Clostridium butyricum* e *Clostridium tyrobutyricum*, que crescem a uma temperatura ótima de 30 à 37°C e 25°C, respectivamente, determinados também pela composição do queijo (FURTADO, 2005; DIAS, 2011). É consequência da presença do *C. butyricum* os extremos de deformações de queijos, por consequência de sua intensa produção de gás. Estes agentes são encontrados na natureza, sobretudo no solo, na poeira, e com muita frequência nas forragens usadas na produção de silagem.

As bactérias butíricas competem com as propiônicas por lactato e produzem ácido butírico, responsável pelo sabor de ranço dos queijos e gás CO₂ e H₂, responsáveis pelas olhaduras. Este tipo de fermentação é mais facilmente identificada pelo odor desagradável conferido aos queijos.

O gás carbônico é bastante solúvel em água, assim, as olhaduras só aparecem no queijo depois da saturação completa do meio aquoso em que está dissolvido. Por outro lado, o hidrogênio não é solúvel em água, provocando a formação imediata de olhaduras, que aumentam de tamanho a medida que o defeito se manifesta mais precocemente no queijo (PERRY et al., 2004).

A recomendação de Sperat-Czar (2012) é que queijos de casca como o Colonial, sejam maturados a temperaturas amenas a fim de conservar sua leveza e qualidade. A Figura 17 (Anexo B) ilustra um dos queijos que foram maturados sob estas condições.

Ao final dos 30 dias, como já mencionado, os queijos produzidos no inverno maturaram a temperaturas superiores às registradas nos dias de produção, mesmo assim dentro de uma faixa onde micro-organismos psicrotróficos apresentam tempo de geração inferior a 14h (FURTADO, 2005). As alterações na maturação, decorrente da variável temperatura, somados a variável umidade relativa foram refletidas tanto nos resultados de perda de peso como nos valores de atividade da água dos queijos, descritas posteriormente.

As variações percentuais de umidade relativa do ar estão expressas na Figura 20 (Anexo B) e Tabela 03 (Anexo A) e ao contrário dos extremos de temperaturas entre verão e inverno apresentados durante o período experimental, os queijos produzidos no inverno estiveram expostos a uma primeira fase de maturação à médias de umidade relativa de 89,94%. Em umidade superior a 77% foram produzidos também os queijos de novembro, dezembro, março e maio, porém, combinado a temperaturas mais elevadas (Anexo A - Figura 19).

Para os queijos produzidos no inverno, o efeito da temperatura como um catalisador de reações enzimáticas deve ter sido comprometido, retardando os processos físico-químicos de maturação, principalmente a hidrólise de proteínas, que também desfavorecem o desenvolvimento de patógenos por contribuir na redução da atividade da água dos queijos.

As médias de umidade relativa do ar foram inferiores as consideradas necessárias por Sperat-Czar (2012) para queijos de casca, que devem ser mantidos e entre 85 e 95 %, a fim de não haver desidratação e para que ocorra naturalmente a maturação. Pode-se observar em destaque na Tabela 02 (Anexo A), com exceção as datas de produção, que não integram a média do mês, que estes percentuais foram atingidos pelo PP1 nos TM 2, 4 e 8; PP2 nos TM 3 e 6; PP3 no TM 3; PP4 nos TM 2 e 3 e no PP5 apenas no TM1.

A alta incidência e tamanho de olhaduras, que comprometeu toda a partida de queijos produzida no inverno (PP5, Anexo B - Figura 18) pode ter sido decorrente da combinação de temperatura média baixa com amplitude térmica e as máximas de umidade relativa ocorridas no mês, representando alta frequência de chuvas e uma nevasca atípica ocorrida passados 30 dias da produção, que provocou queda e manutenção de baixas médias das mínimas de temperatura diária (8,4°C no TM1 e 9,1 no TM2 para o PP5)

A amplitude tanto térmica como de umidade instabilizam as reações na coalhada e são contrárias às orientações a respeito de estabilidade recomendadas pela produção de queijos

tradicionais, como o Camembert, que deve ser mantido sob temperatura e umidade relativas controladas por 2 a 4 semanas, ou como queijos duros, que demandam estabilidade por 2 anos (LAW & TAMINE, 2010).

Na Figura 15 (Anexo B) podem ser observadas olhaduras muito pequenas, próximo a casca e algumas fissuras na massa da coalhada, provocadas pela permanência de ar no momento da prensagem, que são características no Queijo Colonial.

3.2 Perda de peso

A maior perda de peso ocorreu durante o primeiro mês para todos os períodos de produção, o que deixa evidente que a fase aquosa do queijo acontece dentro deste primeiro mês, e que para o quinto período de produção, esta fase pode ter se estendido para além do primeiro mês, uma vez que houve perda significativa de peso entre o primeiro e o segundo mês, como pode ser observado na Tabela 04 (Anexo A), o que não ocorreu para os períodos um e três.

O primeiro mês tem estreita relação com a velocidade de formação da casca do queijo, que ocorre tão rapidamente quanto forem ideais as condições de temperatura e umidade relativa, além dos fatores intrínsecos da coalhada, sendo uma prioridade pela razão de proteger o produto, por ser sua auto-embalagem (CORREIA & RONCADA, 1997).

Numa primeira etapa de formação da casca, esta faz o papel de membrana semipermeável que permitirá a migração do sal para o interior do queijo pelo fenômeno de difusão e ao mesmo tempo permitirá a saída de soro do queijo com seus elementos solúveis, principalmente ácido láctico, lactose e nitrogênio não protéico (MARK & MORISON, 1998).

Na comparação de médias para perda de peso (Anexo A - Tabela 04, Anexo B - Figura 21), pode atribuir-se a diferença entre os queijos produzidos em novembro a uma temperatura ambiente elevada (20,65°C), associada aos níveis baixos de UR (78,07), que por diferença osmótica justifica maior desidratação destes queijos. De forma oposta, os queijos produzidos em junho, estiveram expostos às médias de 13,11°C e 85% de UR que proporcionaram um ambiente desfavorável à desidratação.

Quanto aos queijos produzidos em março e junho, foram estatisticamente iguais aos de novembro e maio no primeiro mês de maturação. Mesmo tendo sido expostos a média de 77% de UR, a média de temperatura de 17,45°C pode ser responsabilizada por ter proporcionado um equilíbrio nas taxas de desidratação. Os queijos produzidos em novembro e maio foram

diferentes entre si ao final do primeiro mês. As diferenças entre estes podem ser atribuídas basicamente a maior UR (87,1%) e temperaturas mais amenas (14,3°C) a que os queijos do PP4 estiveram expostos, quando comparados aos produzidos em novembro, com médias de 78,1% de umidade relativa e 20,6°C, sendo que esta ainda teve amplitude média no mês de 26,5°C.

Ao final do segundo mês de maturação (TM2), houve semelhança entre os queijos produzidos nos meses mais frios, de temperaturas amenas e sob UR mais próxima ao ideal para maturação deste tipo de queijo, e uma provável consequência foi a estabilidade na perda de peso em relação ao mês anterior. Os queijos produzidos nos meses de novembro e março podem ter sua diferença estatística atribuída as diferentes médias de temperatura, respectivamente 20,5°C (novembro) e 16,5°C (março).

A partir do segundo mês de maturação, a época ou período do ano em que os queijos foram produzidos não foi determinante sobre as taxas de perda de peso dos queijos, evidenciando uma efetiva formação da casca como barreira física para desidratação ou a eficiência na utilização das embalagens sobre os queijos, com intuito de reduzir esta desidratação. No entanto, faz-se necessária a avaliação da embalagem para fazer as devidas atribuições de eficiência tanto da casca quanto da embalagem.

É desejável que realmente ocorra esta rápida desidratação inicial, seguida de uma estabilização, que pode ser atribuída a uma eficiente formação da casca e estabilização da quantidade de água interna.

A igualdade estatística das médias dos diferentes períodos de produção, entre os tempos de maturação, já ao final do terceiro mês demonstra uma estabilização das perdas, independente da época de produção, quando comparados os meses de novembro, março e junho.

Isolando-se a primeira fase de maturação, antes dos queijos serem cobertos (Anexo B - Figura 14), comparando os períodos de produção 1, 3, 4 e 5 para o parâmetro perda de peso, os queijos produzidos no mês de março (PP3) podem ser destacados por terem tido desidratação inicial satisfatória seguida de mais rápida estabilização, que pode indicar um processo de maturação desejável.

3.3 Atividade da água

A quantidade de água no alimento tem efeito direto sobre o ambiente microbiano, sendo que ambiente alimentar com maior disponibilidade de água acarreta maior multiplicação, não apenas de micro-organismos desejáveis, como bactérias lácticas, mas também de patogênicos, favorecidos ainda mais por baixas temperaturas.

Estes patógenos, mesmo que não tenham tempo hábil de se multiplicar para causar doenças infecciosas, podem provocar danos materiais ao produto, como rachaduras e olhaduras pela produção de gás, que comprometem a comercialização dos queijos. Água disponível associada à temperatura proporciona a combinação mais desafiadora para produção de queijos, principalmente portadores de microbiota autóctone.

Para Law & Tamime (2010), alimentos com valores de atividade de água altos (acima de 0,90) apresentam solubilidade de nutrientes diluídos que servem substrato para o crescimento de micro-organismos. Partindo deste princípio, todos os queijos, com exceção aos produzidos em novembro (PP1), se mantiveram com A_w superior a 0,9 mesmo após quatro meses em maturação, proporcionando um ambiente mais favorável a micro-organismos indesejáveis.

Nos queijos produzidos em novembro, ao final do terceiro mês a atividade da água foi menor que 0,9, além de ter decrescido significativamente para todos os meses de maturação até o quarto mês. Os queijos produzidos em dezembro mantiveram-se com atividade da água superior aos demais até seis meses (Anexo A - Tabela 05). Teores semelhantes foram observados nos queijos produzidos em maio (PP4), também aos seis meses de maturação. Estes queijos produzidos em maio foram os que atingiram e mantiveram uma estabilidade mais longa (Anexo B - Figura 14 e 21), inclusive quando considerada a colocação das cápsulas para redução de perdas por desidratação, entre o terceiro e quarto mês de maturação. Nestes queijos, a atividade da água reduziu significativamente entre os meses correspondentes a setembro (TM6) e outubro (TM8), provavelmente por ter efeito direto do calor sobre a velocidade de maturação, ou seja, hidrólise de compostos.

Além do caráter de segurança do alimento, uma redução da atividade da água para um teor inferior a 0,80 catalisa as reações químicas e enzimáticas por proporcionar o aumento da concentração dos reagentes (LAW & TAMIME, 2010), o que acelera a maturação do queijo. Os valores para atividade da água de 0,6720 (um dia) e 0,6438 foram obtidos após sete dias de maturação em Queijos Artesanais do norte do Rio Grande do Sul (SCHMIDT et al., 2011). Estes valores foram constatados pelo autor à maior evaporação da água e hidrólise de

proteínas durante a maturação, em função de temperaturas médias de 18 à 26°C. Além do mais, relataram baixa umidade relativa do ar na sala de maturação, que contribuiu para extensa desidratação.

Resultados constatados por Souza et al. (2003), estão de acordo com os resultados do presente trabalho, com valores de 0,935 aos 60 dias de maturação para os queijos produzidos no verão e 0,954 para os produzidos no inverno.

