



**CENTRO UNIVERSITÁRIO FACVEST – UNIFACVEST
PAULA SANTOS**

**AVALIAÇÃO DO QUEIJO PARMESÃO EMBALADO A VÁCUO
DURANTE A MATURAÇÃO: MODIFICAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS E
MICROBIOLÓGICAS**

**LAGES, SC
2019**

PAULA SANTOS

**AVALIAÇÃO DO QUEIJO PARMESÃO EMBALADO A VÁCUO
DURANTE A MATURAÇÃO: MODIFICAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS E
MICROBIOLÓGICAS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Graduação em Engenharia de Alimentos do Centro Universitário Facvest - Unifacvest, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheira de Alimentos.

Centro Universitário Facvest – Unifacvest

Supervisor: Dr^a. Nilva Regina Ulliana

**Lages, SC
2019**

PAULA SANTOS

**AVALIAÇÃO DO QUEIJO PARMESÃO EMBALADO A VÁCUO
DURANTE A MATURAÇÃO: MODIFICAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS E
MICROBIOLÓGICAS**

Este trabalho de conclusão de curso foi julgado adequado como requisito parcial para obtenção do título de Engenharia de Alimentos e aprovado em sua forma final pelo Supervisor Pedagógico do Curso de Engenharia de Alimentos, do Centro Universitário Facvest – Unifacvest.

**Professor e Orientador Dr^a Nilva Regina Uliana
Centro Universitário Facvest – Unifacvest**

**Professor e Coorientador Dr^a Priscila Missio da Silva
Centro Universitário Facvest – Unifacvest**

Lages, SC, 19 de junho de 2019.

RESUMO

O queijo Parmesão é produzido com leite de boa qualidade, que passa por um processo de padronização da gordura e pasteurização. Estes fatores contribuem com o aroma e sabor, características do queijo Parmesão. Com as mudanças que ocorre no queijo Parmesão, durante a maturação, podem ser avaliadas por análises físico-químicas e microbiológicas e com uma inovação no processo de maturação do queijo Parmesão em embalagem plástica permeável a vácuo. Este estudo teve por objetivo efetuar a caracterização físico-química e microbiológica do leite e do queijo Parmesão maturando com embalagem a vácuo, de três lotes, realizando as análises da matéria-prima e do queijo, mês a mês, até finalizar os seis meses de maturação. De acordo com o estudo desenvolvido os resultados estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento estavam dentro das características para consumo dos produtos comercializados no Brasil.

Palavras-chave: Queijo Parmesão. Maturação. Embalagem a vácuo.

ABSTRACT

Parmesan cheese is produced with good quality milk, through the process of fat standardization and pasteurization. These factors contribute to the aroma, flavor characteristics of Parmesan cheese. With the changes that occur in Parmesan cheese during maturation can be evaluated by physical-chemical and microbiological analyzes and with an innovation in the process of maturation of Parmesan cheese in vacuum-permeable plastic packaging. The objective of this study was to carry out the physical-chemical and microbiological characterization of the milk and Parmesan cheese, using vacuum packaging of three lots, performing the analysis of the raw material and the cheese from month to month until the six months of maturation. According to the study, the results established by the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply were within the characteristics for consumption of the products marketed in Brazil.

Keyword: Parmesan cheese. Maturation. Vacuum packaging.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Fluxograma da produção do queijo parmesão	31
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características físicas, químicas e microbiológicas do leite cru refrigerado.....	10
Tabela 2 - Resultados das análises microbiológicas e físico do leite cru refrigerado para a produção do queijo Q1:.....	32
Tabela 3 - Resultados das análises microbiológicas e físico do leite cru refrigerado para a produção do queijo Q2:.....	33
Tabela 4 - Resultados das análises microbiológicas e físico do leite cru refrigerado para a produção do queijo Q3:.....	33
Tabela 5 – Análises do leite semidesnatado e pasteurizado para a fabricação do queijo Q1:..	35
Tabela 6 – Análises do leite semidesnatado e pasteurizado para a fabricação do queijo Q2:..	35
Tabela 7 – Análises do leite semidesnatado e pasteurizado para a fabricação do queijo Q3:..	36
Tabela 8 – Mudanças microbiológicas e físico-químicas do queijo Parmesão Q1 embalado a vácuo no período durante a maturação:.....	37
Tabela 9 – Mudanças microbiológicas e físico-químicas do queijo Parmesão Q1 embalado a vácuo no período durante a maturação:	38
Tabela 10 – Mudanças microbiológicas e físico-químicas do queijo Parmesão Q3 embalado a vácuo no período durante a maturação:	39

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	6
2. OBJETIVOS	8
2.1. Objetivo geral	8
2.2. Objetivos específicos	8
3. REVISÃO BIBLIOGRAFICA	9
3.1. Leite	9
3.1.1. Qualidade do leite	9
3.2. Queijo	11
3.2.1. Definição.....	11
3.2.2. Origem do queijo	11
3.2.3. Classificação dos queijos	12
3.2.4. O queijo Parmesão	13
3.2.5. Características físico-químicas, microbiológicas do queijo Parmesão	13
3.3. Etapas da Produção do Queijo Parmesão	14
3.3.1. Fabricação do queijo Parmesão	14
3.4. Maturação	17
3.5. Embalagem a Vácuo	18
4. MATERIAIS E MÉTODOS	20
4.1. Determinação do Fluxograma de Produção	20
4.2. Análises para Recebimento do Leite Cru Refrigerado	20
4.2.1. Análises Físico-químicas	20
4.2.2. Análises de microrganismos	24
4.3. Leite Semidesnatado Pasteurizado	25
4.3.1. Análises Microbiológicas.....	25
4.3.2. Análises Físico-químicas	27
4.4. Queijo Parmesão	27
4.4.1. Análises Físico-químicas	27
4.4.2. Análises de microrganismos	28
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	30
5.1. Fluxograma de Fabricação do Queijo Parmesão	30
6. CONCLUSÃO	41

7. REFERENCIAS	42
8. ANEXO.....	46

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Queijos, regulamentado pela Portaria 146 de 1996 define queijo como sendo o produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos coagulados pela ação física do coalho, de enzimas específicas, de bactéria específica, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e, ou especiarias e, ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes (BRASIL, 1996).

O queijo é um concentrado lácteo constituído de proteínas, lipídios, carboidratos, sais minerais, cálcio, fósforo e vitaminas, principalmente A e B, e é considerado um dos alimentos mais nutritivos que se conhece (PERRY, 2003). É um produto fresco ou maturado, obtido por separação parcial do soro após a coagulação do leite (ou soro), pela ação física do coalho, de enzimas e bactérias específicas, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados (BRASIL, 1996).

No Brasil, parte da produção leiteira é direcionada aos laticínios para a fabricação de queijos. Em 2008 foram produzidas 668 mil toneladas de queijos, sendo 32 mil toneladas de queijo Parmesão (ABIQ, 2010). Do consumo per capita de queijos, de aproximadamente 3 kg por ano (IBGE, 2006), 32,04% é de Mussarela, 9,61% de Prato, 7,96% de Minas e 5,64% de Parmesão. Este produto é o primeiro dentre as variedades de queijos especiais mais consumidos, podendo ser comercializado sob formas íntegras e fracionadas; entretanto, é geralmente consumido pela população na forma ralada.

O queijo Parmesão pode ser fabricado com leite in natura ou pasteurizado e/ou reconstituído padronizado (BRASIL, 1997). É um queijo semigordo, apresenta baixo teor de umidade, consistência dura, textura compacta e granulosa, com crosta espessa de 4 a 8 mm, lisa e cor amarelo-palha. É um queijo ligeiramente picante e salgado, com odor suave e agradável; apresenta forma cilíndrica e peso oscilando entre 5 e 10 kg. A temperatura de armazenamento não deve exceder 18 °C e deve ser maturado por cerca de seis meses (BRASIL, 1997). O rendimento da fabricação é em torno de 13 kg de leite.kg⁻¹ de queijo após sua completa maturação (PERRY, 2004).

Para a fermentação, utilizam-se bactérias ácido-láticas termofílicas, geralmente compostas por *Lactobacillus helveticus* e *Streptococcus thermophilus*, sendo a coagulação da massa realizada à temperatura de 35 °C (McSWEENEY, 2004; FURTADO, 2005). Esta temperatura propicia o desenvolvimento das células lácticas (KENNY; FITZGERALD; CUINN; BERESFORD; JORDAN, 2003; MARILLEY; CASEY, 2004) e mantém ativo o complexo enzimático endógeno (LORTAL; CHAPOT-CHARTIER, 2005; KELLY; FOX, 2006). As enzimas microbianas atuam, incisivamente, sobre o carboidrato, a gordura e as proteínas presentes no leite, potencializando os atributos sensoriais de textura, aroma e sabor, típicos desse produto. Além disso, as bactérias ácido lácticas são capazes de competir ou inibir a proliferação de patógenos e micro-organismos oportunistas (OGUNBANWO; SANNI; ONILUDE, 2003; BROMBERG; MORENO; ZAGANINI; DELBONI; OLIVEIRA, 2004), auxiliando na estabilidade físico-química desse produto.

Nas indústrias de laticínios, a contaminação do queijo pode ocorrer por vários fatores, dentre eles, matéria-prima de má qualidade, instalação e equipamentos mal higienizados, manipulação inadequada e condições de armazenamento deficientes.

Nesse contexto, conhecer os efeitos da maturação em queijos Parmesão sobre os microrganismos e mudanças físico-químicas é de suma importância para que melhorias na qualidade sejam alcançadas, garantindo segurança ao consumidor e garantindo que o produto esteja dentro de todas as normativas.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

- Avaliar as modificações físico-químicas e microbiológicas ocorridas durante a maturação de queijo Parmesão embalado a vácuo.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar a qualidade da matéria-prima (leite cru refrigerado) utilizada para fabricação do queijo Parmesão, através das análises físico-químicas e microbiológicas;
- Avaliar o processo de pasteurização do leite, através das análises físico-químico e microbiológicas;
- Registrar a temperatura e teor de umidade da câmara de maturação durante o período do estudo;
- Acompanhar a maturação do queijo Parmesão embalado a vácuo por um período de 6 meses;
- Verificar as alterações físico-químicas de umidade, concentração de sal, gordura e pH que ocorrem durante a maturação do queijo Parmesão;
- Verificar as modificações microbiológicas quanto a contagem de coliformes a 35°C e 45°C, *Salmonella*, *Staphylococcus coagulase positiva* e crescimento de bolores e leveduras, durante a maturação do queijo Parmesão.

3. REVISÃO BIBLIOGRAFICA

3.1. Leite

Segundo definição do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), através da Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011 (IN62/2011): “entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite de outros animais deve denominar-se segundo a espécie de que proceda”.

Ordóñez (2005, p. 13) define o leite do ponto de vista biológico, como o produto da secreção das glândulas mamárias de fêmeas mamíferas, cuja função natural é a alimentação dos recém-nascidos. Já do ponto de vista físico-químico, o leite é uma mistura homogênea de grande número de substâncias, das quais algumas estão em emulsão, algumas em suspensão e outras em dissolução verdadeira.

No mundo, várias espécies pecuárias são utilizadas na produção leiteira, onde se destacam a ovelha, a cabra e a búfala. Porém a maior parte do leite produzido é proveniente de vaca. O leite pode ser utilizado basicamente para dois fins: a alimentação em forma líquida, leite “in natura”, ou como matéria-prima, servindo como base para a produção de diversos produtos lácteos (VALSECHI, 2001).

