

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA

AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS E FÍSICO-QUÍMICAS  
DE QUEIJOS COLONIAIS COMERCIALIZADOS NO ESTADO DO RIO GRANDE DO  
SUL

Autora: Jéssica Biasi Murliki

Porto Alegre, 2018/1.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA

AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS E FÍSICO-QUÍMICAS  
DE QUEIJOS COLONIAIS COMERCIALIZADOS NO ESTADO DO RIO GRANDE DO  
SUL

Autora: Jéssica Biasi Murliki

**Monografia apresentada à Faculdade de  
Veterinária como requisito parcial  
para a obtenção do título de Médico  
Veterinário**

Orientadora: Andrea Troller Pinto

Porto Alegre, 2018/1.

## **AGRADECIMENTOS**

A minha orientadora Andrea Troller Pinto, por toda paciência, compreensão e a todos os ensinamentos.

A Juliana Querino Goulart, pela imensa ajuda em meus projetos, pelo incentivo e força para continuar apesar dos erros.

A minha mãe e meus avós, que sempre me apoiaram incondicionalmente nessa jornada, apesar das adversidades.

A Tainá, Vanessa e Evandro, queridos amigos que me acolheram quando caí de paraquedas em uma turma nova. Grupo forte e unido, que posso contar sempre, tanto nos momentos bons como nos ruins.

Ao amigo Leonardo, por tornar essa jornada mais leve se dispondo com as caronas para a FAVET. Dividindo histórias de vida nas tranqueiras diárias das idas e vindas.

As amigas Paula e Marina, que apesar da aproximação tardia, hoje são companhias indispensáveis nessa jornada, compartilhando não só materiais de aula, mas histórias de vida.

As amigas Zootecnistas Carolina e Morgana, pelos bons momentos compartilhados no laboratório, sempre dispostas a ajudar com alegria e disposição, sendo exemplo de alunas dedicadas e indagadoras. As antigas colegas e amigas, agora já Médicas Veterinárias, Bruna, Thainã, Débora, Maielli, Amanda, Raquel, Lilian e Ana, por toda a parceria de anos na FAVET e fora dela. Foram muitas risadas e choros compartilhados, além dos materiais e resumos maravilhosos que me ajudaram a chegar até aqui.

Agradeço a todos que de alguma maneira me ajudaram na realização deste trabalho.

“A Medicina cura o homem, a Medicina Veterinária cura a humanidade.”

Luis Pasteur

## **RESUMO**

O queijo colonial pode ser definido como aquele que é produzido em escala reduzida; na maior parte das vezes são utilizados ingredientes naturais, sem o uso de aditivos. O processo é realizado dentro de propriedades rurais, geralmente pela família do agricultor, de modo artesanal, passado de geração para geração. O presente trabalho avalia a qualidade higiênica e sanitária dos queijos Coloniais comercializados em supermercados e feiras livres do Estado do Rio Grande do Sul. Foram realizadas análises microbiológicas (identificação de bactérias, fungos e leveduras), físico-químicas (determinação dos percentuais de gordura, extrato seco desengordurado, sólidos totais, acidez titulável, pH e umidade) em dez amostras de queijo Colonial.

**Palavras-chave:** Queijo Colonial; microbiota; fungos; leveduras; bactérias e físico-químico.

## **ABSTRACT**

Colonial cheese can be defined as one that is produced on a reduced scale; most of the time natural ingredients are used, without the use of additives. The process is carried out within rural properties, usually by the farmer's family, hand made passed from generation to generation. The present work evaluates the hygienic and sanitary quality of the colonial cheeses commercialized in supermarkets and free fairs of the State of Rio Grande do Sul. Microbiological analyzes were performed (identification of bacteria, fungi and yeasts), physical-chemical analyzes (determination of percentages of fat, defatted dry extract, total solids, titratable acidity, pH and moisture) in ten samples of Colonial cheese.