Os queijos de qualidade inferior, de acordo com a combinação de variáveis consideradas até o momento, e que foram ilustrados na Figura 18 (Anexo B), foram produzidos em junho (PP5). A baixa temperatura no primeiro mês de maturação pode ter retardado o processo de dessoragem da coalhada, seguida de rápida desidratação e visivelmente, da rápida formação da casca. As baixas temperaturas médias e grande amplitude térmica diária (Anexo A – Tabela 02 e Anexo B - Figura 19) devem ter retardado as reações enzimáticas, determinantes na redução da atividade da água (LAW & TAMINE, 2010).

A menor atividade da água ao final do primeiro mês, dos queijos produzidos em novembro (PP1) pode ser atribuída à maior desidratação (Anexo A - Tabela 04 e Anexo B – Figura 21), que foi inverso para os queijos produzidos em junho após 30 dias.

Assim como os queijos produzidos no primeiro período (novembro), os do quinto período produtivo (junho) apresentaram taxas de desidratação inicial que podem ser consideradas desejáveis, no entanto, o fato dos queijos produzidos em março (PP3) terem apresentado um processo de perda de peso mais rápido, seguido de uma estabilização pode indicar uma maior eficiência no processo de maturação, uma vez que, pela redução mais rápida, seguida desta rápida estabilização pode ser atribuída à utilização da água livre em processos de hidrólise das caseínas da coalhada.

Quando associados, os resultados de atividade da água com os de temperatura (Anexo A - Tabelas 02 e 05), referentes aos diferentes tempos de maturação dentro de cada período de produção de queijos, constata-se variações percentuais crescentes, uma vez que a perda de peso é uma constante, e que foram iguais entre os TM2 até o TM8 e entre o TM1 até o TM4 para os queijos produzidos em novembro. Estas variações podem ser tidas como desejáveis uma vez que representam uma desidratação inicial, que seguida por semelhança em relação aos demais tempos de maturação, representam uma estabilização da perda de peso (Anexo B - Figura 21), e um ambiente mais propício para ocorrência dos processos físico-químicos internos, característicos de queijos de casca, com relação direta com atividade da água.

Considerando as variáveis desidratação e temperatura, não há qualquer semelhança estatística para os queijos produzidos em novembro (PP1) e os de junho (PP5), mas quando

analisamos as possíveis causas da maior instabilidade na desidratação do PP5, quando comparado ao PP1 e até mesmo aos produzidos em dezembro (PP2), podemos associar esta variação não somente a data de produção como também a variações de temperatura subsequentes que, para os queijos produzidos em novembro, tenderam a reduzir com o avanço do tempo de maturação. Já para os produzidos em dezembro, esta tendência foi completamente inversa, com menor temperatura na fase de produção, o que justifica a menor taxa de desidratação, ou perda de peso, com aumentos consecutivos de temperatura média com o avanço do tempo de maturação.

A baixa temperatura média no primeiro mês de maturação do PP5 (junho) pode ter retardado o processo de dessoragem da massa e este, sido agravado pela formação da casca, além da manutenção da umidade na massa.

Quando comparados os tratamentos para a casca dos queijos, realizada no terceiro mês os valores de A_w foram de 0,9218 nos Queijos Imbriago e 0,9011 nos Colonial aos quatro meses. Os valores foram ainda de 0,9007 e 0,8883 aos 6 meses e 0,8716 e 0,8706 aos oito meses, respectivamente para os queijos Imbriago e Colonial sem pintura, com $CV=5,30\%$ para o fator tempo de maturação e $CV=1,9\%$ para tratamento da casca. Estes resultados indicam que houve uma hidratação dos queijos que tiveram a casca tratada. Porém, os queijos pintados obtiveram menor teor de A_w .

A Figura 17 (Anexo B) representa os queijos produzidos em maio, que apresentaram maior estabilidade em relação a atividade da água, que se manteve bastante elevada por um longo período de tempo, sendo indício de um processo de maturação mais lento.

3.4 Parâmetros Microbiológicos

3.4.1 Enumeração de bactérias ácido lácticas (BAL)

O número de bactérias ácido lácticas foi significativamente maior aos 30 dias de maturação (TM1) quando comparados às quantidades da coalhada do dia da produção (TM0), como pode ser observado na Tabela 06 e 07 (Anexo A). Foram avaliados quatro tempos de maturação. Para Dalla Rosa et al. (2008), o número de bactérias do ácido láctico aumenta rapidamente durante os primeiros 15 dias.

Como as BAL desempenham papel antagônico aos demais micro-organismos (FUNK, 2011), uma população inicial, seguida de um significativo e rápido aumento é desejável em queijos produzidos a partir de leite cru, além de proporcionarem características tecnológicas que contribuem para a caracterização do produto.

O PP2 (dezembro) destaca-se por ser ter tido uma contagem inicial significativamente diferente em relação à contagem no dia de produção dos demais queijos (4,30 log). Os queijos produzidos neste mês, apesar de terem a menor contagem inicial, foram os queijos que apresentaram maior significância entre a produção e o final de 30 dias de maturação. Outro fato relevante diz respeito à estabilidade mantida até o segundo mês de maturação (TM2), ocorrido também nos queijos produzidos em junho, que coincidem com os resultados obtidos por Dalla Rosa et al. (2008), a respeito desta estabilidade de bactérias ácido lácticas em aproximadamente 8,0 UFC log/g.

Nesta análise é possível identificar os efeitos de outro momento crítico do processo produtivo, que foi a colocação das cápsulas sobre os queijos nas diferenças de contagem entre o TM3 e TM4. De acordo com os dados, para os meses de temperaturas mais elevadas (novembro e maio), a colocação da cobertura pode ter proporcionado uma condição de estabilidade que proporcionou uma diminuição significativa deste grupo microbiano do tempo 3 para 4 meses e posterior estabilização. Nos queijos do PP5 (junho) este intervalo de maturação entre o terceiro e quarto mês foi estável, reduzindo significativamente no sexto mês.

A oscilação nas contagens de bactérias ácido lácticas ocorreram simultaneamente às variações de temperatura e taxas de perda de peso e tempo de maturação discutidos anteriormente. A maior desidratação inicial e temperatura média podem ter proporcionado melhores condições de incubação deste grupo microbiano.

3.4.2 Enumeração de bactérias mesófilas lipolíticas

Houve uma estabilidade no número de colônias, para os queijos produzidos em maio (PP4) e junho (PP5) até o final do terceiro mês de maturação, como pode ser observado na Tabela 08 (Anexo A), tendo uma evidente semelhança com a atividade da água elevada no intervalo correspondente. Esta semelhança ocorre também para os queijos produzidos em novembro (PP1), que tiveram redução linear na atividade da água, até o quarto mês de maturação.

Nos queijos produzidos em maio e junho, o decréscimo significativo nas contagens de mesófilas lipolíticas pode estar mais associado à variável temperatura, que no TM4 (março), apresentou valores favoráveis ao desenvolvimento de micro-organismos psicotróficos, mês que também houve uma baixa amplitude térmica, ou seja, períodos de temperaturas inferiores a média. Esta diferença é significativamente superior no tempo de maturação correspondente, para os meses de maio e junho.

Para Furtado (2005), a deterioração causada por estas bactérias lipolíticas são agravadas por períodos longos de exposição a temperaturas de 5 à 10°C e quanto mais lento for o processo de refrigeração maior será a deterioração.

Os dados de Furtado (2005) coincidem com resultados encontrados por Montanhini (2012), que tornou mais evidente a relação do metabolismo dos micro-organismos psicotróficos possuírem temperaturas inferiores à 7°C um ótimo de crescimento, no entanto, em temperaturas inferiores a 10°C, estes contaminantes se tornam predominantemente lipo-proteolíticos e tem a produção de enzimas hidrolíticas maximizada na fase de crescimento exponencial ou estacionária. Porém a maioria dos psicotróficos possuem temperatura ótima de multiplicação entre 20 e 30 °C (McPHEE & GRIFFITHS, 2011).

Ainda referente a Tabela 08 (Anexo A), para os queijos produzidos nos meses de maio, a contagem de bactérias mesófilas lipolíticas foi significativamente maior desde a produção até o final do segundo mês de maturação, evidenciando a maior contaminação dos referidos queijos, quando comparados aos queijos produzidos em novembro. No entanto, quando consideramos as populações de bactérias lácticas para os mesmos queijos, nos mesmos tempos de maturação verifica-se a ação destas sobre os contaminantes.

Souza et al. (2003), avaliando queijos Serrano produzidos no verão e no inverno e posteriormente submetidos a diferentes tempos de maturação findados aos dois meses, não verificaram variação significativa para contagens de bactérias lipolíticas entre os tempos de maturação. As contagens 5,18 (verão) e 6,15 UFC/g (inverno) foram contadas na coalhada com um dia. Nos demais tempos de maturação para os queijos produzidos no verão os resultados foram de 6,50, 6,59, 6,43, 5,57 e 5,50 log de UFC/g, respectivamente aos 7, 14, 28, 42 e 60 dias e de 6,16, 6,26, 5,13, 5,30 e 4,68 log de UFC/g, nos mesmos tempos de maturação (meses), para os queijos produzidos no inverno.

3.4.3 Enumeração de Bactérias Mesófilas Proteolíticas

Este grupo é caracterizado por uma forte atividade proteolítica e os micro-organismos que podem ser responsabilizados pelo estufamento tardio são pertencentes ao gênero *Clostridium* (LAFARGE et al., 2004). Muitos desses micro-organismos que compõem a microbiota do leite são psicrotróficos, capazes de deteriorar o leite e seus derivados ou causando deterioração destes derivados durante a maturação (TEBALDI, 2008).

O maior número de bactérias proteolíticas foram verificados aos 30 dias, mantendo-se até os 60 dias de maturação (Anexo A - Tabela 09) para os queijos produzidos em junho (PP5). Esta partida de queijos apresentou elevada contagem para bactérias ácido lácticas e foi semelhante aos outros dois períodos a que foi comparada para mesófilas proteolíticas. No entanto, a variável que melhor pode justificar o significativo aumento e manutenção da população de mesófilas proteolíticas nos queijos do PP5 é a quantidade de água disponível que se manteve acima de 0,96 até o segundo mês de maturação. Estes teores associados a baixas temperaturas decorridas no período proporcionaram condições favoráveis para o desenvolvimento deste grupo microbiano.

Souza et al. (2003), enumerando a população proteolítica de Queijo Serrano, produzidos no verão e no inverno, durante sua fabricação e maturação por 60 dias, observaram as variações microbianas de 5,90 e 5,97 UFC/g de coalhada no verão e inverno respectivamente. Nos tempos de maturação 7, 14, 28, 42 e 60 dias, foram contadas 7,12, 8,09, 7,5, 7,17 e 7,10 UFC/g de queijo produzido no verão e 7,09, 9,05, 8,67, 7,82 e 7,86 UFC/g, respectivamente, nos produzidos no inverno.

De acordo com Souza et al. (2003), a maiores contagens de bactérias proteolíticas em relação às lipolíticas podem ser atribuídas ao fato de a atividade proteolítica ser maior do que a atividade lipolítica no queijo Serrano, o que de acordo com os autores, é comum neste tipo de queijo pelo curto período de maturação.

3.4.4 Pesquisa de *Listeria spp.*

A presença desse micro-organismo indica uma contaminação ambiental (SCHOCKEN-ITURRINO et al., 2005; RIBEIRO et al., 2006), muito frequente em silagens.