O leite é um produto de grande importância na alimentação, devido ao seu alto valor nutritivo. É rico em proteínas, gordura, lactose, minerais, água e sólidos totais, porém sua composição pode variar de acordo com a espécie, raça, alimentação e alguns outros fatores (BRASIL, 2011).

3.1.1. Qualidade do leite

A grande variedade e alta qualidade dos nutrientes presentes no leite, o torna um alimento de extremo valor na dieta humana, mas, pela mesma razão, constitui excelente substrato para o crescimento de grande diversidade de microrganismos (ORDÓÑEZ, 2005, p. 41).

De acordo com Ordóñez (2005, p. 41) a atividade de alguns microrganismos que contaminam o leite é considerada benéfica para o homem, pois participam ativamente das mudanças físicas, químicas e sensoriais que ocorrem no leite ao se preparar os produtos lácteos por eles consumidos. Porém, a atividade microbiana incontrolada é prejudicial e leva à

alteração do produto, tornando-o inadequado para o consumo. Em outros casos, os microrganismos patogênicos presentes no leite podem causar graves problemas à saúde humana.

O leite, mesmo o que procede de animais saudáveis, sempre contém uma série de microrganismos, porém essa taxa pode variar de acordo com as medidas higiênicas que foram adotadas na ordenha, e no armazenamento. Os microrganismos presentes no leite cru decorrem de três fontes principais: o interior do úbere, o exterior do úbere e os equipamentos e utensílios utilizados em laticínios (ORDÓÑEZ, 2005, p. 41).

Segundo Jay (2005, p. 137) destaca que os microrganismos presentes no leite cru de vaca são os mesmos encontrados no úbere e na pele desse animal, nos utensílios da ordenha ou nas tubulações da coleta. Sob-boas condições de manuseio e conservação, a microbiota predominante é Gram-positiva.

A contagem de microrganismos deve atender aos padrões estabelecidos pela legislação vigente, não ultrapassando os requisitos máximos estabelecidos pela IN62/2011 (Tabela 1) (BRASIL, 2011a).

Tabela 1 - Características físicas, químicas e microbiológicas do leite cru refrigerado.

Requisitos	Limites
Gordura (g/100g)	Teor original, com o mínimo de 3,0
Acidez (g ácido Láctico / 100mL)	0,14 a 0,18
Densidade Relativa a 15 / 15 °C g/mL	1,028 a 1,034
Extrato seco desengordurado (g/100g)	Mínimo de 8,4
Índice Crioscópico	- 0,530 °H a -0,550 °H (equivalentes a -0,512 °C e a - 0,531 °C)
Proteína (g/100g)	Mínimo 2,9
Contagem Padrão em Placas (UFC/mL)	Máximo $6,0 \times 10^5$ UFC/mL
Contagem de Células Somáticas (CCS)	Máximo $6,0 \times 10^5$ CS/mL

UFC/mL = Unidade Formadora de Colônia por mililitro; CS/mL = Células somáticas por mililitro; °H = graus Hortvet;

Fonte: Brasil (2011).

3.2. Queijo

3.2.1. Definição

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) define queijo como o produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, de enzimas específicas, de bactéria específica, de ácido orgânico, isolado ou combinado, todos de qualidade apta para consumo alimentar, com ou sem agregação de substâncias aromatizantes e matérias corantes. A denominação queijo está reservada aos produtos em que a base láctea não contenha gordura e/ou proteínas de origem não láctea (BRASIL, 1996).

3.2.2. Origem do queijo

Há várias teorias sobre o surgimento do queijo, não se tem uma certeza de onde e quem foi o responsável por cria-lo. Várias referências falam sobre este alimento desde 8.000 A.C., muitos citam a Mesopotâmia, porém não é possível definir o local. O queijo pode ter aparecido em diversas partes do mundo simultaneamente, já que diferentes povos domesticavam animais mamíferos (CAVALCANTE. 2004).

A descoberta do coalho, enzima digestiva, extraída do estômago dos cabritos e terneiros, responsável por uma importante fase na fabricação do queijo, possui uma teoria que remete a milhares de anos antes de Cristo, quando o legendário mercador viajante da Arábia, atravessando uma agreste área montanhosa da Ásia, já cansado e após uma áspera subida sob o sol forte, fez uma pausa para restaurar suas forças e se alimentar. Tinha trazido com alimento tâmaras secas e, um cantil feito de estômago seco de carneiro, certa quantidade de leite de cabra. Mas, quando ele levou aos lábios o cantil de beber, apenas um líquido fino e aquoso escorreu do seu interior. Curioso, o mercado cortou o cantil, e viu, para sua surpresa, que o leite tinha se transformado em uma coalhada branca, não muito desagradável ao paladar de um homem faminto. O coalho existente no estômago parcialmente seco do carneiro havia coagulado o leite, e o resultado desta operação química teria sido o queijo (CAVALCANTE, 2004).

Na Europa os gregos teriam sido os primeiros a produzi-los a partir do leite de cabras e ovelhas e incorporá-los no cardápio. Os romanos foram responsáveis por sua difusão através

da expansão de seu império. Na idade média, certos mosteiros se esmeraram na fabricação de queijos com rígidos padrões sanitários. A migração geográfica da prática de fabricação de queijos originou novos modos de produção e, novas variedades de queijos, resultando das diferenças climáticas e variedades do terreno. Com o advento das feiras e mercados do século XIV e XV, o consumo se disseminou, introduzindo no comércio os queijos produzidos por camponeses. Mas, foi no século XIX que o comércio se disseminou com a produção industrial do produto. O processo de pasteurização foi fundamental para essa etapa (CHALITA; SILVA; PETTI; SILVA. 2009).

Ao longo da história, a França foi o país que mais se dedicou à fabricação e ao consumo de queijo. Ela permanece como um dos principais países produtores do mundo, ao lado de Itália, Dinamarca, Alemanha, Suíça e Inglaterra. A autenticidade de cada produto é garantida pela regulamentação própria que cada país possui, para que seus queijos sejam mundialmente reconhecidos (CAVALCANTE, 2004).

3.2.3. Classificação dos queijos

De acordo com a legislação (Brasil, 1996), os queijos podem ser classificados:

a) Quando ao teor de gordura no extrato seco (GES):

- Extra Gordo ou Duplo Creme: quando contenham o mínimo de 60%

- Gordos: quando contenham entre 45,0 e 59,9%.

- Semigordo: quando contenham entre 25,0 e 44,9%.

- Magros: quando contenham entre 10,0 e 24,9%. - Desnatados: quando contenham menos de 10,0%.

b) Quanto ao teor de umidade:

- Queijos de baixa umidade (geralmente conhecidos como queijos de massa dura): umidade até 35,9%.

- Queijos de média umidade (geralmente conhecidos como queijos de massa semidura): umidade entre 36,0% e 45,9%.

- Queijos de alta umidade (geralmente conhecidos como de massa branda ou "macios"): umidade entre 46,0 e 54,9%.

- Queijos de muito alta umidade (geralmente conhecidos como de massa branda ou "mole"): umidade não inferior a 55,0%.

c) Quando submetidos ou não a tratamento térmico, logo após a fermentação, os queijos de muito alta umidade se classificarão em:

- Queijos de muito alta umidade tratados termicamente.
- Queijos de muito alta umidade.

Abreu (2005) classifica os queijos quanto à maturação

a) Queijo fresco: o que está pronto para o consumo logo após a sua fabricação;

b) Queijo maturado: aquele que sofre as trocas bioquímicas e físicas necessárias às características da variedade do queijo.

3.2.4. O queijo Parmesão

Diversos são os tipos de queijos produzidos e consumidos no Brasil e dentre esses se destaca o queijo tipo parmesão. Este derivado de origem italiana é um dos queijos mais populares do Brasil. É classificado como um queijo de baixa umidade, semi-gordo, de massa pré-cozida e prensada. Possui consistência dura e textura compacta, granulosa, com crosta firme, lisa e pode ser fabricado com leite pasteurizado e/ou reconstituído padronizado ou leite cru (PERRY, 2004).

O Parmesão, sob seu nome original Parmigiano Reggiano ou Grana Padano, vem sendo feito há vários séculos na região da Lombardia, no norte da Itália, basicamente pela mesma tecnologia, utilizando leite cru. Devido a sucessivas ondas migratórias de italianos para distintas partes do mundo, o processo de elaboração foi se espalhando através das colônias que se estabeleciam em vários países, e com culturas locais que terminavam por absorver a cultura dos imigrados, no seio da qual estavam os costumes culinários, nos quais o Parmesão sempre desempenhou um papel muito importante (FURTADO, 2011).

3.2.5. Características físico-químicas, microbiológicas do queijo Parmesão

No Brasil o queijo parmesão apresenta consistência dura, textura compacta e granulosa, crosta espessa de 4 a 8 mm, lisa e cor amarelo-palha, forma cilíndrica e peso de 5 e 10 kg. A temperatura de maturação não deve exceder a 18°C, e deve ser maturado por no mínimo 6 meses (BRASIL, 1997). Furtado (2005) menciona que o queijo parmesão maturado deve conter 1,3- 2% de sal e pH entre 5,4 a 5,6.

De acordo com a legislação (BRASIL, 1996), o queijo Parmesão é um queijo semigordo e de massa dura, após a maturação o queijo deve apresentar até 35,9% de umidade, e a gordura de 25 a 44,9%.

O queijo parmesão pronto para consumo, segundo a legislação brasileira, deve apresentar no máximo 5×10^2 NMP.g⁻¹ de coliformes a 45 °C, 10^3 UFC.g⁻¹ de *Staphylococcus coagulase* positiva e ausência de *Salmonella* SP em 25g de amostra (BRASIL, 1996).

Em virtude de sua composição, com elevado conteúdo de proteínas, lipídios, carboidratos, sais minerais, cálcio, fósforo e vitaminas, é um alimento bastante nutritivo, mas torna-se também, se contaminado, uma fonte potencial para microrganismos deteriorantes e patogênicos que são provenientes da matéria-prima ou podem ser adquiridos no processamento do produto (PERRY, 2004). Ainda, por ter em sua composição nutrientes de alto valor biológico, este se torna susceptível à multiplicação microbiana, sendo, portanto, um veículo frequente de microrganismos patogênicos que podem causar infecções e intoxicações alimentares (MIRANDA, 2008).

3.3.Etapas da Produção do Queijo Parmesão

3.3.1. Fabricação do queijo Parmesão

A fabricação de queijo começa com a seleção microbiológica e físico-química do leite. É essencial que o leite seja livre de antibióticos e quanto melhor a qualidade microbiológica, maior será a chance de sucesso na fabricação do queijo, portanto, um leite de qualidade superior deve ser utilizado. (PAULA; CARVALHO; FURTADO, 2009).

A fabricação de queijo a partir da pasteurização do leite para a fabricação de queijos pode ser realizada pelo processo rápido em trocadores de calor a placas, High Temperature and Short Time, ou seja, alta temperatura e curto tempo. (72 a 75°C por 15 segundos), ou pelo processo lento, Low Temperature Long Time, ou seja, temperatura baixa tempo longo (65°C por 30 min). A pasteurização tem como objetivo aumentar a segurança alimentar eliminando bactérias patogênicas e diminuindo o número de bactérias deterioradoras do leite. Com este tratamento térmico modifica a microbiota do queijo facilitando a fabricação com maior uniformidade (PAULA; CARVALHO; FURTADO. 2009).