**Key-words:** Colonial Cheese; microbiota; fungi; yeasts; bacteria and physic-chemical.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>7</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>8</b>
<b>2.1 Características gerais dos queijos coloniais.....</b>	<b>8</b>
<b>2.2 Características microbiológicas dos queijos coloniais.....</b>	<b>10</b>
<b>2.3 Características físico-químicas dos queijos coloniais.....</b>	<b>11</b>
<b>3 ARTIGO CIENTÍFICO.....</b>	<b>12</b>
<b>3.1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>3.2MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>14</b>
<b>3.2.1 Coleta de amostras.....</b>	<b>14</b>
<b>3.2.2 Isolamento de microrganismos mesófilos.....</b>	<b>14</b>
<b>3.2.3 Seleção de colônias para identificação.....</b>	<b>14</b>
<b>3.2.4 Identificação dos microrganismos isolados.....</b>	<b>15</b>
<b>3.2.5 Capacidade de se multiplicarem em diferentes temperaturas.....</b>	<b>15</b>
<b>3.2.6 Capacidade de produzirem enzimas proteolíticas e lipolíticas.....</b>	<b>15</b>
<b>3.2.7 Caracterização físico-química dos queijos.....</b>	<b>16</b>
<b>3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>16</b>
<b>3.3.1 Microrganismos isolados.....</b>	<b>16</b>
<b>3.3.2 Capacidade de multiplicação e produção de enzimas líticas em diferentes temperaturas.....</b>	<b>16</b>
<b>3.3.3 Caracterização físico-química dos queijos.....</b>	<b>17</b>
<b>3.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>19</b>
<b>3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>20</b>
<b>4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>26</b>
<b>5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>27</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os queijos com identidade local são comuns em diversas regiões, principalmente na Europa. Os processos produtivos destes produtos são específicos e suas particularidades estão ligadas a cultura local. Para a caracterização de um produto deste tipo é necessário que ele apresente: singularidade, que pressupõe que os diferenciais do produto sejam enraizados na cultura local; rastreabilidade, que possibilita “o contato do consumidor com a ambiência social e cultural do produto na origem”; qualidade, que deve estar associada à base cultural dos produtores e de sua organização social (FLORES, 2006).

Os queijos regionais se tornaram produtos de grande interesse dos consumidores e dos organismos reguladores. No Brasil, diversas iniciativas, principalmente no estado de Minas Gerais, demonstram o potencial tecnológico e econômico destes produtos. No Rio Grande do Sul existem dois grandes movimentos relacionados aos queijos regionais: o do queijo artesanal serrano e do queijo colonial. O queijo serrano já possui regulamento de identidade e qualidade em nível estadual, enquanto que o queijo colonial ainda está em processo de regulamentação (RIO GRANDE DO SUL, 2014; FUNCK et al, 2015).

O queijo colonial pode ser definido como aquele que é produzido em escala reduzida; na maior parte das vezes são utilizados ingredientes naturais, sem o uso de aditivos. O processo é realizado dentro de propriedades rurais, geralmente pela família do agricultor, de modo artesanal, passado de geração para geração (DOS SANTOS et al., 2017).

A diversidade dos processos produtivos e da qualidade da matéria-prima do qual é produzido são observadas devido à variabilidade nas características sensoriais e físico-químicas e microbiológicas destes produtos. Estas variações se devem principalmente as condições e características da microbiota intrínseca e própria do leite e do ambiente de produção e maturação destes queijos, conferindo a eles características únicas (SILVA et al., 2015).

Visando contribuir para os estudos da caracterização do queijo colonial gaúcho, este estudo teve como objetivo isolar, identificar e caracterizar microrganismos cultiváveis presentes nos queijos coloniais comercializados no Rio Grande do Sul, assim como avaliar suas características físico-químicas.

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Características gerais dos queijos coloniais**

Queijos são produtos frescos ou maturados que se obtêm 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 bactérias específicas, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos próprios para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes (BRASIL, 1996).

A fabricação do queijo envolve a coagulação do leite promovida por enzimas ou ácidos adicionados intencionalmente que removem o caseinomacropeptídeo da  $\kappa$ -caseína e as micelas de paracaseína resultantes desta proteólise ficam agregadas formando um gel que tem o fosfato de cálcio como agente de ligação. O gel formado é propenso à separação espontânea, com a expulsão de soro. A expulsão do soro ocorre cortando-se o gel em pedaços e pela agitação da mistura coalhada-soro.