Das 10 amostras que foram avaliadas aos 30 dias de maturação, três foram positivas para presença de *Listeria*. A primeira correspondente a produção do segundo dia do primeiro

período (novembro de 2012) e as outras duas referentes ao último período de produção (julho de 2013), do primeiro e terceiro dia. A produção correspondente a estes resultados positivos foi pesquisada e negativa no tempo de maturação seguinte (TM2). Este tempo de maturação de dois meses, corresponde ao tempo mínimo de exigido pelo Ministério da Agricultura para que queijos produzidos a partir de leite cru possam ser comercializados sem prévia realização de avaliação microbiológica (BRASIL, 2011).

De acordo com estes resultados, os queijos avaliados são próprios para consumo por não oferecerem risco de exposição à listeriose aos 60 dias de maturação.

Como a presença de *Listeria spp.* foi identificada em um queijo do período de médias de temperatura ambiente maiores e duas amostras de queijos produzidos no inverno, as condições climáticas não podem ser consideradas responsáveis pela ocorrência. No entanto, de acordo com Zaffari et al. (2007), de maneira geral, as estações do ano influenciaram no isolamento de *Listeria spp.*, sendo a primavera com o maior número de isolados e o verão com o menor, confirmando que locais ou épocas com temperaturas mais amenas são mais propícias para multiplicação ou sobrevivência deste gênero.

De acordo com Jay et al. (2005) a temperatura ótima de crescimento da *Listeria* é de 30 à 37°C. Com base nesta característica, pode-se deduzir que outros fatores como atividade da água e maior tempo para desidratação podem manter o meio mais propício, de forma a compensar a adversidade de menores temperaturas. Em temperaturas mais amenas (10 à 25°C) apresentam mobilidade, o que provoca a dispersão das células (JAY et al., 2005), de forma facilitada em ambientes mais úmidos, que seguido da elevação para temperatura ideal, tem seu efeito contaminante potencializado.

Por ser um micro-organismo muito presente em silagens, o fato do mesmo funcionário responsável por abastecer os cochos dos animais ser também responsável pela ordenha, pode justificar a presença deste agente por contaminação cruzada, uma vez que o abastecimento dos cochos ocorreu sempre antes da ordenha.

Com a evolução, do tempo transformações físico-químicas inerentes a maturação, como formação de ácidos orgânicos e conseqüente redução do pH, desidratação e hidrólise protéica e conseqüente redução da *A_w*, tornaram o meio inóspito para a *Listeria*.

4 Conclusões

A decisão por produzir Queijo Colonial deve ser tomada a partir das variáveis temperatura e umidade relativa, de maneira a obter uma rápida perda de peso inicial e formação da casca, seguindo-se o período de maturação por médias de temperaturas amenas e umidade relativa do ar acima de 90%. Assim, as épocas de Maio e Junho, no hemisfério sul, podem ser consideradas mais favoráveis por serem seguidas de temperaturas decrescentes nos primeiros dois meses de maturação.

Em função da presença de *Listeria* recomenda-se respeitar o tempo mínimo de 60 dias de maturação para a comercialização.

5 Referências Bibliográficas

ANVISA, 2001 – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC n. 12 de 2 janeiro de 2001, alterada pela RDC nº 171, de 04 de setembro de 2006. **Regulamento Técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos.**

ANVISA, 2009 - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Queijo Colonial. Rio Grande do Sul. **Guia para gerenciamento de riscos sanitários em alimentos.**

BERESFORD, T. P.; FITZSIMONS, N. A.; BRENNAN, N. L. & COGAN, T. M. **Recent advances in cheeses microbiology.** International Dairy Journal. V. 11, P. 259-274, 2001.

BRASIL, 2011. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamenta Produção de Queijos Artesanais, Instrução Normativa Nº 57 de 16 de dezembro de 2011.**

COELHO, M. A. Z.; SALGADO, A. M. & RIBEIRO, B. D. **Tecnologia Enzimática.** Ed. EPUB, 2008, p.288. Petrópolis - Rio de Janeiro.

CORREIA, M.; RONCADA, M. J. **Características microscópicas de queijos prato, mussarela e mineiro comercializados em feiras livres da Cidade de São Paulo.** Revista Saúde Pública. São Paulo, v. 31, n. 3, p. 296-301, jun. 1997.

DALLA ROSA, T.; WASSERMANN, G. E.; SOUZA, C. F. V. de; CARON, D.; CARLINI C. R. & AYUB, M. A. Z. **Microbiological and Physicochemical Characteristics and Aminopeptidase Activities during Ripening of Serrano Cheese.** *International Journal Dairy Technology*, Vol. 61, No. 1, 2008, pp. 70-79.

DAS DORES, M. T. **Queijo Minas Artesanal da Canastra Maturado à temperatura ambiente e sob refrigeração.** Dissertação, 2007. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – Minas Gerais. Disponível em: http://www.tede.ufv.br/tedesimplificado/tde_arquivos/39/TDE-2009-08-03T080615Z-1927/Publico/texto%20completo.pdf, acesso em 12.05.14.

DIAS, G. **Microfiltração como alternativa na produção de Queijos com olhaduras e utilização da fase aquosa para avaliação de suas características Físico-Químicas.** Tese, 2011. Universidade Federal de Viçosa.

FERREIRA, D. F. **Sisvar: a computer statistical analysis system.** Ciência e Agrotecnologia (UFLA), v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

FRANK, J. F. et al. (1992) **Tests for groups of microorganisms.** In: MARSHALL, R.T. (Ed.). Standard methods for the examination of dairy products. 16.ed. Washington: American Public Health Association, p.271-286.

FREIRE, D. M. G. **Seleção de microrganismos lipolíticos e estudo da produção de lipase por *Penicillium restrictum*.** 1996. 174p. Tese (Doutorado em Ciências) - Departamento de Bioquímica do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, 1996.

FUNK, G. D.; HERMANNNS, G.; VICENZI, R.; RICHARDS, N.; SILVA, W. P. DA & FIORENTINI, A. M. **Atividade antagonista de bactérias ácido-láticas isoladas de leite *in natura* e queijos artesanais frente a *E. coli*, *S. aureus*, *S. typhimurium* e *L.monocytogenes*.** XIII ENPOS – Encontro de Pós-Graduação da Universidade Federal de Pelotas – RS, 2011. Disponível em: http://www2.ufpel.edu.br/enpos/2011/anais/pdf/CA/CA_00323.pdf, acesso em 29.04.13.

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

JAY, J. M.; LOESSNER, M. J. & GOLDEN, D. A. **Modern Food Microbiology.** Seventh Edition, 2005, ed. Springer, p.790.

LAFARGE, V.; OGIER, J. C., GIRARD, V., MALADEN, V., LEVEAU, J.Y.; GRUSS, A. & BUCHET, A. D. **Raw Cow Milk Bacterial Population Shifts Attributable to Refrigeration.** Applied Environmental Microbiology, v. 70, n. 9, p. 5644-5650, 2004.

LAW, B. A. & TAMINE, A. Y. Livro 2010. **Technology of Cheesemaking.** Ed. 2, 515p.

MAPA, 2003. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA. **Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água.**

MARK, R. & MORISON, K. R. **A multi – component approach to salt and water diffusion in cheese.** International Dairy Journal. Department of Chemical and Engineering. University of Canterbury. Christchurh, New Zealand, 1998.

McPHEE, J. D. & GRIFFITHS, M. W. **Psychrotrophic bacteria: *Pseudomonas spp.*** In: FUQUAY, J.F. (Ed.). Encyclopedia of Dairy Sciences. 2ª Ed. Guelph University, Guelph, Canadá, 2011, p.379-383.

MONTANHINI, M. T. M. **Caracterização fenotípica e genotípica de *Bacillus cereus* isolado em produtos lácteos com relação ao seu comportamento psicrotrófico.** Tese (Doutorado), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2012.

PERRY, K. S. **Queijos: Aspectos Químicos, Físicos e Microbiológicos.** Química Nova. v. 27, n.2, p. 293-300, 2004.

REZENDE, D. C. de. **Estratégias de coordenação e qualidade na cadeia dos Queijos Finos.** Tese, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica – RJ, 2004.

RIBEIRO, L. A. O.; RODRIGUES, N. C.; FALLAVENA, L. C. B.; OLIVEIRA, S. J. de; BRITO, M. A. **Listeriose em rebanho de ovinos leiteiros na região serrana do Rio Grande do Sul: relato de caso.** R. Bras. Zootec., v.58, n.3, p.316-319, 2006.

SCHMIDT, J. T.; HERMANNNS, G.; FUNCK, G. D.; VICENZI, R.; FIORENTINI, A. M.; SILVA, W. P. & RICHARDS, S. N. **Transformações físico-químicas durante a maturação de queijos artesanais.** Salão de Iniciação Científica da UFRGS, n. 23, 2011. Porto Alegre, RS.

SCHOCKEN-ITURRINO, R. P.; REIS, R. A.; COAN, R. M.; BERNARDES, T. F. et al. **Alterações Químicas e Microbiológicas nas Silagens de Capim-Tifton 85 após a Abertura dos Silos.** R. Bras. Zootec., v.34, n.2, p.464-471, 2005.

SILVEIRA, P. R. C. da. **Riscos alimentares em uma sociedade de risco: compreendendo o comportamento do consumidor de alimentos artesanais.** Tese (Doutorado em Ciências Humanas). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

SOUZA, C. F. V.; DALLA ROSA, T. & AYUB, M. A. Z. **Changes in the Microbiological and Physicochemical Characteristics of Serrano Cheese during Manufacture and Ripening.** *Brazilian Journal Microbiology*, Vol. 34, No. 3, 2003, pp. 260-266. ISSN 1517-8382.

SPERAT-CZAR, A. **Os queijos de Leite Cru.** Sertão Bras., 2012. <http://media.sertaobras.org.br/livro/OsQueijosDeLeiteCruFinalWEB.pdf>, acesso em 20.09.13.

TEBALDI, V. M. R.; OLIVEIRA, T. L. C.; BOARI, C. A.; PICCOLI, R. H. **Isolamento de coliformes, estafilococos e enterococos de leite cru provenientes de tanques de refrigeração por expansão comunitários: identificação, ação lipolítica e proteolítica.** *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 28, n. 3, p. 753-760, 2008.

ZAFFARI, C. B., MELLO J. F. & COSTA M. **Qualidade Bacteriológica de Queijos Artesanais Comercializados em Estradas do Litoral Norte do Rio Grande do Sul, Brasil.** *Ciência Rural*. 37(3): 862-867. 2007.

ZOCCAL, R.; ALVES, E. R.; GASQUEZ, J. G. **Diagnóstico da pecuária de leite Nacional: estudo preliminar.** Juiz de Fora: CNPGL, 2011. Disponível em: http://www.cnp.gl.embrapa.br/nova/Plano_Pecuario_2012.pdf, Acesso em: 19.10.2012.

CAPÍTULO II – AVALIAÇÃO DE MÉTODO IMBRIAGO DE TRATAMENTO DA CASCA DE QUEIJO COLONIAL PRODUZIDO EM DIFERENTES ÉPOCAS, MATURADOS POR ATÉ OITO MESES.