Na tecnologia de produção de queijos são vários os aspectos a serem analisados para se adquirir um produto de boa qualidade e um melhor aproveitamento da matéria-prima,

dentre eles destacam-se: coagulação, acidificação, dessoramento do grão (sinérese), enformagem e salga e maturação.

O leite passa por uma coagulação enzimática que envolve modificação da micela de caseína pela proteólise limitada (quebra da ligação peptídica Phe₁₀₅ – Met₁₀₆) provocada pelas enzimas do coalho ou de coagulantes, seguida pela agregação, induzida pelo cálcio, dessas micelas alteradas. A formação da coalhada tem uma aparência de um gel, onde o volume do leite ocupa o mesmo empregado no processo. O coalho é adicionado ao leite em temperatura de 32-35°C ocorre a coagulação em 30 a 40 minutos. A dose de coalho ou coagulante podendo ser usado na forma líquida ou em pó, desde que diluído em água não-clorada e adicionado lentamente ao leite sob agitação (FOX e MCSWEENEY, 1998); (WALSTRA; GEURTS; NOOMEN; JELEMA; VAN BOEKEL. 1999); (FOX; GUINEE; COGAN; McSWEENEY. 2000).

A temperatura de coagulação depende do fermento e das enzimas do coalho. O fermento lácteo mais usado na fabricação de queijos é o mesofílico, que se desenvolvem a uma temperatura de 20 a 25°C, as enzimas do coalho, que são responsáveis pela coagulação do leite, atuam em temperatura de 40 a 42°C (PAULA; CARVALHO; FURTADO. 2009).

Após a coagulação a rede de coalhada continua sua formação por um tempo considerável após a obtenção de um gel visível, mesmo após o corte. A força do gel formado é muito importante do ponto de vista de sinérese e, que ocorre a saída do soro, conseqüentemente, para o controle de umidade e rendimento da fabricação (FOX, MCSWEENEY, 1998; WALSTRA; GEURTS; NOOMEN; JELEMA; VAN BOEKEL. 1999).

Quando o leite é aquecido excessivamente a sinérese da coalhada é prejudicada. Tal redução na sinérese é desejável somente em produtos fermentados como o iogurte (FOX e MCSWEENEY, 1998).

A função primária da cultura “starter” é a produção de ácido que é crucial para a fabricação do queijo Parmesão. O pH da massa cai para próximo de 5,0 em um espaço de tempo entre 5 e 20 horas, dependendo da variedade do queijo a ser fabricado. A acidificação é proporcionada pela fermentação da lactose em ácido láctico pelas bactérias lácticas adicionadas ao leite ou pela acidificação direta com adição de ácido láctico em alguns casos (PAULA; CARVALHO; FURTADO. 2009). O uso de soro-fermento constitui um dos meios mais tradicionais para incorporação de bactérias lácticas no processo de fabricação e é muito

utilizado para a produção de queijos duros na Itália. O soro da própria fabricação do queijo Parmesão é retirado após o processo de cozimento da massa, com temperaturas elevadas (entre 55 e 57°C) e deixado fermentar até o dia seguinte onde será utilizado para a fabricação do dia, sua acidez pode atingir valores médios de 140 a 180°D sendo, portanto, um exemplo prático da seleção térmica natural de bactérias lácticas do próprio leite (ROBINSON, 2002).

O fermento utilizado na fabricação do queijo Parmesão normalmente é composto por *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*, *Lactobacillus helveticus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* que são bactérias lácticas indicadas para queijos de massa cozida, ou semi-cozida (ROBINSON, 2002).

A produção de ácido desempenha vários papéis na fabricação de queijos tais como: controla e previne o crescimento de bactérias deterioradoras e patogênicas; afeta retenção e a atividade do coagulante durante a coagulação; solubiliza fosfato de cálcio afetando, portanto, a textura do queijo; promove sinérese e conseqüentemente influencia a composição do queijo e também a atividade de enzimas durante a maturação. A cultura “starter” primária desempenha várias funções além da produção de ácido no queijo, principalmente com relação ao abaixamento do potencial redox que passa de +250 mV no leite, para -150 mV no queijo. Essa modificação é essencial para o desenvolvimento bioquímico da maturação de um queijo. Várias espécies de bactérias lácticas são capazes de produzir bacteriocinas que controlam o crescimento de outras bactérias contaminantes e com isso exercem uma proteção muito eficiente durante e após a fabricação dos queijos no tanque (WALSTRA; GEURTS; NOOMEN; JELEMA; VAN BOEKEL. 1999).

Quando o ponto final da fabricação no tanque é obtido, isto é, a massa é separada do soro e colocada em formas de tamanho e formatos específicos para que ocorra a drenagem do soro entre os grãos e se forme uma massa contínua e homogênea. Os queijos de baixa umidade precisam sofrer a etapa de prensagem com pesos variados dependendo da categoria. Os queijos são fabricados em formatos e tamanhos variando de 250g até 60-80 kg. O tamanho do queijo não é somente uma questão de estética, mas também um requerimento para a obtenção de determinadas características. (FOX e MCSWEENEY, 1998).

A salga destaca-se por sua grande importância, uma vez que o sal (NaCl) possui várias funções nos queijos, tais como: sabor, controle do desenvolvimento microbiano, regulação dos processos bioquímicos (enzimas) e físico-químicos, durabilidade. A salga tem ampla influência na etapa final da fabricação que é a maturação, uma vez que, se não for bem

conduzida, pode afetar seriamente a atividade microbiológica e enzimática de um queijo e ser a causa de diversos defeitos nos mesmos. Os métodos mais comuns de salga são: no leite, na massa, em salmoura e a seco. O teor médio de sal na maioria dos queijos varia de 0,5 a 2,5%. Em alguns casos. Independentemente do tipo de salga empregado, o sal utilizado deve sempre apresentar boa qualidade físico-química e microbiológica (COSTA; LOBATO; MAGALHÃES. 2004).

3.4. Maturação

A maturação consiste em uma série de processos físicos, bioquímicos e microbiológicos que ocorre em todos os queijos, exceto aqueles que são consumidos frescos. Estes processos alteram a composição química dos queijos, principalmente no que tange a seu conteúdo em açúcares, proteínas e lipídeos. O tempo de maturação varia para cada tipo e é neste processo que se desenvolvem as características sensoriais e de textura, características de cada um deles (PERRY, 2004). Durante a maturação, é possível haver a produção de substâncias conhecidas como bacteriocinas, capazes de competir com bactérias patogênicas e/ou inibir seu crescimento (DORES, 2007; NASCIMENTO; MORENO; KAUYE, 2009).

Através dos processos físicos, bioquímicos e microbiológicos vão se acumulando várias substâncias que contribuem para o sabor e aroma (aldeídos, cetonas, ácidos graxos livres, peptídeos, etc.) (ORDONEZ, 2005).

O principal processo ocorrido na maturação, especialmente dos queijos duros, é a degradação das proteínas ou proteólise. Esta é efetuada pelos sistemas enzimáticos do coalho e é fator preponderante para a qualidade do queijo, sobretudo nos aspectos sabor e consistência. Em queijos cuja massa é cozida em altas temperaturas como nos de massa escaldada como o Parmesão, a plasmina é a principal enzima proteolítica. Em queijos semi-duros, ocorrem dois processos simultâneos de maturação: um, o usual, ocorre no interior da massa, onde as ligações peptídicas das proteínas são quebradas, liberando peptídeos pequenos e aminoácidos; o outro ocorre na casca onde as proteínas podem ser degradadas até a formação de amônia (PERRY, 2004).

De acordo com Beresford e Williams (2004), a microbiota associada com a maturação dos queijos é extremamente diversa, podendo ser dividida em dois grupos: as bactérias ácido-láticas *starters* e a microbiota secundária. As bactérias do grupo *starter* são responsáveis pela produção de ácido durante a fabricação, mas também apresentam papel

importante na maturação, já que suas enzimas estão envolvidas nos processos de proteólise e lipólise e na conversão de aminoácidos em compostos de sabor e aroma. A microbiota secundária não apresenta papel importante na fabricação, no entanto, está envolvida com as bactérias *starters* na maturação. *Lactococcus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* e *Lactobacillus helveticus* são alguns exemplos de bactérias *starters*. As bactérias da microbiota secundária são divididas em grupos em grupos primários: 1) bactérias ácido-láticas não-*starters*, que consistem em gêneros de *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Enterococcus* e *Leuconostoc*; 2) bactérias propiônicas; 3) mofo e leveduras, que se desenvolvem na superfície de alguns queijos maturados.

Embora a maturação esteja longe de ser um processo completamente entendido, já se sabe que a glicólise é efetuada integralmente pela microbiota láctica iniciadora, enquanto a lipólise e a proteólise requerem a participação também da microbiota secundária para se completarem (PERRY, 2004).

3.5. Embalagem a Vácuo

A embalagem a vácuo, com baixa permeabilidade ao oxigênio, é uma técnica utilizada para aumentar a vida útil de alimentos perecíveis.

As principais funções da embalagem são: proteger o produto de possíveis contaminações, evitar danos ou degradação, identificar: o conteúdo, o fabricante e o padrão de qualidade do produto, induzir o consumidor a adquirir o produto, facilitar o transporte e a distribuição, instruir o consumidor para utilização no prazo de validade (LAUTENSCHÄGER, 2001; BRODY; BUGUSU; HAN; SAND; McHUGH, 2008).

A embalagem à vácuo foi a primeira forma de modificação da atmosfera interior da embalagem desenvolvida comercialmente, sendo amplamente empregada para produtos como cortes de carnes vermelhas frescas, queijos duros e café torrado e moído (PARRY, 1993). Um sistema de embalagem a vácuo pode ser alcançado acondicionando o alimento em um material plástico flexível de alta barreira aos gases em que se aplica o vácuo e realiza-se a termosselagem. Este procedimento tem o objetivo de reduzir a pressão gasosa residual de $1,0 \times 10^5$ para $3,0 \times 10^4$ Pascal e, então, grande parte do oxigênio é removido (pressão final de aproximadamente 0,03 atm). Quando produtos alimentícios são acondicionados à vácuo, ocorre o aumento do volume de gás carbônico como resultado da respiração celular e

microbiana em que o oxigênio residual é consumido e o gás carbônico é liberado na mesma proporção (JAY, 2000).

Na embalagem à vácuo o ar é removido para prevenir o crescimento de organismos deteriorantes, a oxidação e a descoloração do produto. Sob estas condições, o oxigênio residual é utilizado pela microbiota aeróbica residente produzindo gás carbônico e fazendo com que o potencial redox tenda a ficar negativo. Esta mudança no potencial redox e na composição da atmosfera reprime o crescimento de bactérias aeróbias deteriorantes que produzem a viscosidade, rancificação e descoloração indesejáveis no produto. A condição resultante favorece o crescimento de organismos anaeróbios facultativos incluindo as bactérias ácido lácticas, porém em velocidade lenta (GENIGEORGIS, 1985).