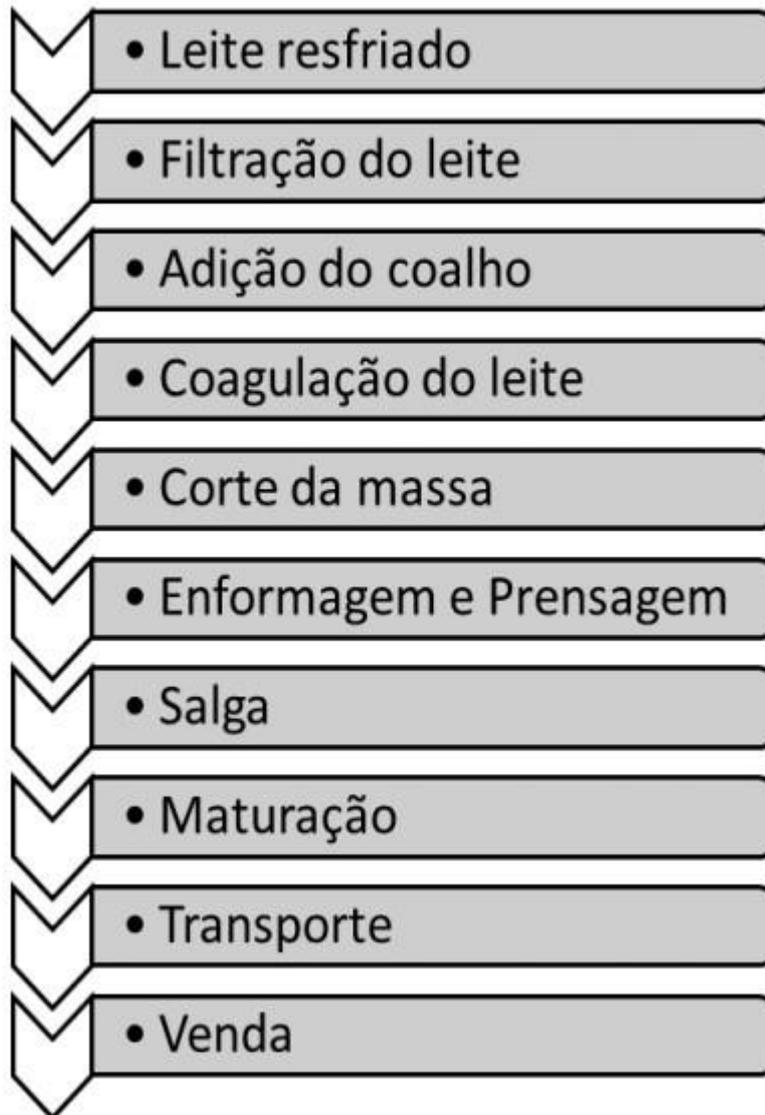
A enformagem visa unir os grãos de massa e dar origem a um só bloco de estrutura homogênea, completar a expulsão de soro, conferir o formato desejado ao queijo e formar a sua casca característica (CAVALCANTE, 2004).

A prensagem deve ser gradual, porque a compressão súbita a altas pressões na superfície dos queijos cria uma casca dura e impermeável, que faz com que a umidade seja retida em bolsas interiores, dentro dos queijos, que favorecem o crescimento de microrganismos indesejados, como patógenos ou deteriorantes (SCOTT, 2002).

De acordo com o tipo de queijo, ele sofre um processo de maturação específico, que é o principal fator determinante de seu sabor e textura típica. A maturação é o processo no qual o queijo, submetido a determinadas condições de umidade relativa e temperatura, sofre uma diminuição nos percentuais de umidade e as gorduras, a lactose e as proteínas passam por transformação conferindo sabor e textura típicos de cada queijo (FOX et al., 2000; WALSTRA, WOUTERS e GEURTS; 2006; BÁNKUTI et al., 2017).