RESUMO

Dois experimentos foram conduzidos com o intuito de identificar a melhor época de produção e tempo de maturação de queijo Colonial Tradicional e Colonial Imbriago no município de Pinhão – Paraná. O ano foi dividido em oito partes, sendo que em cinco momentos, chamados períodos de produção, de três dias foram produzidos queijos. Dez fêmeas bovinas Holandês, mantidas em pastagem, que mudou de acordo com a variação sazonal natural da propriedade, foram nutricionalmente complementadas diariamente com silagem de milho e ração. O leite utilizado na produção de queijo foi ordenhado pela manhã, 11 litros por animal, a fim de reduzir o efeito animal sobre a fórmula do queijo. O leite foi coagulado cru imediatamente pós ordenha, à 32°C, seguido processo tradicional do queijo Colonial. Aos três meses de maturação, metade das amostras foram submetidas a embriaguez tradicional do Imbriago e metade mantida como Colonial Tradicional, sendo os dois tratamentos comparados nos tempos quatro, seis e oito meses de maturação. Na data das análises, as amostras, em duplicata, foram pesadas e mensuradas para atividade da água, número de bactérias lácticas, mesófilas lipolíticas e proteolíticas. Estatisticamente foram comparados os efeitos dos tratamentos entre e dentro dos cinco períodos de produção (novembro, dezembro, março, maio e junho), em três tempos de maturação. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), aplicado teste de Tukey, a 5% de significância e posteriormente analisados pelo programa estatístico *Sisvar*. O delineamento foi em blocos casualizados em esquema de parcelas subdivididas, sendo bloco: período de produção; parcela: tempo de maturação; e sub-parcela: tratamento da casca. O Colonial Imbriago apresentou valores significativamente superiores ao Colonial Tradicional nos parâmetros atividade da água (0,9115 e 0,8988) e contagem de bactérias lácticas, que ocorreu apenas no quarto mês de maturação, 6,66 e 6,05 log de UFC/gr, respectivamente para o Imbriago e o Tradicional. Estas diferenças podem ser decorrentes da hidratação que pode ter ocorrido no momento do tratamento da casca do Imbriago, que pode também ter favorecido o meio para as desejáveis bactérias ácido lácticas. Não houve diferença estatística para os parâmetros contagem de bactérias mesófilas lipolíticas e proteolíticas, além de perda de peso, provavelmente pela colocação das tampas, que devem ter reduzido a desidratação. Para contagem de bactérias

mesófilas lipolíticas e proteolíticas não houve diferença entre os tratamentos, o que pode ser considerado um fator favorável na decisão por aplicar esta técnica, uma vez que estes microorganismos podem ser deteriorantes. Pode-se concluir que os queijos produzidos em maio podem indicar o melhor período para a produção, tanto para o colonial como para o Imbriago, e o tempo de maturação pode ser determinado pela preferência do consumidor. Quanto ao tratamento da casca, a provável reidratação não representa um risco sanitário.

Palavras-chave: Queijo Colonial, Formaggio Imbriago, maturação, bactérias lácticas, lipolíticas, proteolíticas.

CHAPTER II – IMBRIAGO METHOD ASSESSMENT OF PEELING TREATMENT OF COLONIAL CHEESE PRODUCED IN DIFFERENT TIMES, MATURED UP TO EIGHT MONTHS.

ABSTRACT

Two experiments were conducted in order to identify the best time of production and maturation of Traditional Colonial and Imbriago Colonial cheese in the municipality of Pinhão - Paraná. The year was divided into eight parts, wherein five moments, called production periods, of three days cheeses were produced. Ten Holstein heifers, grazing on pasture, which changed according to the natural seasonal variation of the property, were nutritionally supplemented daily with corn silage and ratio. The milk used in cheese production was milked in the morning, 11 liters per animal, in order to reduce the animal effect on the cheese formula. The milk was clotted raw immediately after milking, at 32°C, followed traditional process of Colonial cheese. After three months of maturation, half of the samples were subjected to the Imbriago traditional drunkenness and half was maintained as Traditional Colonial, the two treatments being compared at times four, six and eight months of maturation. On the date of analysis, the samples, in duplicate, were weighed and measured for water activity, number of lactic acid bacteria, lipolytic and proteolytic mesophilic. Statistically, the effects of treatments were compared between and within the five production periods (November, December, March, May and June), in three maturation times. Data were subjected to an analysis of variance (ANOVA), applied Tukey test, at 5% significance and subsequently analyzed by *Sisvar* statistical program. The lineation was in randomized blocks in a scheme of split plot, with block: production period; plot: maturation time; and subplot: peeling treatment. The Imbriago Colonial showed significantly higher values as to the Traditional Colonial in the water activity parameters (0.9115 and 0.8988) and lactic bacteria count, occurring only in the fourth month of maturation, 6.66 and 6.05 log CFU/gr, respectively, for Imbriago and Traditional. These differences may be a result from hydration that may have occurred during the treatment of Imbriago peel, which may also have favored the means to the desirable lactic acid bacteria. There was no statistical difference for the parameters lipolytic and proteolytic mesophilic bacteria count, in addition to weight loss, this probably for placing the caps, which should have reduced dehydration. To the counting of lipolytic and proteolytic mesophilic bacteria there was no difference between treatments, which can be considered a favorable factor in the decision to apply this technique, since these

microorganisms can be deteriorating. It can be concluded that cheeses produced in May can be indicated as the best time for production, both as to the colonial as the Imbriago and the maturation time may be determined by the consumer preference. Regarding the peeling treatment, the likely rehydration does not represent a health risk.

Keywords: Colonial Cheese, Imbriago Formaggio, maturation, lactic acid bacteria, lipolytic, proteolytic.

1 Introdução

Do Queijo Colonial submetido ao tratamento da casca com o bagaço restante da drenagem do mosto de uva fermentada para obtenção do vinho, com o próprio vinho ou mesmo com vinagre, deriva do Formaggio Imbriago (Anexo B - Figura 22, 23, 24, 26 e 27). Este é originário do território do Veneto, no Norte da Itália, região típica de Vinivicultura (TREVISAN, 2009 e FRANZINA, 2006).

Acredita-se que a “embriaguez” que caracteriza este queijo pode ter surgido ao acaso em 1917, com os produtores tentando evitar roubos no período da II Guerra Mundial, que escondiam os queijos debaixo das cascas de uva após a drenagem da primeira fase de fermentação da uva (Anexo B - Figura 25). Outra versão sustenta que, por falta de dinheiro para comprar o tradicional azeite usado no tratamento da casca para o envelhecimento dos queijos, um produtor usou uvas frescas e mostos, acabando por obter resultado ainda melhor. O confronto de datas da migração e de surgimento deste processo de tratamento para casca pode elucidar tanto o seu surgimento no Brasil como o fato deste quase ter desaparecido na sua origem (TREVISAN, 2009) por conta da migração de seus produtores para o Brasil.

De acordo com Di Cagno (2007), os queijos são feitos de leite de vaca cru e devem ser submetidos à embriaguez, tanto em mosto tinto ou branco, no dia seguinte a salga. Uma segunda embriaguez pode ser realizada no segundo ou terceiro mês de maturação. O processo praticado na presente pesquisa segue as adaptações praticadas no Brasil, como a de realizar a imersão ou pintura da casca apenas após o terceiro mês de maturação (Anexo B - Figura 24).

2 Material e Métodos

Dez fêmeas bovinas Holandês (Anexo B - Figura 01) entre segundo e quinto parto, paridas entre 50 e 70 dias do início da adaptação às dietas, foram mantidas em pastagem, que mudou de acordo com a variação sazonal natural da propriedade (Anexo B - Figuras 02, 03 e 04) e foram nutricionalmente complementadas diária e individualmente com 20 Kg (MN) de silagem de milho e equivalente a 1% (MS) do PV inicial de ração composta por milho, farelo de soja, triticale, canola grão, calcário calcítico e mistura mineral comercial, divididos em dois tratamentos ofertados após a ordenha (Anexo B - Figura 01). O leite utilizado na produção de queijo foi ordenhado pela manhã, individualmente, possibilitando a obtenção dos 11 litros por animal (Anexo B - Figura 05), a fim de reduzir o efeito animal sobre a fórmula do queijo. A

opção por utilizar apenas a ordenha da manhã foi para possibilitar a realização de todo processo no decorrer do dia, poder coagular o leite ainda quente, principalmente para que não fosse necessário esquentá-lo e não houvesse fracionamento da gordura, além de ser a ordenha que disponibiliza maior quantidade em volume. Por três dias, 110 litros foram coagulados cru em uma panela (Anexo B - Figura 06) imediatamente pós ordenha, à 32°C, com adição de 13,75mL de coagulante líquido (HA-LA®). Após 50 – 60 minutos o coágulo foi cortado, drenado, enformado em formas Janda Plast, modelo RH-1000, com capacidade de 0,8-1,2kg. O fluxograma de produção completo está descrito na Figura 09 (Anexo B).



Forma Janda Plast, modelo RH-1000.

No dia da produção, denominado primeiro dia, os queijos eram prensados (Anexo B - Figura 06) e assim permaneciam até o final da tarde, quando eram virados e novamente prensados, onde permaneciam até a manhã do dia seguinte, quando eram pesados, identificados e salgados com sal grosso apenas na superfície, dentro da própria forma. Ao final da tarde deste segundo dia, eram virados, salgados no outro lado e ainda mantidos dentro das formas. Na manhã do terceiro dia eram lavados com água à 50°C, secos com papel toalha e acondicionados sobre estrados distribuídos aleatoriamente nas prateleiras de secagem e primeira fase de maturação, onde permaneceram por 45 dias (Anexo B - Figuras 07, 10 e 11). A partir da primeira lavagem, eram lavados em água a 50°C todos os dias que apresentassem viscosidade ao toque na casca, percebida quando eram virados. Cessada esta viscosidade e obtida à casca característica deste tipo de queijo, eram lavados em água sem aquecimento, quando necessário, de acordo com processo tradicional do Queijo Colonial.

Enquanto estivessem apresentando nítida desidratação pela dessora pela perda de peso e as marcas visíveis na casca (Anexo B - Figura 13), os queijos eram virados entre duas a três vezes diárias, sempre utilizando papel toalha para secar o soro tanto dos queijos como dos estrados. As viragens passavam para uma ao dia quando a aparente desidratação reduzia,

evidenciada pela redução das manchas de menor desidratação da parte dos queijos em contato com o estrado e pela redução da perda de peso diária.

Aos 45 dias eram transferidos para uma sala de envelhecimento (Anexo B - Figura 14), com o intuito de disponibilizar a sala de secagem (Anexo B - Figura 07) para a exclusiva manipulação dos queijos frescos da produção seguinte, evitando contaminação cruzada (Anexo B - Figura 11 ilustra o manejo que foi evitado). Na sala de envelhecimento, ao completar três meses de maturação, foram submetidos ao tratamento da casca (Anexo B - Figura 24) com o bagaço residual da produção de vinho logo após sua drenagem, que foi triturado e aplicado em cobertura sobre os queijos. Este foi denominado tratamento um.

De cada um dos cinco períodos produtivos, distribuídos em diferentes épocas do ano (PP1=09-11/11/12, PP2=21-23/12/12, PP3=22-24/03/13, PP4=14-16/05/13, PP5=21-23/06/13 e um sexto, que foi descartado (Anexo B - Figura 12), produzidos de 04-06/02/13) foram analisados um total 60 queijos ou unidades experimentais, 12 de cada época do ano, divididos ainda em seis com a casca tratada, denominados Colonial Imbriago e seis sem tratamento, denominado Colonial Tradicional ou grupo controle, que foi o tratamento dois.

Foram analisados em duplicata para cada um dos três tempos de maturação, onde foram denominados de tempo quatro (TM4), seis (TM6) e oito meses (TM8) findado o oitavo e último tempo de maturação. Foram embriagados seis queijos para cada um dos cinco períodos de produção, sendo analisados em duplicata ao final do quarto, sexto e oitavo mês de maturação, assim como os sem tratamento da casca. Após o tratamento das cascas, os queijos ficaram secando sobre os estrados por no máximo cinco dias, quando, juntamente com o grupo controle, o chamado Colonial Tradicional, foram tampados (Anexo B - Figura 14) a fim de reduzir drasticamente a desidratação.