Materiais flexíveis de multicamadas contendo Nylon são utilizados principalmente em embalagem a vácuo para alimentos como queijo, bacon, mortadelas, salsichas e outras carnes processadas. O Nylon é um tipo de poliamida que apresenta excelente termoformabilidade, resistência à abrasão, ao impacto e ao rasgamento. Também apresenta boa barreira aos gases, gorduras e aromas. Este tipo de polímero é utilizado em atmosfera modificada com CO₂ para aves, peixes e carne fresca. Os Nylons são usados em processos de co-extrusão com outros materiais plásticos como as poliolefinas, especialmente polietileno de baixa densidade (PEBD) e o copolímero de etileno com acetato de vinila (EVA). O processo de co-extrusão proporciona resistência e tenacidade pela junção eficaz de diferentes materiais, associando as propriedades de cada um deles para proporcionar boa capacidade de termosselagem e melhor barreira à umidade (HERNANDEZ, 1997).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Determinação do Fluxograma de Produção

Com o objetivo de identificar e descrever as principais etapas de fabricação do queijo parmesão produzido no laticínio estudado, foi realizada visita técnica e acompanhamento dos procedimentos de fabricação. Após a coleta de dados, foi elaborado o fluxograma de produção, abrangendo as principais operações executadas na elaboração do queijo colonial do estudo.

4.2. Análises para Recebimento do Leite Cru Refrigerado

Realizou-se a parte experimental do trabalho no Laboratório de Análises Físico-químicas e microbiológico do laticínio estudado. Foi analisado um total de 12 amostras de leite cru refrigerado, para produção de três lotes de queijo. Coletaram-se as amostras nos locais de armazenamento de leite cru de tanques isotérmicos que a fazenda leiteira fornece para a fábrica de laticínios.

O recebimento do leite cru refrigerado segue a recomendação pela Instrução Normativa 62 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2011), bem como o registro do estabelecimento junto aos órgãos oficiais de inspeção e a rotina de fabricação do queijo Parmesão.

Antes de proceder à coleta, homogeneizou-se o leite de cada tanque isotérmico, foi realizado uma homogeneização antes de ser feito a coleta, por aproximadamente dez segundos. Após a correta homogeneização, utilizou-se um recipiente coletor com alça de comprimento de 100 cm e 500 ml de capacidade. O volume retirado para cada amostra foi de 500 mL, e este colocado em frasco previamente identificado e esterilizado. Após a coleta os frascos foram devidamente fechados com tampa de rosca e acondicionados em geladeira até o momento das análises.

4.2.1. Análises Físico-químicas

As características físico-químicas estudadas e realizados as análises foram segundo Brasil (2006) compreenderam a determinação da acidez titulável, densidade, teor de gordura pelo método de Gerber, índice crioscópico em crioscópio eletrônico digital, estabilidade com

emprego de solução de álcool alizarol a 76% em acidímetro salut, também chamada de lamparina de alizarol e as fraudes para recebimento dos leites.

4.2.1.1. Acidez Titulável

No teste de acidez titulável ($^{\circ}\text{SH}$), utilizou-se o transferir 20 mL da amostra para um erlenmeyer de 125 ml e diluir com 40 ml de água livres de gás carbônico. Adicionar 2 ml de solução alcoólica de fenolftaleína a 1 % e titular com solução de hidróxido de sódio 0,1 N até a primeira coloração rosa forte persistente por aproximadamente 30 segundos. Em seguida realiza um cálculo para acidez titulável, % de ác.lático (m/v) = $V \times f \times 0,09 \times N \times 100 \div v$

Onde:

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

v = volume da amostra, em ml;

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

0,09 = fator de conversão do ácido láctico;

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

4.2.1.2. Densidade do leite

Na determinação da densidade, foi colocado em uma proveta 250 ml de leite, cuidadosamente, para evitar a formação de bolhas de ar. Em seguida, introduziu-se nesta proveta o termolactodensímetro, girando-o para romper a tensão superficial. Após a estabilização do densímetro, anotou-se a temperatura e densidade. O valor da densidade normal para leite cru deve estar entre 1.028 e 1.033g/L, sendo que se o valor encontrado estiver abaixo de 1.028 g/L ocorrerá suspeita de adição de água, enquanto se o resultado estiver acima de 1.033 g/L ocorrerá suspeita de adição de reconstituintes ou desnate (BRASIL, 2002).

4.2.1.3. Teor de gordura

Para a determinação do teor de gordura foi utilizado o método de Gerber que consistiu em colocar no butirômetro Gerber 10 ml de ácido sulfúrico ($d_{20}=1,825 \text{ g/L}$), em seguida adicionou-se 11 ml de leite, utilizando uma pipeta volumétrica, e, por fim, acrescentou-se 1 ml do álcool amílico ($R \ d_{20}=811 \text{ g/L}$). O butirômetro foi tampado com uma

rolha de borracha e foi agitado vigorosamente envolvendo com um pano. Após a agitação colocou-se o butirômetro em centrífuga e centrifugou-se por quatro a cinco minutos a uma rotação de 1200 a 1400 r.p.m. Depois foi deixado por dois a três minutos em banho-maria em temperatura de 65 a 66°C. A leitura foi feita na própria escala do butirômetro que já é dada em % (SILVA et al., 2001). O valor mínimo para o resultado de gordura é de 3,0% (BRASIL, 2002).

4.2.1.4. Crioscópia

A determinação do índice crioscópico foi realizada no crioscópio digital microprocessado - M90/BR série 395x da LAKTRON. Após a devida calibração do aparelho com as soluções padrão (-0,422 e -0,621 LAKTRON), colocou-se no tubo de ensaio do aparelho 2,5 ml de amostra. O aparelho mostrou o resultado da temperatura de congelamento do leite em graus Hortvet e o teor de água presente em % (SILVA et al, 1997). Os valores normais são os que estiverem bem próximos de -0,530°H (BRASIL,2002).

4.2.1.5. Peróxido de hidrogênio

Conforme a Instrução Normativa (BRASIL, 2006), para ser realizada as detecções de peróxido de hidrogênio, foram misturados 10 ml de leite e 0,4 ml de solução de óxido de vanádio a 1%. A detecção do peróxido de hidrogênio se dá pela formação de coloração salmão em presença de óxido de vanádio.

4.2.1.6. Cloreto de sódio

Para a detecção de cloreto de sódio, em um tubo de ensaio 10ml de leite, adicionado 0,5mL cromato de potássio 5% e mais 4,5 ml nitrato de prata 0,1N. Se observar coloração amarela da mistura, o teste será positivo para cloreto, e se observar a coloração castanha, será resultado negativo (BRASIL, 2006).

4.2.1.7. Amido

Para a detecção de amido, pipetou-se 10ml de leite para um tubo de ensaio, em seguida posto para aquecer em $\pm 100^{\circ}\text{C}$, logo após a fervura, resfriou-se a amostra em água corrente, e depois de resfriada, adicionou-se 0,5ml de solução de lugol à amostra. Se for observada uma coloração azul, é indicativo da presença de amido (BRASIL, 2006).

4.2.1.8. Fraude para inibição de crescimento de microrganismos

Para realizar a detecção de fraude sobre a inibição de crescimento de microrganismos, em tubo de ensaio, colocar 5 ml de leite e adicionar 0,5 ml de solução de iodeto de potássio a 7,5 %, agitar. Se não houver mudança de coloração, pesquisar a presença de hipocloritos adicionando ao mesmo tubo 4 ml de solução de ácido acético ou ácido clorídrico (1+2) e colocar em banho-maria a 80°C por 10 minutos (não ultrapassar 80°C). Esfriar em água corrente. O aparecimento de coloração amarela indica a presença de hipocloritos (confirmar, se necessário, pela adição de gotas de solução de amido a 1 %, que desenvolverá coloração azul ou violeta) (BRASIL, 2006).

Ocorre também para detectar fraudes de inibição de crescimento de microrganismos o método de em tubo de ensaio, colocar 5 ml de leite, adicionar 2 ml de solução de nitrato de prata a 2 %. Para fazer uma prova positiva simultaneamente. Para fazer uma prova positiva simultaneamente, colocar 5 ml de leite em tubo de ensaio, adicionar 0,5 ml de solução de dicromato de potássio a 0,5% e 2 ml de solução de nitrato de prata a 2% (BRASIL, 2006).

Outro controle de fraude que pode ser realizado para descobrir uma inibição de microrganismo, ocorre adicionando em um tubo de ensaio 10ml de leite, adiciona-se 2ml de ácido sulfúrico 50% e mais 0,5ml de percloroeto de ferro 2%. Em seguida é colocado em banho-maria a 100°C por 2,5 minutos (BRASIL, 2006).

4.2.1.9. Fraude de adição de água no leite

Para detecção se ocorreu alguma fraude de adição de água no leite, realiza-se uma adição de 100 ml da amostra e transferir para o kitazato. Adicionar 10 ml de antiespumante e misturar bem. Transferir para um tubo de ensaio 2 ml da solução sulfocrômica e mergulhar nessa solução a extremidade da pipeta de Pasteur acoplado ao kitazato por um tubo de silicone ou látex, de modo a formar um sistema fechado. Aquecer a amostra contida no kitazato mantendo em fervura por 5 minutos (BRASIL, 2006).

4.2.1.10. Detecção de acidez do leite

Na detecção de fraude para acidez do leite, adiciona-se em tubo de ensaio 5 ml de leite e adicionar 10 ml de álcool etílico neutralizado, agitar e adicionar 2 gotas de solução de ácido rosólico a 2 %. Fazer um branco com álcool etílico e solução de ácido rosólico a 2 % e comparar as cores (BRASIL, 2006).

4.2.1.11. Detecção de antibiótico

Para detecção de antibióticos no leite cru, foi utilizado o teste de antibiótico Tri Sensor que detecta Betraciclina e/ou Tetraciclina e/ou Sulfamida, e Four Sensor BSTQ detecta Betraciclina e/ou Tetraciclina e/ou Sulfamida e/ou Quinolonas. Realiza com o auxílio de uma pipeta que acompanha o kit, adicionar 200 μ L de amostra de leite no microtubo, homogeneizar com a ponteira. Inserir tira teste. Incubar em placa aquecedora a 40°C por 3 min. Após este tempo, automaticamente a tira teste irá reagir no microtubo e encubada a 40°C por mais 3 min. A leitura da tira teste é realizada com auxílio de leitor óptico.

Nas análises microbiológica, realiza-se primeiro o preparo de diluente a 0,1%: Pesar 0,5g de peptona e 4,25g de cloreto de sódio e completar com 500 ml de água destilada. Esperar a homogeneização e acrescentar 9 ml de diluente em tubo de ensaio.

Os tubos de ensaio preparados com diluente, estojo de pipetas, frascos de coleta de leite são esterilizados com calor úmido em autoclave a $121 \pm 2^\circ\text{C}$ de 15 a 20 minutos, antes de realizar as análises.

O leite cru recebido é agitado cuidadosamente a amostra invertendo-se o recipiente 20 a 25 vezes, identificado nas placas de petrifilm com caneta para retroprojctor: data, diluição e produto em análise.

4.2.2. Análises de microrganismos

Em um frasco contendo 9 ml de diluente, acrescenta 1 ml da amostra para ser analisada Contagem de Coliformes Totais - CCT (10^{-1}), para obter Contagem Total de microrganismo – CTM faz uma diluição de 10^{-2} , retira 1 ml do frasco de diluição 10^{-1} e passa para um novo tubo contendo 9 ml de diluente, e assim, sucessivamente, até obter a diluição desejada.

4.2.2.1. Contagem de Coliformes Totais – CCT

Na Contagem de Coliformes Totais – CCT, a amostra diluída, após aberta é flambado a boca do frasco, levantar o filme superior da placa de petrifilm (AC) e pipetar 1 mL da amostra no centro do filme inferior, deixar o filme superior cair sobre a amostra inoculada, posicionar o difusor plástico no centro da placa com o lado rebaixado, voltado para baixo, distribuir a amostra uniformemente pressionando delicadamente o centro do difusor

plástico (não arrastar o difusor sobre o filme), remover o difusor e não tocar na placa durante pelo menos 1 minuto, para deixar o gel solidificar e incubado na estufa a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por $24\text{h} \pm 2\text{h}$.