A figura 1 apresenta um fluxograma genérico de fabricação de queijos.

Figura 1 - Fluxograma de Produção de Queijo Colonial



Fonte: FOGUESATTO(2014).

Os queijos coloniais, tradicionalmente, são produzidos a partir do leite cru. Por causa disso, sua maturação torna-se essencial para a sua qualidade, devendo-se assegurar um período de maturação igual ou superior a 60 dias. Porém, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) publicou a Instrução Normativa nº 30, de 2013, que autoriza a fabricação de queijos com leite cru em um período de maturação inferior a 60 dias, desde que as propriedades sejam certificadas como livres de tuberculose e brucelose, além de controle de mastite e um programa de boas práticas de fabricação (BRASIL, 1996; BRASIL, 2013, BÁNKUTI et al., 2017).

A maturação altera a composição química dos queijos, principalmente no que tange a seu conteúdo em água, açúcares, proteínas e lipídios. Conseqüentemente, a microbiota também varia ao longo deste processo, multiplicando-se de acordo com os nutrientes disponíveis. Essa alteração no ambiente o torna menos propício aos microrganismos patogênicos e o queijo, mais seguro. Além disso, o sabor é considerado mais rico e intenso em queijos produzidos com leite cru. Esse fato se deve principalmente à existência de uma variada microbiota intrínseca e própria do leite e do ambiente de produção e maturação destes queijos, conferindo a eles características únicas, a partir da produção de enzimas e outras substâncias passíveis de conferir sabores e aromas (WALSTRA, WOUTERS e GEURTS; 2006; MONTEL et al., 2014).

Queijos coloniais ainda não possuem Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) e suas técnicas de produção não são padronizadas nas propriedades rurais. A não padronização do processo produtivo, aliada a variabilidade da microbiota ao longo do ano e das regiões, tornam os queijos coloniais regionais bastantes diferentes uns dos outros (FUNCK et al., 2015; BÁNKUTI et al., 2017)

## **2.2 Características microbiológicas dos queijos coloniais**

Os grupos de microrganismos presentes no queijo colonial variam bastante. A variabilidade está relacionada à região onde é produzido, a estação do ano, a qualidade do leite utilizado como matéria-prima, o ambiente de produção e maturação, entre outros fatores. As bactérias ácido-láticas (LAB) são bastante prevalentes nos queijos coloniais, sendo responsáveis por suas características sensoriais. Representantes da família Enterobacteriaceae também estão associadas à formação dos sabores e aromas destes queijos (FUNCK et al., 2015; SILVA et al., 2015; WESTLING et al., 2016).

Grande parte dos estudos microbiológicos dos queijos coloniais está relacionada à sua inocuidade, sendo pesquisados microrganismos patogênicos de importância em saúde pública. Detecção de microrganismos como *Staphylococcus aureus*, *Listeriamonocytogenes*, *Salmonellasp.* e coliformes termotolerantes tem sido objetivo de diversos estudos (ROSA et al., 2014; VERRAES et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2016; PERROTO, SCHULTZ e CARDOSO, 2016).

A resolução RDC nº 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001) apresenta, como padrão microbiológico para queijos de média umidade (queijo colonial) limites máximos de  $1,0 \times 10^3$  UFC/g de *Staphylococcus* coagulase positiva,  $1,0 \times 10^3$

NMP/g de coliformes termotolerantes e ausência de *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp em 25 g.

Segundo Wanderley et al. (2013), as espécies patogênicas mais comuns em queijos artesanais produzidos em uma cidade do interior de Santa Catarina são do gênero *Candida* (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei* e *C. glabrata*).

### **2.3 Características físico-químicas dos queijos coloniais**

Os queijos coloniais sofrem variações significativas em suas características físico-químicas em decorrência de diversos fatores, entre eles os processos de elaboração empregados, as condições ambientais, as características da matéria-prima, o tempo de maturação, etc. (FUNCK et al., 2015; SILVA et al., 2015).