Na data das análises, as amostras foram pesadas e mensuradas para atividade da água, número de bactérias lácticas, mesófilas lipolíticas e proteolíticas. Registros constantes de temperatura ambiente, umidade relativa do ar foram realizados na sala maturação.

Os valores percentuais para perda de peso foram determinados a partir da diferença de peso entre a data da retirada da prensa e a do vencimento das respectivas maturações.

As médias mensais de temperatura e umidade relativa mensal foram determinadas por 30 dias, como ilustra precisamente a Tabela 01 (Anexo A), contados a partir da data do primeiro dia de produção dos queijos, nos cinco períodos dos queijos que foram analisados mais o mês de fevereiro, quando uma sexta partida produzida teve que ser descartada, justamente porque as condições ambientais foram extremamente desfavoráveis para a formação da casca e os queijos estragaram.

Na metodologia adotada, as médias para meses de mesmo nome ficaram diferentes para diferentes períodos produtivos, facilmente percebido nesta Tabela 01 (Anexo A). Os registros destas variáveis foi realizado diariamente, a cada três horas, com auxílio de um Datalogger Akso, modelo AK 172 (Anexo B - Figuras 07 e 08), onde primeiro foram determinadas as médias diárias e posteriormente as médias de cada intervalo de 30 dias.

A atividade da água do interior dos queijos foi determinada em triplicata, em cada unidade experimental, desprezando uma distância de 0,8cm da casca, com auxílio do aparelho AquaLab, modelo 4TE, comercializado pela BrasEq.

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava – Paraná, de acordo com a recomendação e exigências da RDC n. 12 de 2 janeiro de 2001 (ANVISA, 2001 e 2009). A metodologia de análises foi de acordo com Instrução Normativa nº. 62, de 26 de agosto de 2003 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2003), que oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água.

No laboratório, as amostras foram pesadas em uma balança semi-analítica e tiveram a fração da casca cortada com auxílio de uma faca. Foram amostradas $25 \pm 0,2$ g ao longo de seu interior até um limite de 8 mm das bordas, pesadas em placa de Petri estéreis, trituradas e adicionadas e homogeneizadas em 225 mL de água peptonada tamponada a 0,1%, para as contagens de bactérias lácticas, lipolíticas e proteolíticas.

Para contagem de bactérias lácticas e proteolíticas, 1mL de solução foi semeado em profundidade. O meio de cultivo das bactérias lácticas foi o Lactobacillus MRS Agar e das mesófilas proteolíticas em 9 – 11 mL de uma solução composta por Agar Contagem Padrão – PCA (HIMEDIA) enriquecido com 1% de leite desnatado em pó (LDR). Para o preparo, 10% da água peptonada da solução total é reservada para reconstituição do leite em pó desnatado (LDR). Ambas as soluções foram autoclavadas em frascos individuais, precisamente a uma temperatura de 121°C por 15 minutos e misturadas pouco antes do uso, em torno de 50°C (PCA10%LDR) (FRANK et al., 1992).

As bactérias mesófilas lipolíticas foram semeadas na quantidade de 0,1ml das respectivas diluições, em superfície de ágar base tributirina (HIMEDIA) adicionado de Suplemento Tributirina (HIMEDIA), com auxílio de uma alça de Drigalsky, em duplicata, conforme metodologia proposta por Freire (1996).

Todas as placas foram incubadas a 36 ± 1 °C por 48 horas e posteriormente contadas as placas que continham entre 25 e 250 colônias com halo transparentes e/ou saturação branca

no entorno da colônia, devido a lise de Caseína, no caso das proteolíticas, halos transparentes para as lipolíticas. A contagem foi total nas placas de bactérias lácticas, e em todas os resultados foram expressos em log de UFC por grama de queijo.

Os testes estatísticos foram aplicados sobre os dados obtidos a partir de placas onde as contagens foram nítidas.

Para esta análise os dados foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA), aplicado teste de Tukey, a 5% de significância e posteriormente analisados pelo programa estatístico *Sisvar* (Ferreira, 2011). Os dados foram submetidos a uma análise de variância, considerando o delineamento em blocos casualizados em esquema de parcelas subdivididas, sendo bloco: período de produção; parcela: tempo de maturação; e sub-parcela: tratamento da casca.

3 Resultados e discussão

A recomendação de Sperat-Czar (2012) é que queijos de casca, como é o caso do Colonial e Colonial Imbriago, sejam maturados a temperaturas amenas a fim de conservar sua leveza e qualidade. A Figura 17 (Anexo B) ilustra um dos queijos que foram maturados sob estas condições.

3.1 Temperatura e Umidade Relativa

Independente de o tratamento da casca só ter ocorrido ao final do terceiro mês de maturação, é na fase inicial da produção que são determinadas as principais características de um queijo, sobretudo, se este queijo terá condição de receber um tratamento em sua casca, principalmente tratando-se de um método que leve à reidratação de sua casca.

Em um trabalho de caracterização da região de origem do Formaggio Imbriago, De Nardi (2009) registrou mínimas e máximas de temperatura como médias mensais de três anos consecutivos, que confrontadas com o mês correspondente aos de produção do presente trabalho foram de 10,4 no inverno e 21,7°C no verão, com umidade relativa do ar (UR) mínima de 44 e máxima de 92% para os queijos produzidos em novembro. Para os queijos produzidos em dezembro a mínima foi de 15,2 e máximas de 26,4°C e UR de 47 e 91% de máxima. Os queijos que foram produzidos em março foram expostos a mínimas de 12,2 e

máximas de 22,9°C, com 50% de UR mínima e 91% de UR máxima. Os queijos produzidos em maio foram expostos a temperaturas mínimas de 4,1 e máximas de 11,8°C, com mínima de 59 e máxima de 92% de UR. Já os queijos produzidos em junho foram expostos às menores temperaturas sendo mínimas de 0,1 e máximas de 8,6°C, enquanto que UR de 49% mínima e máxima de 85%. Nesta região, os melhores queijos são atribuídos ao leite obtido na segunda metade da primavera (equivalente ao PP2) e ao período de outono (equivalente ao PP3), por coincidir com final de lactação e serem leites de maior percentual de gordura (SPERAT-CZAR, 2012). Para este autor, leite do início da primavera, ou quando a pastagem disponível é de baixo teor de matéria seca, o percentual de sólidos do leite é menor como consequência do alto teor de água na pastagem, que na região amostrada, ocorre tanto no início da primavera, com as pastagens perenes, como no final do outono, quando já há disponibilidade de pastejo em aveia e azevém tenros.

Nos Alpes franceses, queijos que são produzidos fora dos períodos recomendados são proibidos de serem atestados como de identidade protegida por serem produzidos com leite que descaracterizam o produto original.

3.2 Perda de peso

Não houve qualquer diferença estatística para as médias de perda de peso dos queijos quando comparados os tratamentos da casca, tanto entre os tratamentos quanto entre os tempos de maturação de cada tratamento. A explicação mais provável pode ser atribuída à colocação de tampas nos queijos, justamente com o objetivo de reduzir a desidratação, que pelos resultados, pode-se assumir como atingida.

3.3 Atividade da água

Quanto a variável A_w , não houve efeito significativo para o fator tempo de maturação (CV4,92%), quando considerados os tempos quatro (0,9161) e seis meses (0,8942), entre todos os períodos produtivos. Quando a comparação foi entre as médias dos tratamentos, o Imbriago apresentou A_w significativamente superior (0,9115) ao Colonial Tradicional (0,8988), evidenciando o possível efeito da hidratação dos queijos com a aplicação do tratamento.

3.4 Parâmetros Microbiológicos

3.4.1 Enumeração de bactérias ácido lácticas (BAL)

Para variável tratamento da casca, foram comparados os queijos produzidos em novembro, março, maio e junho, nos tempos quatro e seis meses de maturação. Os queijos Imbriago apresentaram contagem estatisticamente diferente decrescente de 6,66 e 5,38 log de UFC/gr, respectivamente aos quatro e seis meses de maturação, enquanto que no Colonial Tradicional foram estatisticamente iguais (6,06 e 5,74) aos quatro e seis meses. Isto indica que a hidratação proporcionada pelo tratamento pode ter favorecido o meio interno. Na comparação direta entre os tratamentos, a diferença só foi observada no quarto mês de maturação, sendo os queijos Imbriago com maior contagem (6,66) do que o Colonial tradicional (6,05).

Excluindo-se os dados do mês de maio, foi possível obter resultados de médias estatisticamente diferentes para os três tempos de maturação, sendo 6,37; 5,53 e 4,93, para 4, 6 e 8 meses.

3.4.2 Enumeração de bactérias mesófilas lipolíticas

Para contagem de bactérias mesófilas lipolíticas não houve diferença entre os queijos Colonial e Imbriago, tanto para os tratamentos da casca quanto entre os tempos de maturação entre e dentro dos tratamentos. Os resultados, expressos em log de UFC/gr de queijo, para meses de maturação foram de 4,56; 4,2 e 2,66 aos 4, 6 e 8 meses respectivamente na comparação das médias dos queijos produzidos em novembro, março e junho. Os resultados destes para as médias dos queijos Imbriago foi de 3,85 e o Colonial Tradicional de 3,76 log.

Para possibilitar a inclusão do mês de maio nas comparações, foram excluídos os dados do oitavo mês de maturação e assim, os resultados foram de 4,37 para quatro meses e de 3,67 log no sexto mês de maturação. Quando comparados o fator tratamento da casca, as médias do Colonial Imbriago foram de 4,35 e do Colonial Tradicional de 3,68 log de UFC/ gr de queijo.

3.4.3 Enumeração de Bactérias Mesófilas Proteolíticas

Para contagem de bactérias mesófilas proteolítica não houve diferença entre os queijos Colonial e Imbriago, tanto para os tratamentos da casca quanto entre os tempos de maturação entre e dentro dos tratamentos. Comparados os queijos produzidos em novembro, dezembro e março, que dispunham dos dados dos três meses avaliados, os resultados de médias foram respectivamente de 5,39; 5,15 e 4,65 nos tempos 4, 6 e 8 meses de maturação. Quanto aos tratamentos, a média do Imbriago foi de 4,88 e do Colonial Tradicional é de 5,25 log.

Excluindo-se os dados do oitavo mês de maturação, foi possível comparar os queijos produzidos nos meses de novembro, dezembro, maio e junho, nos tempos quatro e seis meses de maturação. As médias foram de 5,67 no quarto mês e 5,28 log no sexto mês de maturação. Para tratamento da casca, o Imbriago teve contagem de 5,33 e o Colonial Tradicional de 5,62 log.

4 Conclusões

Não houve efeito do tratamento da casca para a característica perda de peso, provavelmente em função da colocação da tampa, que efetivamente deve ter reduzido as taxas de perda de peso.

O tratamento da casca deve ter proporcionado uma reidratação do Colonial Imbriago.

A maior atividade da água pode ter favorecido o meio para que houvesse uma maior contagem das desejáveis bactérias ácido lácticas aos quatro meses de maturação.

Para contagem de bactérias mesófilas lipolíticas e proteolíticas não houve diferença entre os tratamentos, o que pode ser considerado um fator favorável na decisão por aplicar esta técnica, uma vez que estes micro-organismos podem ser deteriorantes.