4.2.2.2. Contagem Total de Microrganismos – CTM

Para Contagem Total de Microrganismo – CTM, a amostra diluída, após aberto e flambando a boca do frasco, levantar o filme superior da placa de petrifilm (AC) e pipetar 1 ml da amostra no centro do filme inferior, deixar o filme superior cair sobre a amostra inoculada, posicionar o difusor plástico no centro da placa com o lado rebaixado, voltado para baixo, distribuir a amostra uniformemente pressionando delicadamente o centro do difusor plástico (não arrastar o difusor sobre o filme), remover o difusor e não tocar na placa durante pelo menos 1 minuto, para deixar o gel solidificar. Incubar a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por $48\text{h} \pm 3\text{h}$.

4.3. Leite Semidesnatado Pasteurizado

No dia seguinte do recebimento do leite integral cru refrigerado, foi realizado análises físico-químico e microbiológicas de 3 amostras de leite pasteurizado.

Foi realizado uma coleta das amostras de leite pasteurizado, em seguida agitado cuidadosamente a amostra invertendo-se o recipiente 20 a 25 vezes, para uma homogeneização, identificado nas placas de petrifilm com caneta para retroprojeter: data, diluição e produto em análise. Em frasco contendo 9 ml de diluente, acrescenta 1 ml da amostra para ser analisada, para obter Contagem de Salmonella faz uma diluição de 10^{-1} , e na Contagem de Coliformes Totais – CCT, Contagem de Coliformes Termotolerantes e Contagem de Enterobacteriaceae não ocorre a diluição.

4.3.1. Análises Microbiológicas

Na Contagem de Coliformes Totais (CCT) e Termotolerantes (EC), as amostras são pipetadas 1mL na placa de petrifilm da amostra no centro do filme inferior, deixar o filme superior cair sobre a amostra inoculada, e não tocar na placa durante pelo menos 1 minuto, para deixar o gel solidificar e incubado na estufa a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por $24\text{h} \pm 2\text{h}$ para CCT e $44^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por $24\text{h} \pm 2\text{h}$ para EC.

4.3.1.1. Contagem Total de Microrganismos – CTM

Para Contagem Total de Microrganismo – CTM, a amostra diluída, foi aberto e flambado a boca do frasco, levantar o filme superior da placa de petrifilm (AC) e pipetar 1 ml da amostra no centro do filme inferior, deixar o filme superior cair sobre a amostra inoculada, posicionar o difusor plástico no centro da placa com o lado rebaixado, voltado para baixo, distribuir a amostra uniformemente pressionando delicadamente o centro do difusor plástico (não arrastar o difusor sobre o filme), remover o difusor e não tocar na placa durante pelo menos 1 minuto, para deixar o gel solidificar. Incubar a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por $48\text{h} \pm 3\text{h}$.

4.3.1.2. Contagem de Enterobacteriaceae

Na Contagem de Enterobacteriaceae, adicionado 1mL da amostra na placa de petrifilm e da amostra no centro do filme inferior, baixar o filme superior sobre a amostra e deixar a placa em repouso pelo menos 1 minuto. Incubar a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por $24\text{h} \pm 2\text{h}$.

4.3.1.3. Contagem para Salmonella

Para análise de *Salmonella*, a legislação exige ausência total em 25 g ou 25 ml do alimento (BRASIL, 2001). Esta quantidade é então adicionada em 225 ml de um caldo nutriente, geralmente o caldo lactosado, esta primeira etapa demora 24h, incubada a $35^{\circ}\text{C} \pm 2$, depois da homogeneização da amostra, visando proporcionar um ambiente controlado e favorável ao desenvolvimento da *Salmonella*.

Em seguida a amostra deve passar para um meio de enriquecimento seletivo, que irá inibir outros microrganismos presentes no alimento, favorecendo o desenvolvimento da bactéria alvo. Utilizando o meio seletivo caldo selenito cistina (SC). A quantidade de amostra a ser adicionada é de 1,0 ml do meio pré-enriquecido para 10 ml do caldo. Esta segunda etapa tem um período de incubação de 24h, a $35^{\circ}\text{C} \pm 2$.

Na terceira etapa, realiza-se a hidratação com 2 ml de água destilada no Petrifilm inserido o difusor para espalhar na circunferência. Após 1 hora denominada plaqueamento seletivo, os tubos com o caldo de enriquecimento seletivo são agitados, com auxílio de uma alça de 10 μL estriado no Petrifilm delicadamente carregando mais no início e fazendo estrias maiores no final. Finaliza-se fechando o Petrifilm e incubado por 24hrs à 35°C .

4.3.2. Análises Físico-químicas

4.3.2.1. Peroxidase e Fosfatase

Para ter uma confirmação da eficiência da pasteurização, foi realizado o teste da fosfatase e peroxidase que são enzimas encontradas naturalmente no leite. Na amostra do leite pasteurizado ocorre imersão da tira com reagentes para a fosfatase, e o mesmo ocorre na peroxidase, porém com uma tira com reagente para peroxidase, no período de 10 segundos, depois de 3 minutos que as tiras foram retiradas da amostra é realizado a leitura.

4.3.2.2. Teor de gordura

Para a determinação do teor de gordura foi utilizado o método de Gerber que consistiu em colocar no butirômetro Gerber 10 ml de ácido sulfúrico ($d_{20}=1,825$ g/L), em seguida adicionou-se 11 ml de leite, utilizando uma pipeta volumétrica, e, por fim, acrescentou-se 1 ml do álcool amílico ($R d_{20}=811$ g/L). O butirômetro foi tampado com uma rolha de borracha e foi agitado vigorosamente envolvido com um pano. Após a agitação colocou-se o butirômetro em centrífuga e centrifugou-se por quatro a cinco minutos a uma rotação de 1200 a 1400 r.p.m. Depois foi deixado por dois a três minutos em banho-maria em temperatura de 65 a 66°C. A leitura foi feita na própria escala do butirômetro que já é dada em % (SILVA et al., 2001).

4.4. Queijo Parmesão

Com toda a etapa de produção concluída, foi realizado análises físico-químico e microbiológica de 3 lotes de queijo parmesão, no total de 18 formas de queijo parmesão.

4.4.1. Análises Físico-químicas

4.4.1.1. Concentração de sal

Para detecção da concentração de sal foi diluído a amostra em uma concentração de 10% (pesar 5g de queijo, completar até 50g com água destilada), deixando a solução em repouso por 30 minutos, após proceder a leitura da concentração de sal utilizando medidor de sal PAL SALT, realizando primeiro a higienização, calibração e zerar o equipamento. O resultado apresentado no visor, multiplicar pela diluição (10x). A cada amostra secar o equipamento com auxílio de algodão ou papel macio.

4.4.1.2. Teor de umidade

Realizou-se teste de umidade, primeiro em uma cápsula de porcelana, seco em estufa (90° – 110°C por 45 minutos), resfriado em dessecador e tarado, 5 g de queijo (amostra deve ser ralada o mais fino possível), levar à estufa em temperatura de 90° – 110°C por 2h: 30' ± 30'. Quando atingir o tempo, transferir a cápsula com a amostra com auxílio da pinça para o dessecador até esfriar, retirar do dessecador e pesar, após retornar cápsula com a amostra para estufa e repetir procedimento até que se atinja peso constante. O cálculo do resultado deve ser feito por diferença e expresso em porcentagem (%) de umidade.

4.4.1.3. Teor de gordura

Para detectar a porcentagem de gordura do queijo Parmesão, tara-se o copo do butirômetro e pesar 3g da amostra a ser analisada, acoplá-lo ao butirômetro e com uma pipeta adicionar 5 ml de água destilada (60 - 65°C), em seguida acrescentar 10 ml de ácido sulfúrico, tampar com rolha de borracha, agitar vigorosamente, alternando com imersões em banho-maria a 62 - 65°C por 30 segundos e/ou até a dissolução completa da amostra, após a dissolução adicionar 1mL de álcool amílico e com uma pipeta adicionar água destilada até o número 40 da escala do butirômetro, tampar, agitar e centrifugar por 5 minutos, deixar em banho-maria (62 - 65°C) por no mínimo 5 minutos e realizar a leitura.

4.4.1.4. Análise para o pH

Para detectar o pH utilizou-se equipamento pHmetro, ligar o aparelho, retira-se o eletrodo tipo espada da solução KCl 3 molar, secar com papel absorvente e inserir dentro da forma de queijo no local previamente perfurado com espátula específica, acionar o botão “liga/desliga” aguardar o equilíbrio no display e efetuar a leitura. Após cada medição enxaguar bem o eletrodo com água destilada e enxugar com papel absorvente. Ao término do processo pressionar o botão “liga/desliga” para desligar o aparelho.

4.4.2. Análises de microrganismos

4.4.2.1. Contagem de Coliformes Termotolerantes

Foi realizado análises microbiológicas de Coliformes Termotolerantes - CE, a amostra diluída, após aberta é flambado a boca do frasco, levantar o filme superior da placa de petrifilm (AC) e pipetar 1 ml da amostra no centro do filme inferior, deixar o filme superior cair sobre a amostra inoculada, não tocar na placa durante pelo menos 1 minuto, para deixar o gel solidificar e incubado na estufa a $44^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ para EC.

4.4.2.2. Contagem de Staphylococcus

Realiza-se análise *Staphylococcus aureus*, após agitar o frasco que contém a amostra diluída, foi aberto e flambado a boca do frasco, inocular 1 ml na placa de S. aureus e espalhar. Incubar a placa a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, caso necessário suspender o filme superior e introduzir o disco Petrifilm Staph Express e recolocar o filme superior, incubar a placa novamente a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 1 a 3 horas

4.4.2.3. Contagem para Salmonella

Para análise de *Salmonella*, a legislação exige ausência total em 25 g ou 25 ml do alimento (BRASIL, 2001). Esta quantidade é então adicionada em 225 ml de um caldo nutriente, geralmente o caldo lactosado, esta primeira etapa demora 24h, incubada a $35^{\circ}\text{C} \pm 2$, depois da homogeneização da amostra, visando proporcionar um ambiente controlado e favorável ao desenvolvimento da *Salmonella*.

Em seguida a amostra deve passar para um meio de enriquecimento seletivo, que irá inibir outros microrganismos presentes no alimento, favorecendo o desenvolvimento da bactéria alvo. Utilizando o meio seletivo caldo selenito cistina (SC). A quantidade de amostra a ser adicionada é de 1,0 ml do meio pré-enriquecido para 10 ml do caldo. Esta segunda etapa tem um período de incubação de 24h, a $35^{\circ}\text{C} \pm 2$.

Na terceira etapa, realiza-se a hidratação com 2 ml de água destilada no Petrifilm inserido o difusor para espalhar na circunferência. Após 1 hora denominada plaqueamento seletivo, os tubos com o caldo de enriquecimento seletivo são agitados, com auxílio de uma alça de 10 μL estriado no Petrifilm delicadamente carregando mais no início e fazendo estrias maiores no final. Finaliza-se fechando o Petrifilm e incubado por 24hrs à 35°C .

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Fluxograma de Fabricação do Queijo Parmesão

Com base nas observações realizadas na visita técnica ao laticínio, o leite cru refrigerado chega em caminhões com tanques isotérmicos, em seguida as amostras são coletado de cada compartimento dos tanques isotérmicos e enviado ao laboratório interno para realizar todas as análises de liberação do leite cru refrigerado.