O percentual de gordura no queijo sofre grande variação, pois é dependente do percentual de gordura do leite. Já o teor de umidade nos queijos está diretamente ligado ao tempo de maturação, à pressão da prensagem, ao tipo de salga aplicado e à umidade do ambiente de armazenagem. A acidez titulável está relacionada a presença de microrganismos ácido-láticos, que transformam lactose em ácido lático, reduzindo o pH dos queijos e produzindo ácidos. Estudo realizado por LOUVATEL e DEGENHARDT (2016) obteve variação de 14,77% a 32,28% de gordura no queijo colonial amostrado. Já os percentuais de umidade variaram de 31,34% a 47,29% enquanto a acidez titulável variou de 0,036% a 0,225% (WALSTRA, WOUTERS e GEURTS; 2006; QUEIROGA et al., 2009).

### **3 ARTIGO CIENTÍFICO**

# AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS E FÍSICO-QUÍMICAS DE QUEIJOS COLONIAIS COMERCIALIZADOS NA REGIÃO METROPOLITANA DE PORTO ALEGRE/RS

**Resumo:** O queijo colonial pode ser definido como aquele que é produzido em escala reduzida; na maior parte das vezes são utilizados ingredientes naturais, sem o uso de aditivos. O processo é realizado dentro de propriedades rurais, geralmente pela família do agricultor, de modo artesanal, passado de geração para geração. O presente trabalho avalia a qualidade higiênica e sanitária dos queijos Coloniais comercializados em supermercados e feiras livres do Estado do Rio Grande do Sul. Foram realizadas análises microbiológicas (identificação de bactérias, fungos e leveduras), físico-químicas (determinação dos percentuais de gordura, extrato seco desengordurado, sólidos totais, acidez titulável, pH e umidade) em dez amostras de queijo Colonial.

**Palavras-chave:** Queijo Colonial; microbiota; fungos; leveduras; bactérias e físico-químico.

## 3.1 INTRODUÇÃO

Os queijos com identidade local são comuns em diversas regiões, principalmente na Europa. Os processos produtivos destes produtos são específicos e suas particularidades estão ligadas a cultura local. Para a caracterização de um produto como local é necessário que ele apresente: singularidade, que pressupõe que os diferenciais do produto sejam enraizados na cultura local; rastreabilidade, que possibilita “o contato do consumidor com a ambiência social e cultural do produto na origem”; qualidade, que deve estar associada à base cultural dos produtores e de sua organização social (FLORES, 2006).

Os queijos regionais se tornaram produtos de grande interesse dos consumidores e dos organismos reguladores. No Brasil, diversas iniciativas, principalmente no estado de Minas Gerais, demonstram o potencial tecnológico e econômico destes produtos. No Rio Grande do Sul existem dois grandes movimentos relacionados aos queijos regionais: do queijo artesanal serrano e do queijo colonial. O queijo serrano já possui regulamento de identidade e qualidade a nível estadual, enquanto que o queijo colonial ainda está em processo de regulamentação (RIO GRANDE DO SUL, 2014; FUNCK et al, 2015).

O queijo colonial pode ser definido como aquele que é produzido em escala reduzida; na maior parte das vezes são utilizados ingredientes naturais, sem o uso de aditivos. O processo é realizado dentro de propriedades rurais, geralmente pela família do agricultor, de modo artesanal, passado de geração para geração (DOS SANTOS et al., 2017).

As diversidades dos processos produtivos e as relacionadas à matéria-prima do qual é produzido são observadas devido à variabilidade nas características sensoriais e físico-químicas e microbiológicas destes produtos. Estas variações se devem principalmente as condições e características da microbiota intrínseca e própria do leite e do ambiente de produção e maturação destes queijos, conferindo a eles características únicas (SILVA et al., 2015).

Visando contribuir para os estudos da caracterização do queijo colonial gaúcho, este estudo teve como objetivo isolar, identificar e caracterizar microrganismos cultiváveis presentes nos queijos coloniais comercializados na região metropolitana de Porto Alegre/RS, assim como avaliar suas características físico-químicas.