5 Referências Bibliográficas

ANVISA, 2001 – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC n. 12 de 2 janeiro de 2001, alterada pela RDC nº 171, de 04 de setembro de 2006. **Regulamento Técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos.**

ANVISA, 2009 – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Queijo Colonial. Rio Grande do Sul. Guia para gerenciamento de riscos sanitários em alimentos.**

DE NARDI, S.; FURLANETTO, P. & GOGGI, B. P.A.T.I - **Regione Veneto, Provincia di Treviso. Relazione Agronomico Ambientale.** Março de 2009. <http://www.comune.paderno.tv.it/alfstreaming-servlet/streamer/resourceId/f362d86c-d87a-4df4-80f0-8f607c2ed2db/23.PDF>, acesso em 12.01.14.

DI CAGNO, R., BUCHIN, S., CANDIA, S. DE, ANGELIS, M. DE, FOX, P. F. & GOBBETTI, M. **Characterization of Italian Cheeses Ripened Under Nonconventional Conditions.** Journal of Dairy science, 90:2689-2704, 2007. <http://download.journals.elsevierhealth.com/pdfs/journals/0022-0302/PIIS0022030207700796.pdf>, acesso em 20.03.12.

FERREIRA, D. F. **Sisvar: a computer statistical analysis system.** Ciência e Agrotecnologia (UFLA), v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

FRANK, J. F. et al. (1992) **Tests for groups of microorganisms.** In: MARSHALL, R.T. (Ed.). Standard methods for the examination of dairy products. 16.ed. Washington: American Public Health Association, p.271-286.

FRANZINA, E. A grande **emigração. O êxodo dos italianos do Vêneto para o Brasil.** Editora UNICAMP, 2006. Pg 480.

FREIRE, D. M. G. **Seleção de microrganismos lipolíticos e estudo da produção de lipase por *Penicillium restrictum*.** 1996. 174p. Tese (Doutorado em Ciências) - Departamento de Bioquímica do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, 1996.

SPERAT-CZAR, A. **Os queijos de Leite Cru.** Sertão Bras., 2012. <http://media.sertaobras.org.br/livro/OsQueijosDeLeiteCruFinalWEB.pdf>, acesso em 20.09.13.

TREVISAN, P. **Caratterizzazione Del Formaggio Inbriago.** Università Deglistudi di Padova. Tesi Di Laurea in Scienze e Cultura Della Gastronomia e Della Ristorazione, 2009.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As condições de temperatura e umidade relativa do ar combinadas, foram mais propícias a produção de queijos nos períodos de março e maio.

Para perda de peso, os queijos produzidos na época mais fria, correspondentes aos períodos de maio e junho, apresentaram menores perdas até os 30 dias, o que pode ser considerado como desfavorável no caso de queijos de casca.

Para atividade da água, os queijos produzidos em novembro apresentaram uma redução para níveis de segurança microbiológica ($<0,9$) ao final do segundo mês, enquanto que nos queijos produzidos em março, maio e junho, este valor só foi atingido em seis meses de maturação.

A maior estabilidade da atividade da água ao longo dos diferentes tempos de maturação, para os queijos produzidos no março, maio e junho, podem ter proporcionado uma maturação enzimática mais lenta.

Para bactérias lácticas, quando considerada a população desejável como em maior número, os melhores queijos foram produzidos em dezembro e junho, com menor contagem inicial, indicando menor contaminação inicial.

Quanto à contagem de bactérias mesófilas lipolíticas, os queijos produzidos em novembro, maio e junho, foram iguais na data da produção, com os produzidos em novembro destacando-se, com os de maio, na redução da população destes contaminantes.

Impreterivelmente, a decisão por produzir o Colonial Imbriago depende diretamente das condições que o queijo Colonial Tradicional se encontra, uma vez que as características deste são determinadas principalmente pelas variáveis temperatura e umidade relativa nos primeiros dois meses de maturação. Logo, deve-se conhecer as características do Colonial para então decidir pelo tratamento da casca para a produção do Imbriago.

Produzir queijo é um ato de amor que demanda muita dedicação. A qualidade do queijo será um reflexo direto destas duas características.

ANEXO A – Tabelas

Tabela 01. Fluxograma da determinação das médias de temperatura e umidade relativa para cada período de produção e tempo de maturação.

Intervalo de dias para obtenção das médias em cada mês de maturação								
Produção	0 - 1	1 - 2	2 - 3	3 - 4	4 - 5	5 - 6	6 - 7	7 - 8
PP1	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun
Novembro	06/11/12	06/12/12	06/01/13	06/02/13	06/03/13	06/04/13	06/05/13	06/06/13
06/11/12	05/12/12	05/01/13	05/02/13	05/03/13	05/04/13	05/05/13	05/06/13	05/07/13
PP2	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul
Dezembro	21/12/12	21/01/13	21/02/13	21/03/13	21/04/13	21/05/13	21/06/13	21/07/13
21/12/12	20/01/13	20/02/13	20/03/13	20/04/13	20/05/13	20/06/13	20/07/13	21/08/13
Descarte	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set
Fevereiro	04/02/13	04/03/13	04/04/13	04/05/13	04/06/13	04/07/13	04/08/13	04/09/13
04/02/13	03/03/13	03/04/13	03/05/13	03/06/13	03/07/13	03/08/13	03/09/13	03/10/13
PP3	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out
Março	21/03/13	21/04/13	21/05/13	21/06/13	21/07/13	21/08/13	21/09/13	21/10/13
21/03/13	20/04/13	20/05/13	20/06/13	20/07/13	20/08/13	20/09/13	20/10/13	20/11/13
PP4	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
Maio	06/05/13	06/06/13	06/07/13	06/08/13	06/09/13	06/10/13	06/11/13	06/12/13
06/05/13	05/06/13	05/07/13	05/08/13	05/09/13	05/10/13	05/11/13	05/12/13	05/01/14
PP5	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan
Junho	21/06/13	21/07/13	21/08/13	21/09/13	21/10/13	21/11/13	21/12/13	21/01/14
21/06/13	20/07/13	20/08/13	20/09/13	20/10/13	20/11/13	20/12/13	20/01/14	20/02/14

Zero é o dia de produção, seguido de números em meses. O mês de fevereiro foi incluído pois os queijos que foram feitos antes destas datas sofreram influência das variáveis nestes períodos. Por isto o mesmo mês tem diferentes valores de médias para temperatura e umidade relativa.

Tabela 02. Médias de temperatura médias, mínimas, máximas e amplitude, para cada períodos de produção (PP) e subsequentes tempos de maturação (TM), expressos em graus celsius (°C). Novembro (PP1), Dezembro (PP2), Março (PP3), Maio (PP4) e Junho (PP5).

Produção	t°C	TM0	TM1	TM2	TM3	TM4	TM6	TM8
PP1 Novembro	média	19,37	20,65	20,46	20,53	19,14	17,03	13,52
	mínima	16,15	15,54	16,20	14,44	15,32	11,32	9,05
	máxima	25,75	28,78	27,25	30,05	25,56	26,21	20,16
	amplitude	9,60	13,24	11,05	15,61	10,23	14,89	11,11
PP2 Dezembro	média	21,64	20,43	20,28	19,03	17,51	15,02	13,63
	mínima	17,83	15,58	14,08	15,05	11,38	10,31	7,98
	máxima	28,30	28,18	29,23	25,85	27,43	22,22	21,92
	amplitude	10,47	12,59	15,15	10,80	16,05	11,91	13,94
Descartados Fevereiro	média	21,10	21,60	18,18	17,84	14,81	13,58	16,82
	mínima	14,95	15,11	14,03	11,38	9,97	9,43	11,47
	máxima	30,50	31,10	28,53	28,57	22,04	19,70	24,42
	amplitude	15,55	15,99	11,09	17,19	12,06	10,27	12,95
PP3 Março	média	17,49	17,45	16,48	13,71	14,08	14,69	20,81
	mínima	13,07	11,13	11,17	9,49	8,56	8,80	16,35
	máxima	24,03	27,69	24,85	19,86	22,22	23,10	24,60
	amplitude	10,97	16,57	13,68	10,37	13,66	14,30	8,25
PP4 Maio	média	15,45	14,35	13,18	14,35	16,11	20,81	21,30
	mínima	12,27	9,95	8,42	8,41	10,30	16,35	17,62
	máxima	18,87	21,43	20,23	22,62	24,32	24,60	26,43
	amplitude	6,60	11,47	11,81	14,20	14,01	8,25	8,81
PP5 Junho	média	10,58	13,11	14,99	16,12	18,43	20,74	20,81
	mínima	4,97	8,38	9,07	10,25	13,50	16,76	16,94
	máxima	18,63	20,19	23,29	24,51	25,46	26,42	26,12
	amplitude	13,67	11,81	14,22	14,26	11,96	9,66	9,18

Tabela 03. Médias de umidade relativa do ar médias, mínimas, máximas e amplitude, para cada períodos de produção (PP) e subsequentes tempos de maturação (TM), expressos em percentual (%). Novembro (PP1), Dezembro (PP2), Março (PP3), Maio (PP4) e Junho (PP5).

Produção	UR%	TM0	TM1	TM2	TM3	TM4	TM6	TM8
PP1 Novembro	média	87,48	78,07	85,36	74,36	87,33	79,24	87,06
	mínima	65,85	48,61	61,68	43,58	65,48	49,01	63,52
	máxima	98,15	97,08	99,13	96,57	99,04	97,29	99,12
	amplitude	32,30	48,47	37,44	52,99	33,56	48,28	35,60
PP2 Dezembro	média	85,63	82,24	72,85	86,93	78,05	85,03	77,01
	mínima	56,53	56,18	42,43	63,98	45,09	60,39	49,90
	máxima	99,23	98,44	95,73	99,13	98,17	98,10	94,89
	amplitude	42,70	42,25	53,30	35,16	53,08	37,71	44,99
Descartados Fevereiro	média	75,05	72,46	76,73	76,49	83,71	89,29	73,44
	mínima	39,30	37,76	41,77	41,46	60,04	67,41	49,50
	máxima	99,75	97,90	97,92	97,90	96,43	99,81	90,37
	amplitude	60,45	60,14	56,14	56,43	36,39	32,40	40,87
PP3 Março	média	86,50	77,06	80,13	89,26	78,36	73,56	73,24
	mínima	59,37	43,49	52,84	66,79	51,61	46,97	61,60
	máxima	100,00	97,93	96,18	99,70	95,45	92,93	89,65
	amplitude	40,63	54,45	43,35	32,91	43,84	45,96	28,05
PP4 Maio	média	95,09	87,14	85,34	72,13	72,90	73,24	80,13
	mínima	84,47	60,31	62,30	45,28	47,49	61,60	64,10
	máxima	99,67	99,61	98,25	92,15	91,65	89,65	91,23
	amplitude	15,20	39,30	35,95	46,87	44,16	28,05	27,13
PP5 Junho	média	89,94	85,00	70,91	74,12	76,87	79,63	81,38
	mínima	63,33	61,94	43,81	48,77	55,31	61,86	63,66
	máxima	100,00	98,28	91,31	92,18	91,94	91,71	92,27
	amplitude	36,67	36,34	47,50	43,42	36,63	29,85	28,61

Tabela 04. Taxa de perda de peso dos queijos produzidos em novembro (PP1), março (PP3), maio (PP4) e junho (PP5), para os tempos de maturação 1, 2, 3, 4 e 6 meses.