Após todas as análises realizadas e os resultados negativos, o leite é armazenado em um tanque refrigerado, onde permanece com a temperatura no máximo até 4°C, no dia seguinte às 5:30 da manhã, ocorre um pré-aquecimento e padronização da gordura, tornando o leite semidesnatado, em seguida do desnate o leite passa por uma pasteurização de 72°C a 75°C por 15 segundos, sendo resfriado por trocadores de calor e enviado para um tanque de inox, ocorrendo uma homogeneização do leite semidesnatado pasteurizado.

O leite pasteurizado é transportado para os tanques de fabricação, quando o leite alcançou temperaturas entre 32 a 35°C, foi adicionado ao cozimento uma cultura constituída por *Streptococcus thrtmophilus*, *Lactobacillis delbrueckii bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus* como cultura *starter*.

Após ser adicionado à coalhada a massa é cozida por, aproximadamente, 12 minutos em uma temperatura que varia entre 52 a 55°C. Em seguida, passa por uma agitação durante o cozimento que proporciona uma redução no tamanho dos grãos, influenciando na forma de uma massa compacta no momento da prensagem.

A massa, após ser cozida, é retirada dos tanques de fabricação, sendo levada em carrinhos até o local da prensa, onde ocorre o corte das massas, que fica em torno 7 kg cada pedaço de queijo, transferido para formas redondas e depositado na prensa coletiva vertical de ar comprimido, por um período de 24 horas. Após a prensa, permanece um dia de estabilização, em seguida, a massa de queijo fica por um período de 15 dias na salga, com temperaturas de 10°C a 15°C.

Ao sair da salga a massa de queijo passa para sala com temperatura e umidade controlada, permanecendo por três dias, as formas são acopladas na embalagem primaria para ser encaminhada a câmara de maturação, onde permanecem por seis meses.

O texto descrito acima apresenta o fluxograma de produção do queijo utilizado nesta pesquisa, na Figura 1:

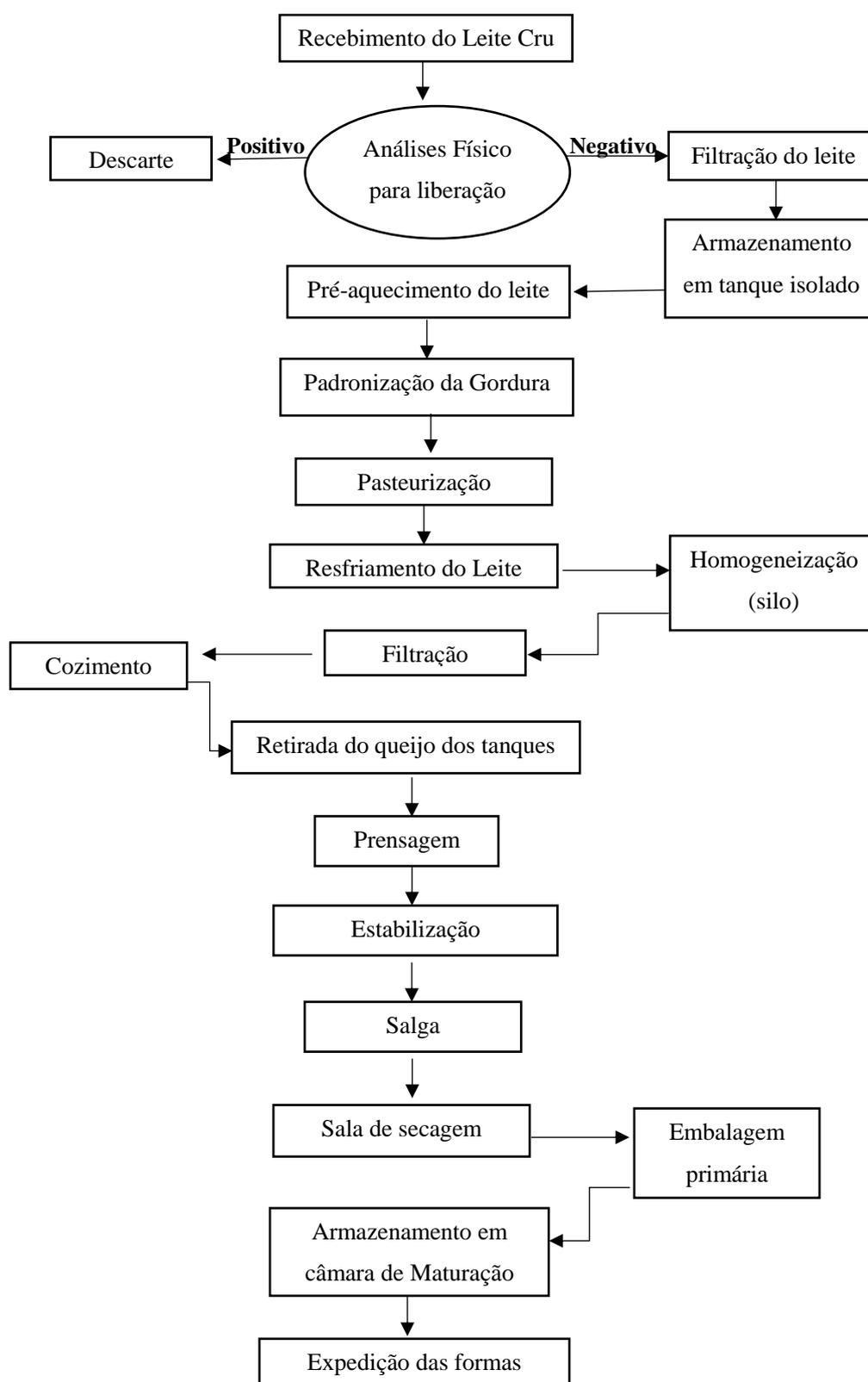


Figura 1- Fluxograma da produção do queijo parmesão

Fonte: Autor próprio

Os resultados das análises microbiológicas e físico-químico das amostras do leite cru refrigerado para a produção do queijo Parmesão estão representadas nas tabelas abaixo:

Tabela 2 - Resultados das análises microbiológicas e físico do leite cru refrigerado para a produção do queijo Q1:

Leite CRU do Q1				
	Produtor 1	Produtor 2	Produtor 3	Produtor 4
Gordura (g/100g)	3,7	3,8	3,6	3,7
Acidez titulável	0,16	0,16	0,14	0,15
Densidade Relativa g.mL	1,031	1,031	1,032	1,031
Índice Crioscópico	546	545	547	545
Contagem Total de Microrganismos (UFC/mL)	500	12.800	11.600	35.200
Contagem de Coliformes Totais (UFC/mL)	10	10	140	20
Presença de antibiótico	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
Peróxido de hidrogênio	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
Cloreto de Sódio	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
Amido	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
Fraude para inibição de crescimento de microrganismos	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
Fraude de adição de água no leite	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
Detecção de acidez do leite	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.

Fonte: Autor próprio

Tabela 3 - Resultados das análises microbiológicas e físico do leite cru refrigerado para a produção do queijo Q2:

Leite CRU do Q2				
Gordura (g/100g)	3,8	3,8	3,5	3,6
Acidez titulável	0,16	0,16	0,15	0,15
Densidade Relativa	1,032	1,031	1,031	1,031
Índice Crioscópico	543	546	545	546
Contagem Total de Microrganismos (UFC/mL)	9.200	9.800	8.000	31.200
Contagem de Coliformes Totais (UFC/mL)	100	40	80	10
Presença de antibiótico	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
Peróxido de hidrogênio	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
Cloreto de Sódio	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
Amido	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
Fraude para inibição de crescimento de microrganismos	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
Fraude de adição de água no leite	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
Deteção de acidez do leite	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.

Fonte: Autor próprio

Tabela 4 - Resultados das análises microbiológicas e físico do leite cru refrigerado para a produção do queijo Q3:

Leite CRU do Q3				
Gordura (g/100g)	4,0	3,9	3,6	3,7
Acidez titulável	0,16	0,16	0,14	0,15
Densidade Relativa	1,032	1,031	1,031	1,032
Índice Crioscópico	546	546	545	547
Contagem Total de Microrganismos (UFC/mL)	30	60	120	10
Contagem de Coliformes Totais (UFC/mL)	1.000	9.200	7.200	6.000
Presença de antibiótico	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
Peróxido de hidrogênio	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
Cloreto de Sódio	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
Amido	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
Fraude para inibição de crescimento de microrganismos	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
Fraude de adição de água no leite	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
Deteção de acidez do leite	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.

Fonte: Autor próprio

Nos leites para produção dos queijos Q1, Q2 e Q3 pela metodologia utilizada, não foram detectados resíduos de antibiótico e de fraudes.

Nos resultados conforme descrito na tabela 3, 4 e 5, observou-se pequenas alterações nos produtores de leite. A acidez titulável do leite cru Q1, na média apresentou 0,152%, no leite cru Q2 0,155% e no leite cru Q3 apresentou uma média de 0,152%, demonstrando adequação da matéria-prima destinada a produção de queijo Parmesão. O monitoramento da acidez do leite é importante para assegurar a qualidade dos queijos Parmesão.

O valor dos índices para o crioscopia dos leites Q1, Q2 e Q3 também apresentaram resultados muito próximos uns dos outros. A média dos resultados do leite cru Q1 foi de 545,75°H, do leite cru Q2 a média foi 545°H e do leite cru Q3 foi de 546°H. A densidade de todos os leites crus fornecidos para a produção dos queijos Q1, Q2 e Q3 variou de 1,031 g/mL a 1,032 g/mL, nas análises de gorduras dos leites recebidos para produção do queijo Q1 obteve a média de 3,7% de gordura, nos leites para produção do queijo Q2 foi de 3,7% e o leite Q3 apresentou a média de 3,8%.

Para análises microbiológicas os leites descritos nas tabelas 3, 4 e 5 para Contagem de Coliformes Total a média do leite cru Q1 foi de 45 UFC/mL, o leite cru Q2 apresentou 57,5 UFC/ML na média dos quatro produtores e o leite cru Q3 55 UFC/mL. Na análise de Contagem Total de Microrganismos todos estavam bem abaixo dos padrões indicados pelo Ministério da Agricultura Pecuária Abastecimento (MAPA), sendo o padrão 40.000 UFC/mL.

Nas análises físico-químicas e microbiológicas os resultados demonstraram que a qualidade do leite recebido no laticínio foi ótima.

O leite das quatro fazendas recebidos na fábrica de laticínios, passa por um desnatado em seguida é pasteurizado por 15 segundos de 72 a 75°C, é realizado uma coleta do leite pasteurizado onde é realizada a análise física de fosfatase e peroxidase, para verificar a eficiência do processo de pasteurização.

Finalizando todo o processo de pasteurização do leite semidesnatado, realiza-se uma coleta em frascos esterilizados sendo levado para análises microbiológicas e físico-químico, conforme descrito nas tabelas abaixo.