## 3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

### *Caracterização do queijo: Análises microbiológicas e físico-químicas*

**3.2.1 Coleta de amostras:** Foram adquiridos dez queijos coloniais em estabelecimentos comerciais localizados na região metropolitana de Porto Alegre/RS. Os queijos foram embalados individualmente e mantidos em temperaturas inferiores a 10°C até a chegada ao laboratório.

**3.2.2 Isolamento de microrganismos mesófilos:** Imediatamente após a chegada ao laboratório foram feitas diluições decimais das amostras e inoculados 100µL em Ágar de Contagem Padrão (PCA) e as placas foram mantidas a 37°C por 48 horas. Para os bolores e leveduras foram feitas diluições decimais das amostras e inoculados 100µL em ágar batata-dextrose acidificado e acondicionadas em temperatura de 25°C por cinco dias (BRASIL, 1993; SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 2001; BRASIL, 2003; ALFENAS et al., 2009).

**3.2.3 Seleção de colônias para identificação:** Após incubação, dez colônias foram coletadas aleatoriamente de cada uma das placas de contagem a partir de um mapa de quadrantes sobre o qual se depositou a placa. Foram colhidas colônias que se localizavam dentro dos quadrantes definidos por sorteio de acordo com tabela de números aleatórios. As colônias foram então isoladas e testadas para sua pureza em TSA (Agar triptonsoja), segundo Schmidt, Santin e Cardoso (2003).

*3.2.4 Identificação dos microrganismos isolados:* As bactérias e leveduras isoladas foram identificadas utilizando-se espectrometria de massas com ionização por dessorção a laser assistida por matriz (do inglês, *Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization - MALDI*) acoplado a espectrometria de massas em tempo de voo (do inglês, *Time-of-Flight Mass Spectrometry – TOF-MS*). Os isolados foram inoculados em agartriptona de soja (TSA) e incubadas a 37°C durante 48 horas. Colônias isoladas cultivadas no TSA foram selecionadas, transferidas para tubos contendo 300 µL de água ultrapura e adicionadas de 900µL de álcool absoluto (99,9%). O conteúdo foi centrifugado a 12.000g a temperatura de 5 °C por 2 minutos e o sobrenadante descartado. Ao pellet formado foram adicionados 25 µL de ácido fórmico 70% seguido de homogeneização utilizando agitador tipo vórtex. Em seguida foram adicionados 25 µL de acetonitrila seguidos de homogeneização utilizando agitador tipo vórtex e centrifugação a 12.000g a temperatura de 5°C por 2 minutos. Um microlitro do sobrenadante foi aplicado na placa e aguardou-se a secagem a temperatura ambiente. Em seguida foi adicionado 1µL da matriz e aguardou-se a secagem. A matriz consiste em uma solução saturada  $\alpha$ -cyano-4-hydroxy cinnamic acid na concentração de 10 mg/mL preparada em uma solução água:acetonitrila;ácido trifluoroacético (47,5:50:2,5; v/v). Foi utilizado um sistema MALDI-TOF, modelo AutoflexSpeed<sup>®</sup>, utilizando o software de aquisição FlexControl<sup>®</sup> e tratamento de dados através do software Biotyper<sup>®</sup> (Bruker, Alemanha). A avaliação do desempenho do equipamento foi realizada através da calibração de massas utilizando-se de padrões comerciais disponibilizados pelo fabricante, na faixa de avaliação de m/z 2.000-20.000. Para controles positivos foram utilizadas espécies de referência de *Staphylococcus aureus*. Para a interpretação dos resultados, os pontos de corte recomendados pelo fabricante foram utilizados para determinar a identificação segura ao nível de espécie ( $\geq 2.300$ ), identificação segura ao nível de gênero e provável identificação ao nível de espécie (2.000 a 2.299), identificação provável ao nível de gênero (1.700 a 1.999) e sem identificação confiável (<1.699) (ALMUZARA et al., 2015).

Já os bolores foram identificados pela visualização direta das estruturas reprodutivas em microcultivos.