Tempos de Maturação	Períodos de Produção							
	(PP1) Novembro		(PP3) Março		(PP4) Maio		(PP5) Junho	
1	30,3	b A	27,2	c AB	22,5	c B	23,4	c AB
2	37,6	ab A	29,1	bc B	31,6	b AB	32,1	b AB
3	37,2	ab A	36,7	ab A	32,5	ab A	35,1	ab A
4	38,2	a A	38,3	bc A	36,5	ab A	39,0	a A
6	40,5	a A	41,9	a A	39,3	a A	39,62	a A

Delineamento experimental fatorial duplo (F1: Período de Produção, F2: Tempo de Maturação). Letras minúscula na coluna, quando iguais indicam igualdade estatística. Letras maiúsculas na linha, quando iguais, indicam igualdade estatística ao nível de 5% (Tuckey). CV= 7,12%; Valores expressos em %

Tabela 05. Atividade da água em queijos produzidos em novembro (PP1), março (PP3) e maio (PP4), nos tempos de maturação 0, 1, 2, 3, 4 e 6 meses.

Tempo de Maturação	Períodos de Produção							
	(PP1)		(PP3)		(PP4)		(PP5)	
	Novembro		Março		Maio		Junho	
0	0,996	a B	0,997	a B	1,012	a A	0,993	a B
1	0,935	b C	0,955	b B	0,963	b AB	0,974	b A
2	0,897	c C	0,948	b B	0,952	bc AB	0,961	b A
3	0,872	d C	0,909	c B	0,944	cb A	0,940	c A
4	0,847	e C	0,920	c B	0,935	d A	0,911	d B
6	0,860	de C	0,876	d B	0,894	e A	0,889	e A

Médias seguidas da mesma letra são estatisticamente iguais pelo teste de Tukey ao nível de 5%. Letras minúscula na coluna e letras maiúsculas na linha. CV = 0,81%

Tabela 06. Contagem de bactérias ácido lácticas (log) entre períodos de produção de novembro (PP1), dezembro (PP2), maio (PP4) e junho (PP5), nos tempos de maturação 0, 1, 2 e 6 meses, onde zero representa o dia de produção.

Tempo de Maturação	Períodos de Produção							
	(PP1)		(PP2)		(PP4)		(PP5)	
	Novembro		Dezembro		Maio		Junho	
0	5,33	b AB	4,30	c B	5,65	b A	5,88	b A
1	6,48	a B	8,34	a A	9,07	a A	8,94	a A
2	5,04	b B	8,53	a A	5,91	b B	8,38	a A
6	4,56	b B	5,78	b A	5,72	b A	5,57	b AB

Médias seguidas da mesma letra são estatisticamente iguais pelo teste de Tukey ao nível de 5%. Letras minúscula na coluna e letras maiúsculas na linha. Valores expressos em log; CV1=13,69% (período de produção); CV2=6,05% (tempo de maturação)

Tabela 07. Contagem de bactérias ácido lácticas entre períodos de produção de novembro (PP1), maio (PP4) e junho (PP5), nos tempos de maturação 0, 1, 2, 3, 4 e 6 meses, onde zero representa o dia de produção.

Tempo de Maturação	Períodos de Produção					
	(PP1)		(PP4)		(PP5)	
	Novembro		Maio		Junho	
0	5,33	bc A	5,65	c A	5,88	c A
1	6,48	a B	9,07	a A	8,94	a A
2	5,03	c B	5,91	c B	8,38	a A
3	7,12	ab A	6,91	b A	6,18	b A
4	5,12	c B	5,78	c AB	6,42	bc A
6	4,56	c B	5,72	c A	5,57	c AB

Médias seguidas da mesma letra são estatisticamente iguais pelo teste de Tukey ao nível de 5%. Letras minúscula na coluna e letras maiúsculas na linha. Valores expressos em log; CV1=19,42% (período de produção); CV2=6,99% (tempo de maturação)

Tabela 08. Contagem de bactérias mesófilas lipolíticas entre os períodos de produção Novembro (PP1), Março (PP3), Maio (PP4) e Junho (PP5), nos tempos de maturação (TM) 0, 1, 2, 3, 4 e 6 meses, onde zero representa o dia de produção.

Tempo de Maturação	Períodos de Produção											
	(PP1) Novembro			(PP3) Março		(PP4) Maio		(PP5) Junho				
0	4,54			NC		5,15		5,20				
1	2,80	b	C	6,33	a	A	5,42	a	AB	4,06	ab	BC
2	3,34	b	B	4,18	bc	AB	6,15	a	A	4,98	a	A
3	4,24	ab	A	6,62	a	A	5,77	a	AB	4,86	a	AB
4	5,68	ab	A	3,56	c	AB	2,61	b	B	3,61	ab	AB
6	3,15	b	A	5,74	ab	A	2,36	b	B	2,73	b	B

Médias seguidas da mesma letra são estatisticamente iguais pelo teste de Tukey ao nível de 5%. Letras minúscula na coluna e letras maiúsculas na linha. Valores expressos em log; CV1=34,03% (período de produção); CV2=23,17% (tempo de maturação). NC= Não contadas

Tabela 09. Contagem de bactérias mesófilas proteolíticas entre períodos de produção Março (PP3, Maio (PP4) e Junho (PP5), nos tempos de maturação (TM) 0, 1, 2, 3 e 6 meses, onde zero representa o dia de produção.

Tempo de Maturação	Períodos de Produção								
	(PP3) Março		(PP4) Maio		(PP5) Junho				
0	NC								
1	6,26	bc	B	4,36	c	5,64	c		
2	6,10	c	C	6,69	a	B	8,89	a	AB
3	7,58	a	A	7,41	a	B	8,59	a	A
6	7,11	ab	A	6,85	a	A	7,23	b	A
				5,70	b	B	5,53	c	B

Médias seguidas da mesma letra são estatisticamente iguais pelo teste de Tukey ao nível de 5%. Letras minúscula na coluna e letras maiúsculas na linha. Valores expressos em log; CV1=10,08% (período de produção); CV2=7,07% (tempo de maturação). NC Não contada

ANEXO B - Figuras



Figura 01. Alimentador individual para suplementação dos animais.
Fonte: Elisangela Borsoi Pereira

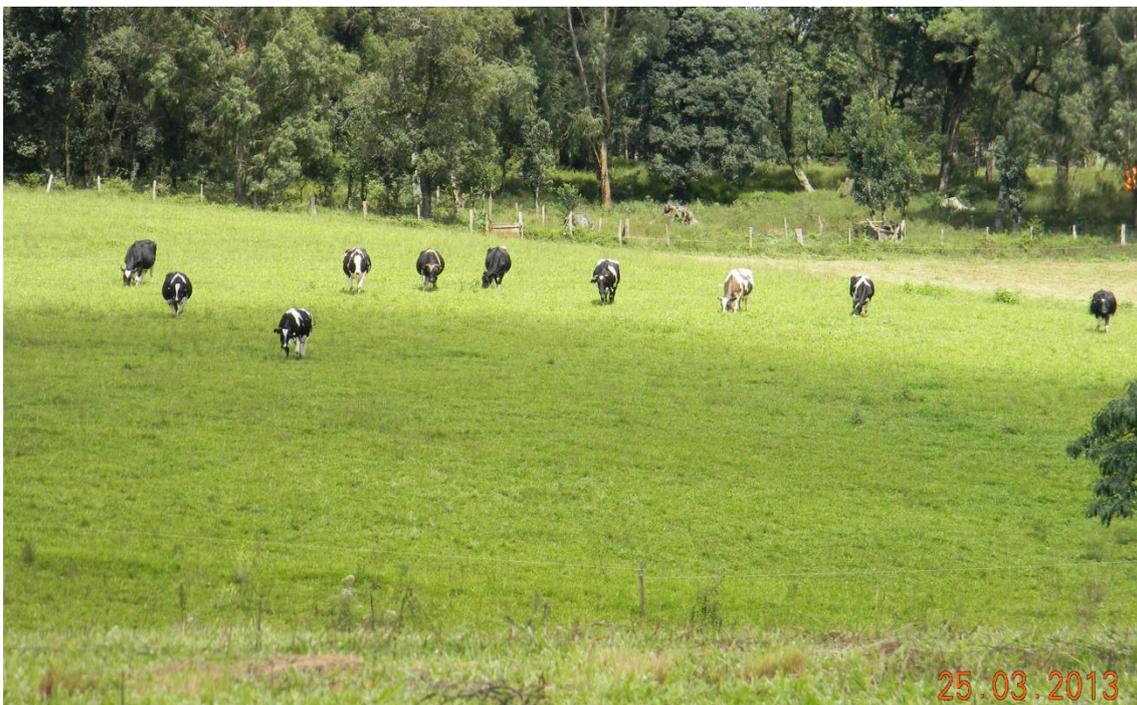


Figura 02. Animais em pastejo ao final do terceiro período produtivo, os queijos produzidos em Março.
Fonte: Elisangela Borsoi Pereira



Figura 03. *Brachiária brizantha* após geada, pastagem que deu origem ao queijo do mês de Maio ou PP4, aparentemente o melhor de todos.
Fonte: Elisângela Borsoi Pereira



Figura 04. Aveia até segundo pastejo, pastagem que deu origem aos queijos de Junho, PP5, os que apresentaram estufamento tardio.
Fonte: Elisângela Borsoi Pereira



Figura 05. Sala de ordenha com sistema de ordenha individual de dois animais simultaneamente.
Fonte: Elisangela Borsoi Pereira



Figura 06. Sala de coagulação, prensagem e salga dos queijos. A esquerda uma panela com capacidade para 113 litros equipada com um fogareiro para caso fosse necessário ajustar a temperatura do leite a 32-33°C. A direita uma prensa de madeira com capacidade sumultânea para 20 unidades. Sobre a mesa, cinco queijos na primeira fase da salga.
Fonte: Elisangela Borsoi Pereira



Figura 07. Sala de secagem equipada com prateleiras e estrados sobre estas, com balança digital e um datalogger de registro de temperatura e umidade relativa do ar.

Fonte: Elisangela Borsoi Pereira



Figura 08. Datalogger de registros de temperatura e umidade relativa do ar.

Fonte: Elisangela Borsoi Pereira

Leite Integral Cru imediatamente pós ordenha (32 – 33°C)	→	(1º dia – produção)
↓		
Filtragem do leite		
↓		
Panela de Coagulação (32-33°C)		
↓		
Adição de sal e agitação		
↓		
Adição do Coagulante e agitação		
↓	→	Descanso 45–60min.
Corte manual da coalhada		
↓		
Agitação e corte manual lento (32-33°C)		
↓	→	20 – 30 minutos
Dessora		
↓		
Enforma e prensagem manual		
↓		
Prensagem	→	(por ≈ 7h)
↓		
Viragem e prensagem	→	Até manhã seguinte (2º dia)
↓		
Pesagem, Identificação e Salga na superfície	→	(por ≈9h)
↓		
Viragem e salga na superfície	→	Até manhã seguinte (3º dia)
↓		
Lavagem de remoção do sal grosso	→	Pela manhã
↓		
Prateleiras de Secagem e Maturação	→	lavados e virados por 45 dias *
↓		
Tratamento da casca	→	Aos 3 meses
↓		
Secagem dos queijos tratados (Imbriago)	→	3 a 5 dias
↓		
Colocação das tampas		

Figura 09. Fluxograma do processo produtivo dos queijos Colonial e Colonial Imbriago.