Tabela 5 – Análises do leite semidesnatado e pasteurizado para a fabricação do queijo Q1:

Leite Pasteurizado Q1		
	Padrões	Resultados
Contagem de Coliformes Totais (UFC/mL)	-	0
Contagem Total de Microrganismos (UFC/mL)	-	200
Contagem de coliformes termotolerantes	*4	0
Contagem de Enterobacteriaceae	*5	0
Salmonella sp.	*Ausência em 25g	Ausência
Teor da gordura	2,5	2,4
Peroxidase	Positivo	Positivo
Fosfatase	Negativo	Negativo

* Padrão da RDC 12/2001

Fonte: Autor próprio

Tabela 6 – Análises do leite semidesnatado e pasteurizado para a fabricação do queijo Q2:

Leite Pasteurizado Q2		
	Padrões	Resultados
Contagem de Coliformes Totais (UFC/mL)	-	<10
Contagem Total de Microrganismos (UFC/mL)	-	500
Contagem de coliformes termotolerantes	*4	<10
Contagem de Enterobacteriaceae	*5	0
Salmonella sp.	*Ausência em 25g	0
Teor da gordura	2,5	2,4
Peroxidase	Positivo	Positivo
Fosfatase	Negativo	Negativo

* Padrão da RDC 12/2001

Fonte: Autor próprio

Tabela 7 – Análises do leite semidesnatado e pasteurizado para a fabricação do queijo Q3:

Leite Pasteurizado de Q3		
	Padrões	Resultados
Contagem de Coliformes Totais (UFC/mL)	-	2
Contagem Total de Microrganismos (UFC/mL)	-	100
Contagem de coliformes termotolerantes	*4	0
Contagem de Enterobacteriaceae	*5	1
Salmonella sp.	*Ausência em 25g	Ausência em 25g
Contagem de Enterobacteriaceae	5	0
Teor da gordura	2,5	2,5
Peroxidase	Positivo	Positivo
Fosfatase	Negativo	Negativo

* Padrão da RDC 12/2001

Fonte: Autor Próprio

O resultado negativo da fosfatase, tem como objetivo verificar se o processo de pasteurização ocorreu com eficiência. A análise da peroxidase, com o resultado positivo, serve para garantir que o leite não superaqueceu causando uma desnaturação do leite, influenciando na qualidade final do queijo, onde todas as três amostras do leite pasteurizado foram dentro dos padrões da análise de peroxidase deram positivas e fosfatase todos apresentarão resultados negativos.

De acordo com McSweeney e Sousa (2000), a concentração de lipídios no leite é importante para o sabor e o aroma do queijo, pois esse componente também é utilizado como substrato nas modificações bioquímicas do coágulo durante a maturação. O teor de gordura do leite, devido à padronização da matéria-prima pela fábrica de laticínios, variou entre 2,4 a 2,5, o queijo Parmesão é processado com leite apresentando teor de gordura de 2,0 a 2,5%.

Assim que ocorreu todo o processo da fabricação dos queijos Parmesão, foram analisadas mês a mês, as formas com embalagem a vácuo.

Tabela 8 – Mudanças microbiológicas e físico-químicas do queijo Parmesão Q1 embalado a vácuo no período durante a maturação:

Análises	Padrões	Q1 – com embalagem a vácuo					
		1 mês	2 meses	3 meses	4 meses	5 meses	6 meses
Staphylococcus coagulase positiva (UFC/g)	* 10 ³	<100	<100	<100	<100	<100	<100
Coliformes termotolerantes (NMP/g)	* 5x10 ²	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Salmonella sp	*Ausência em 25g	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
Bolores e Leveduras (UFC/g)	** 10 ³	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Concentração de sal	*****1,3 a 2%	1,2	1,5	2	1,70	1,8	2
pH	*****5,4 a 5,6	5,45	5,37	5,37	5,41	5,21	5,31
Umidade	***35,95	35,25	33,60	32,93	32,87	30,00	33,60
Gordura	***25 a 44,9%	26,00	27,50	32,00	27,50	28,50	29,50

* Padrão da RDC 12/2001 ** Portaria nº451/1997 *** Portaria nº 146/1996 ****Furtado (2005)

Fonte: Autor próprio

Tabela 9 – Mudanças microbiológicas e físico-químicas do queijo Parmesão Q1 embalado a vácuo no período durante a maturação:

Análises	Padrão	Q2 – com embalagem a vácuo					
		1 mês	2 meses	3 meses	4 meses	5 meses	6 meses
Staphylococcus coagulase positiva (UFC/g)	* 10 ³	<100	<100	<100	<100	<100	<100
Coliformes termotolerantes (NMP/g)	* 5x10 ²	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Salmonella sp	*Ausência em 25g	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
Bolores e Leveduras (UFC/g)	** 10 ³	20	10	10	10	10	10
Concentração de sal (%)	****1,3 a 2%	1,6	1,6	1,4	1,6	1,6	1,9
pH	****5,4 a 5,6	5,50	5,28	5,33	5,41	5,34	5,37
Umidade (%)	***35,95 a 25 a	35,72	34,47	34,92	34,19	35,11	34,26
Gordura (%)	44,9%	30,50	32,50	34,00	33,50	33,00	35,00

* Padrão da RDC 12/2001 ** Portaria nº451/1997 *** Portaria nº 146/1996****Furtado (2005)

Fonte: Autor próprio

Tabela 10 – Mudanças microbiológicas e físico-químicas do queijo Parmesão Q3 embalado a vácuo no período durante a maturação:

Análises	Padrão	Q3 – com embalagem a vácuo					
		1 mês	2 meses	3 meses	4 meses	5 meses	6 meses
Staphylococcus coagulase positiva (UFC/g)	* 10 ³	<100	<100	<100	<100	<100	<100
Coliformes termotolerantes (NMP/g)	* 5x10 ²	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Salmonella sp	*Ausência em 25g	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
Bolores e Leveduras (UFC/g)	** 10 ³	10	10	10	10	20	10
Concentração de sal (%)	****1,3 a 2%	1,6	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9
pH	****5,4 a 5,6	5,32	5,35	5,42	5,44	5,47	5,35
Umidade (%)	***35,95	35,52	34,59	33,39	31,22	31,61	32,27
Gordura (%)	***25 a 44,9%	26,50	31,50	29,50	25,00	30,00	31,00

* Padrão da RDC 12/2001 ** Portaria nº451/1997 *** Portaria nº 146/1996 ****Furtado (2005)

Fonte: Autor próprio

De acordo com normas da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 estabelece um valor limite para os microrganismos analisados. Nesse sentido as amostras conforme demonstradas na Tabela 08, Tabela 09 e Tabela 10 apresentaram contagens de Staphylococcus coagulase positiva dentro do permitido pela legislação vigente. Nas análises para Salmonella sp. As amostras também estavam dentro do padrão. Com relação à contagem de bolores e leveduras, foi observado que todas as amostras ficaram dentro dos padrões. Com relação à presença de Coliformes termotolerantes, todas estavam dentro dos Padrões estabelecidos pela RDC 12/2001.

Nas análises de umidade e gordura conforme a Portaria 146/1996 os queijos, descritos na Tabela 08, Tabela 09 e Tabela 10, apresentaram resultados dentro dos padrões de ambas as análises, mostrando que a embalagem não influencia na sua perda de umidade e nem na gordura do produto.

De acordo com Furtado (2005), as análises realizadas nos queijos para concentração de sal e pH em nenhum momento apresentou resultados fora dos padrões, desde o primeiro mês até o final da maturação.

Assim todos os resultados finais com o uso de embalagem no seu período de maturação, não influenciou nos aspectos microbiológicos, físicos e bioquímicos do processo, necessário para um queijo de boa qualidade.

Durante todo o processo de maturação dos três lotes selecionados para o estudo, foi controlado a temperatura desde a entrada dos queijos na câmara de maturação até o final da sua maturação. Quando a temperatura está fora desse padrão, entre 5 a 18°C, podem ocorrer alguns problemas que prejudicam na qualidade do queijo Parmesão acelerar no processo de maturação, pode prejudicar a qualidade do produto por favorecer o crescimento de outros microrganismos indesejáveis (bolores e leveduras principalmente) e pode ocasionar defeitos na perda de umidade do queijo Parmesão. Os queijos Q1, Q2 e Q3 permaneceram por um período de 165 dias na câmara de maturação com temperatura controlada. Os queijos Parmesão Q1 permaneceram na média em temperatura 12,01°C, o queijo Parmesão Q2 também obteve uma média 12,01°C no seu período de maturação na câmara e o queijo Parmesão Q3 teve uma média de 12,02 °C, em todos os dias de maturação na câmara não apresentou alterações significativas, como está descrito no Anexo.

6. CONCLUSÃO

Atualmente as indústrias vêm buscando novas tecnologias em seus processos, para a produção de alimentos cada vez mais seguros e saudáveis. A empresa desenvolveu uma melhoria no processo de maturação do Queijo Parmesão, onde acondiciona o queijo em embalagem plástica permeável a vácuo a qual permite trocas gasosas gerado pelo processo físico e bioquímico do queijo durante o período de maturação, a troca gasosa ocorre da parte interna da embalagem para o ambiente externo durante o período de maturação do queijo, proporcionando a melhoria do processo de maturação e qualidade do produto.

A nova tecnologia aplicada para a maturação do queijo Parmesão em embalagem plástica não interfere no resultado das análises microbiológicas e físico-químicas, exigidos no RTIQ de queijo Parmesão e não apresentando riscos de contaminação que venham a causar danos aos processos e à saúde do consumidor.

O uso da embalagem plástica permeável durante o período de maturação, que é de no mínimo seis meses, garante que todos os processos físicos, bioquímicos e microbiológicos necessários para a formação de um queijo de boa qualidade ocorram, bem como a garantia das características organolépticas e de textura do produto, trazendo muitos benefícios, como melhor proteção do queijo contra contaminação (bolors, leveduras e ácaros) e contaminação cruzada, proporciona uma excelente apresentação das formas de queijo durante o período de maturação e desenvolve coloração ligeiramente amarelada.

A aplicação da legislação vigente é utilizada para direcionar quanto as características que o queijo Parmesão deve apresentar. Entende-se que nas legislações vigentes não se especifica o método que deve ser utilizado na maturação do queijo Parmesão.

7. REFERENCIAS

ABREU, L.R. **Processamento do leite e tecnologia de produtos lácteos**. Ciência e Agrotecnologia Lavras: UFLA/FAEPE, 194 p. 2005.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), **Resolução RDC nº 12** de 02 de Janeiro de 2001.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJOS -ABIQ. **Queijos - Mercado total brasileiro**. 2010.

BAIRD-PARKER, A. C. Ácidos orgânicos. In: INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Ecologia microbiana de los alimentos 1**. Zaragoza. Espanhola. Acribia (Ed.), p. 132-142, 1980.

BERESFORD, T.; WILLIAMS, A. **The microbiology of cheese ripening**. London: Elsevier,. V. 1. Chap. 12, p. 287-317. 2004

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Manual de Métodos Oficiais para Análise de Alimentos de Origem Animal**. Brasília, 2017.

BRASIL, **Portaria N° .451** de 19 de setembro de 1997 da Secretaria de Vigilância Sanitária/Ministério da Saúde, 5p, 1997b.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução normativa nº 62 de 29 de dezembro de 2011. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial da União**, Brasília, 29 de dezembro de 2011..

BRASIL. **Instrução Normativa nº 51**, de 18 de setembro de 2002. Aprova os Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite tipo B, do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. Diário Oficial [da] República Federal do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, Seção 1, p. 13, 20 set. 2002.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 68**, de 12 DE DEZEMBRO DE 2006. Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos para Controle de Leite e Produtos Lácteos. Diário Oficial [da] República Federal do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo Parmesão. **Portaria 353** de 4 de setembro de 1997. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 08 set. 1997. Seção 1, p. 1984.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer. **Ações de enfermagem para o controle do câncer: uma proposta de integração ensino-serviço**. 2. ed. Rio de Janeiro: INCA, 2002.

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

BRODY, A. L.; BUGUSU, B.; HAN, J.H.; SAND, C. K.; McHUGH, T.H. Innovative Food Packaging Solutions. **Journal of Food Science**, v. 73, p. 107-116, 2008.

BROMBERG, R.; MORENO, I.; ZAGANINI C.L.; DELBONI, R.R.; OLIVEIRA, J. Isolation of bacteriocin-producing lactic acid bacteria from meat and meat products and its spectrum of inhibitory activity. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, p. 137-144, 2004.

CAVALCANTE, F.M. **Produção de Queijos Gouda, Gruyère, Mussarela e Prato**. 2004. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2004.

CHALITA, M.A.N.; SILVA, R.O.P.; PETTI, R.H.V.; SILVA, C.R.L. **Algumas Considerações sobre a Fragilidade das Concepções de Qualidade no Mercado de Queijos no Brasil**. Informações Econômicas. São Paulo, v.39, n.6, p 77-88. Jun. 2009.

COSTA, R. G. B.; LOBATO, V. ABREU, L. R. MAGALHÃES, F. A. R. **Salga de queijos em salmoura: uma revisão**. Revista Inst. Latic. “Cândido Tostes”. Nº 336 a 338, vol. 59: p 41-49. Juiz de Fora. 2004.

DORES, M.T. **Queijo minas artesanal da canastra maturado à temperatura ambiente e sob refrigeração**. 2007. 107 p. Dissertação (M.S em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, 2007.

FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H. **Dairy Chemistry and Biochemistry**. Published by Blackie Academic & Professional, an imprint of Thomson Science, 2-6 Boundary Row, London SE1 8UK. First ed. 1998. 478p.

FOX, P.F.; GUINEE, T.P.; COGAN, T.M.; McSWEENEY, P.L.H. **Fundamentals of cheese Science**. Gaithersburg: Aspen, 587p. 2000.

FURTADO, M. M. **Principais defeitos dos queijos duros**. **Queijos Duros**, p. 168-169, 2011.

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

FURTADO, M.M. **Principais problemas dos queijos - causas e prevenções**. São Paulo: Metha, 200p. 2005.

GENIGEORGIS, C. Microbial and safety implications of the use of modified atmospheres to extend the storage life of fresh meat and fish. **International Journal of Food Microbiology**, v.1, p. 237–251, 1985.

HERNANDEZ, R. J.. Food Packaging Materials, Barrier Properties, and Selection. In: VALENTAS, Kenneth J.; ROTSTEIN, Enrique; SINGH, R. Paul (Ed.). **Handbook of food engineering practice**. Florida, USA: CRC Press, Cap. 8, p. 736. 1997.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Pesquisa Industrial**. Rio de Janeiro: IBGE, 188 p. 2006.

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

JAY, J. M.. **Modern Food Microbiology**. 6. ed. Maryland: Aspen Publishers, Inc., 635 p. 2000.

KELLY, A. L.; FOX, P. F. Indigenous enzymes in milk: a synopsis of future research requirements. **International Dairy Journal**, v. 16, n. 6, p. 707-715, 2006.

KENNY, O.; FITZGERALD, R. J., CUINN, G. O.; BERESFORD, T.; JORDAN, K. Growth phase and growth medium effects on the peptidase activities of *Lactobacillus helveticus*. **International Dairy Journal**, v. 13, n. 7, p. 509-516, 2003.

LAUTENSCHÄGER, B.I. **Avaliação de embalagem de consumo com base nos requisitos ergonômicos informacionais**. Florianópolis, SC. Dissertação de Mestrado.UFSC, 109p, 2001.

LORTAL, S.; CHAPOT-CHARTIER, M. P. Role, mechanisms and control of lactic acid bacteria lysis in cheese. **International Dairy Journal**, v. 15, n. 6/9, p. 857-871, 2005.

MARILLEY, L.; CASEY, M. G. Flavours of cheese products: metabolic pathways, analytical tools and identification of producing strains. Review article. **International Journal of Food Microbiology**, v. 90, n. 2, p. 139-159, 2004.

McSWEENEY, P. L. H. Biochemistry of cheese ripening. **International Journal of Dairy Technology**, v. 57, n. 4, p.127-144, 2004.

MIRANDA, A. E. F. **Avaliação da Qualidade Microbiológica dos Queijos produzidos no Brasil – Revisão**. In: Congresso Nacional de Laticínios, 25., 2008, Juiz de Fora. **Anais do 25º Congresso Nacional de Laticínios**. Juiz de Fora: EPAMIG/Instituto de Laticínios Cândido Tostes, p. 1-9. 2008.

Nº 62, de 29 de dezembro de 2011a. Aprova o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel, em conformidade com os Anexos desta Instrução Normativa. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, sec.1. 30 de dezembro de 2011.

NASCIMENTO, M.S.; MORENO, I.; KUAYE, A.Y. Determinação da compatibilidade de desenvolvimento de culturas bacteriocinogênicas e fermento láctico. **Ciência e tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 1, n. 29, p. 165-170, jan./mar. 2009.

OGUNBANWO, S.T.; SANNI, A.I.; ONILUDE, A.A. Influence of cultural conditions on the production of bacteriocin by *Lactobacillus brevis* OG1. **African Journal of Biotechnology**, v. 2, n. 7, p. 179-184, 2003.

ORDONEZ, J.A. **Tecnologia de Alimentos**. Alimentos de origem animal. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, v.2, 2005.

PARRY, R.T. Principles and applications of modified atmosphere packaging of foods. **New York: Blackie Academic & Professional Publishers**. p 305, 1993.

PAULA, J.C.J.; CARVALHO, A.F.; FURTADO M.M.; **Princípios básicos de fabricação de queijo: do Histórico à salga**. Revista Inst. Latic. “Cândido Tostes”, Mar/Jun, nº 367/368, 64: 19-25, 2009.

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

ROBINSON, R. K. **Dairy Microbiology Handbook**. Third Edition. ISBN 0-471-38596-4. Copyright © 2002. Wiley-Interscience, Inc. New York – USA. Microbiology of soft cheese, 479p – 513p. 765p. 2002.

VALSECHI, O.A. **O leite e seus derivados**. Tecnologia de produtos agrícolas de origem animal. Departamento de Tecnologia Agroindustrial e socioeconômica Rural – Universidade Federal de São Carlos, Araras, 2001.

VASCONCELO, M.P.; ARAÚJO, K. G. L.; VERRUMA-BERNARDI, M. R. Efeito do pH de coagulação do leite e do tipo de coalho sobre o rendimento de massa na produção de queijo. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 10, n. 4, p. 499-502, 2004.

WALSTRA, P.; GEURTS, T. J.; NOOMEN, A.; JELEMA, A. VAN BOEKEL, M. A. J. S.; **Dairy technology: principles of milk properties and processes**. Food science and technology. Marcel Dekker, Inc. New York – Basel. 727p. 1999.

8. ANEXO

Temperatura em grau Celsius da câmara de maturação no período de 165 dias em que o queijo Parmesão Q1 maturou:

Queijo Parmesão Q1			
10,8	10,2	10,4	14
12,1	10,4	13	12,8
11,6	10,5	10,2	11,3
12,9	10,4	10,4	13,2
12,9	11,1	11,8	10,5
12,8	10,4	10,2	13,5
12,7	10,3	11,9	12
13,5	11,8	10,3	10,5
12,6	10,8	11,1	14,3
13,2	11,5	12,6	13,2
13,9	10,2	11,9	12,1
14,2	11,2	12,5	11,3
14	13,2	11,9	10,7
13,8	11	11,9	10,1
14,6	12,7	12,1	10,4
14,9	12,3	12,3	10,3
13,8	13,1	12,5	12,9
14,9	11,9	10,5	12,6
13,9	10,4	13,5	12,9
12,9	10,4	13,7	12,7
13,5	11,3	14,3	11
11,5	13,1	12,5	0,5
11,9	13,1	11,8	12,8
10,9	11,2	12,3	10,4
12,5	12,8	12,9	12,4
12,5	12,4	13,1	11,9
12,5	10,1	12,4	12
12,1	12,3	12,4	10,4
12,2	12,3	12,3	10,8
12,2	12,1	12,4	10,8
12,6	12,4	12,6	12,6
10,7	12,2	13,1	12,9
10,7	10,5	12,9	12,8
10,5	13,5	10,5	13
10,5	11,8	12,2	12,9

Fonte: Autor próprio

Temperatura em grau Celsius da câmara de maturação no período de 165 dias em que o queijo Parmesão Q2 maturou:

Queijo Parmesão Q2			
12,1	10,4	13	12,8
11,6	10,5	10,2	11,3
12,9	10,4	10,4	13,2
12,9	11,1	11,8	10,5
12,8	10,4	10,2	13,5
12,7	10,3	11,9	12
13,5	11,8	10,3	10,5
12,6	10,8	11,1	14,3
13,2	11,5	12,6	13,2
13,9	10,2	11,9	12,1
14,2	11,2	12,5	11,3
14	13,2	11,9	10,7
13,8	11	11,9	10,1
14,6	12,7	12,1	10,4
14,9	12,3	12,3	10,3
13,8	13,1	12,5	12,9
14,9	11,9	10,5	12,6
13,9	10,4	13,5	12,9
12,9	10,4	13,7	12,7
13,5	11,3	14,3	11
11,5	13,1	12,5	0,5
11,9	13,1	11,8	12,8
10,9	11,2	12,3	10,4
12,5	12,8	12,9	12,4
12,5	12,4	13,1	11,9
12,5	10,1	12,4	12
12,1	12,3	12,4	10,4
12,2	12,3	12,3	10,8
12,2	12,1	12,4	10,8
12,6	12,4	12,6	12,6
10,7	12,2	13,1	12,9
10,7	10,5	12,9	12,8
10,5	13,5	10,5	13
10,5	11,8	12,2	12,9
10,2	10,4	14	12,5

Fonte: Autor próprio

Temperatura em grau Celsius da câmara de maturação no período de 165 dias em que o queijo Parmesão Q3 maturou:

Queijo Parmesão Q3			
11,6	10,5	10,2	11,3
12,9	10,4	10,4	13,2
12,9	11,1	11,8	10,5
12,8	10,4	10,2	13,5
12,7	10,3	11,9	12
13,5	11,8	10,3	10,5
12,6	10,8	11,1	14,3
13,2	11,5	12,6	13,2
13,9	10,2	11,9	12,1
14,2	11,2	12,5	11,3
14	13,2	11,9	10,7
13,8	11	11,9	10,1
14,6	12,7	12,1	10,4
14,9	12,3	12,3	10,3
13,8	13,1	12,5	12,9
14,9	11,9	10,5	12,6
13,9	10,4	13,5	12,9
12,9	10,4	13,7	12,7
13,5	11,3	14,3	11
11,5	13,1	12,5	0,5
11,9	13,1	11,8	12,8
10,9	11,2	12,3	10,4
12,5	12,8	12,9	12,4
12,5	12,4	13,1	11,9
12,5	10,1	12,4	12
12,1	12,3	12,4	10,4
12,2	12,3	12,3	10,8
12,2	12,1	12,4	10,8
12,6	12,4	12,6	12,6
10,7	12,2	13,1	12,9
10,7	10,5	12,9	12,8
10,5	13,5	10,5	13
10,5	11,8	12,2	12,9
10,2	10,4	14	12,5
10,4	13	12,8	12,3

Fonte: Autor próprio