* enquanto a casca apresentar viscosidade as lavagens são com água a 50°C, quando esta viscosidade for percebida ao toque. Findado este período as lavagens são eventuais e com água à temperatura ambiente.



Figura 10. Dois queijos feitos no mês de Novembro (PP1). O A no primeiro dia e o B no segundo dia. Percebe-se a casca bem firme e formada. A oleosidade aparente é liberada pelo próprio queijo, sendo este um dos fatores de perda de peso.

Fonte: Elisangela Borsoi Pereira



Figura 11. A esquerda um queijo produzido em Fevereiro, até então identificado como tendo sido produzido no Período três (PP3), que teve que ser todo descartado por não ter se formado a casca e ter havido deterioração e putrefação de toda partida.

Fonte: Elisangela Borsoi Pereira



Figura 12. Exemplo dos queijos que foram produzidos no mês de fevereiro, partida que teve que ser completamente descartada. Na data fixada experimentalmente estava chovendo e impossibilitou a formação da casca.

Fonte: Elisangela Borsoi Pereira



Figura 13. Queijo com exatos dez dias de produção. Evidente evolução do processo de formação da casca.

Fonte: Elisangela Borsoi Pereira



Figura 14. Prateleira de Queijos Colonial e Colonial Imbrigo tampados, na sala de envelhecimento.
Fonte: Elisangela Borsoi Pereira



Figura 15. Queijo do período de produção um (PP1) aos 30 dias de maturação (TM1) com fissuras internas típicas do Queijo Colonial.
Fonte: Elisangela Borsoi Pereira



Figura 16. Variação de temperatura média nos meses correspondentes a produção e diferentes tempos de maturação (TM) dos queijos, determinados a partir da data de produção para cada período de produção (PP). Valores expressos em °C.

Fonte: Elisângela Borsoi Pereira



Figura 17. Imagem de um queijo produzido em Maio (PP4), com três meses de maturação (TM3).

Fonte: Elisângela Borsoi Pereira



Figura 18. Queijo do período de produção cinco (PP5) aos 30 dias de maturação (TM1) com olhaduras grandes e consequente deformação do produto como consequência do característico estufamento tardio.
 Fonte: Elisangela Borsoi Pereira

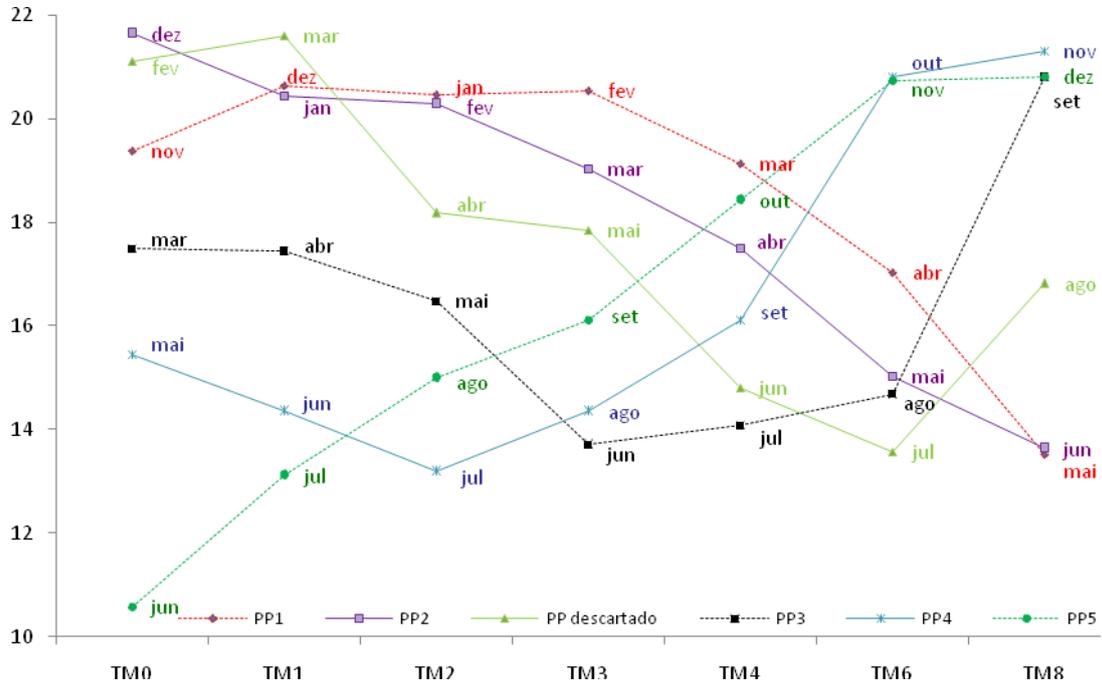


Figura 19. Variação de temperatura média nos meses correspondentes a produção e diferentes tempos de maturação (TM) dos queijos, determinados a partir da data de produção para cada período de produção (PP). Valores expressos em °C.

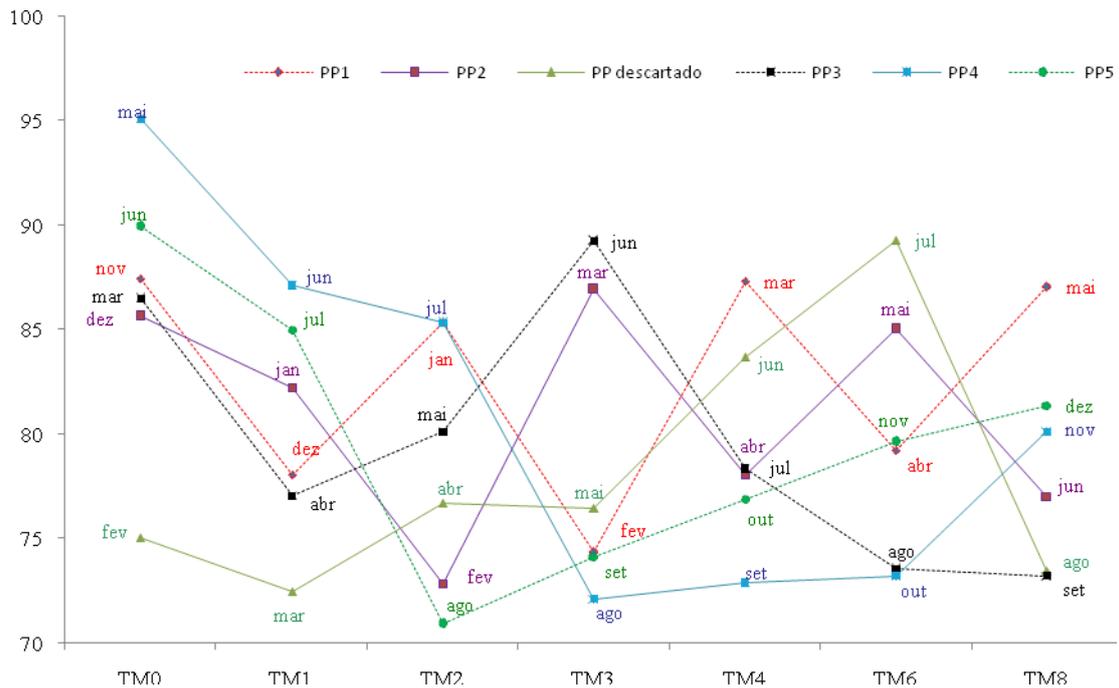


Figura 20. Variação de umidade relativa do ar média nos meses correspondentes a produção e diferentes tempos de maturação (TM) dos queijos, determinados a partir da data de produção para cada período de produção (PP). Delineamento experimental em blocos casualizados sem repetição, onde tratamento=maturação e bloco = período. Valores expressos em %

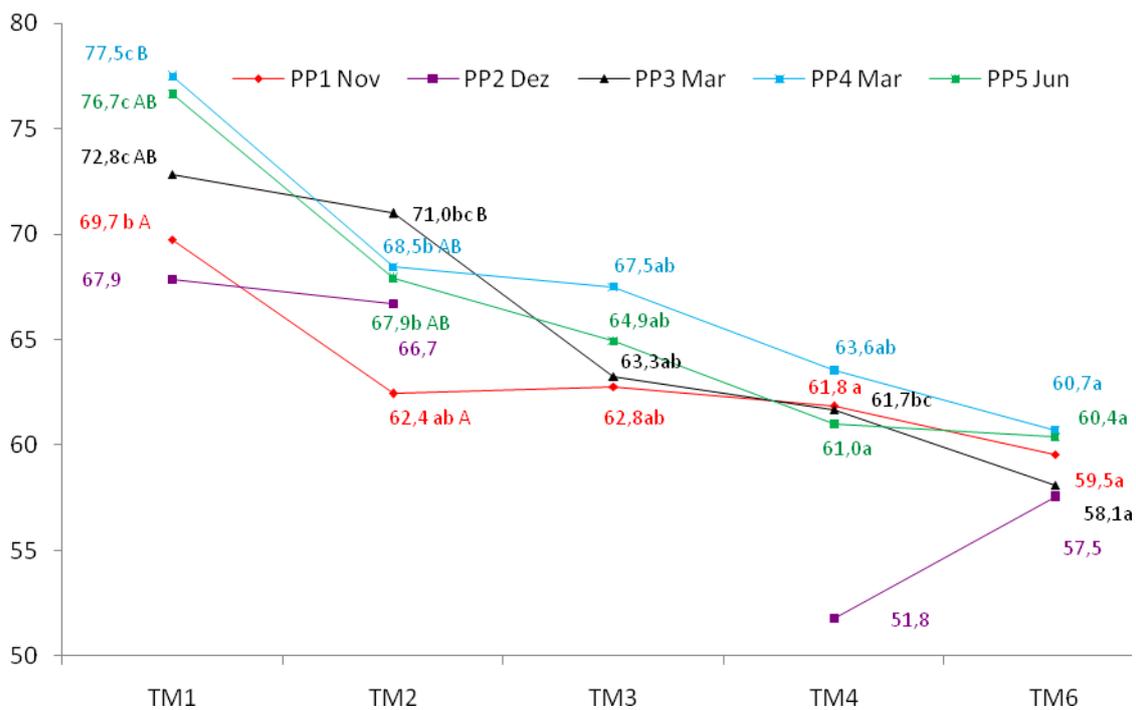


Figura 21. Evolução gradual do peso dos queijos (%) com análise dos períodos de produção (PP) 1, 3 e 5, nos tempos de maturação (TM) 1, 2, 3, 4, 6 e 8 meses, avaliados estatisticamente em função da perda de peso percentual ocorrida entre os tempos de maturação. CV= 9,25%; Valores expressos em %



Figura 22. Queijo Imbrigo produzido por Elide Lorenzetti Borsoi, com aproximadamente dois anos de maturação.

Fonte: Elisangela Borsoi Pereira



Figura 23. Queijo Imbrigo em processo de maturação pendurados no porão da casa dos Borsoi, Santa Catarina.

Fonte: Elisangela Borsoi Pereira



Figura 24. Queijo durante o processo de embriaguez (ubriacatura) realizado no projeto.
Fonte: Elisangela Borsoi Pereira



Figura 25. Local de imersão tradicional dos queijos na casca da uva residual resultante da drenagem da fermentação para o vinho.
Fonte: Elisangela Borsoi Pereira



Figura 26. Queijo Colonial Imbriago liberando gordura nos dias de temperatura ambiente mais elevada (aproximadamente 29°C).
Fonte: Elisangela Borsoi Pereira



Figura 27. Queijo Colonial Imbriago produzido em milho (PP5), com quatro meses de maturação.
Fonte: Elisangela Borsoi Pereira