*3.2.5 Capacidade de se multiplicar em diferentes temperaturas:* As bactérias e leveduras isoladas foram avaliadas quanto a sua capacidade de se multiplicar nas temperaturas de 7°±1°C, 25°±1°C e 37°±1°C. Para isso, foram inoculados em TSA e incubados nessas temperaturas por 10 dias, 72 e 48 horas, respectivamente.

*3.2.6 Capacidade de produzir enzimas proteolíticas e lipolíticas:* A capacidade de produzir enzimas proteolíticas foi avaliada inoculando as bactérias e leveduras isoladas em

ágar leite desnatado a 5%. Já a produção de enzimas lipolíticas foi testada através da inoculação dos isolados em ágar tributirina a 1% (BRASIL, 1993).

3.2.7 *Caracterização físico-química dos queijos*: Foram quantificados percentuais de gordura, extrato seco desengordurado, sólidos totais, acidez titulável, pH e umidade, conforme BRASIL (2003). As amostras foram analisadas em duplicata.

### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 *Microrganismos isolados*: Os microrganismos isolados foram identificados pelo sistema MALDI TOF MS e os resultados são apresentados na tabela 1. A bactéria mais prevalente isolada dos queijos coloniais amostrados foi o *Macroccuscaseolyticus*, sendo encontrado em duas das 10 amostras. Callon et al. (2016) observaram que a biodiversidade de bactérias lácticas em queijo feito de leite cru apresentou 41 linhagens de bactérias lácticas, incluindo *Macroccuscaseolyticus*, *Lactococcuslactis*, *Lactococcusgarvieae*, *Leuconostocpseudomesenteroides*, *Leuconostoccitreum*, *Lactobacillus* sp, *Carnobacterium mobile*, *Enterococcusfaecalis*, *Enterococcusfaecium*. Já a levedura mais prevalente foi a *Candidalusitaniae*, sendo isolada em duas das 10 amostras. Em uma pesquisa realizada por Wanderley et al. (2013) foram encontradas diversas cepas de *Candida*, como a *C. parapsilosis*, *C. guilliermondi*, *C. dubliniensis*, *C. kefir* e *C. lusitaniae*. Em relação aos bolores, o mais prevalente foi a *Aspergillusfumigatus*, sendo isolado em três das 10 amostras. Em um estudo realizado por Neto (2005) sobre fungos deteriorantes em queijo parmesão, o gênero *Penicillium* obteve uma frequência relativa de 53,1% e 50 ocorrências, seguido do gênero *Aspergillus* com frequência de 41,3% e 19 ocorrências, seguidos do gênero *Cladosporium* com frequência de 4,5% e 10 ocorrências.

3.3.2 *Capacidade de multiplicação e produção de enzimas líticas em diferentes temperaturas*: As bactérias e leveduras isoladas foram testadas quanto a sua capacidade de se multiplicar e produzir enzimas líticas nas temperaturas de  $37^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,  $25^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$  e  $7^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$  e os resultados são apresentados na tabela 2. Das bactérias e leveduras isoladas a  $37^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ , todas possuíam a capacidade de se multiplicar a  $25^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ , porém nenhuma apresentou a capacidade de se multiplicar a  $7^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Quanto à capacidade de produzir enzimas proteolíticas 72,25% das bactérias foram capazes de produzir enzimas proteolíticas a  $37^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$  e 44,45% a  $25^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ , s resultados estão apresentados na tabela 3. Das leveduras, nenhuma produziu atividade de enzimas proteolíticas. Em relação à produção de enzimas lipolíticas, nenhuma das bactérias ou leveduras testadas foi capaz de produzi-las. Bactérias lipolíticas podem ser consideradas indesejáveis em queijos, pois hidrolisam ou oxidam os lipídios

(McSWEENEY & SOUZA, 2000), podendo causar deterioração. Esta lipólise bacteriana, hidrolisa os triacilgliceróis com a liberação de ácidos graxos e glicerol (FURTADO & CHANDAN, 1983), uma das principais causas do ranço (PERRY, 2004). Bactérias proteolíticas 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 geleificação de leite esterilizado UHT (Ultra High Temperature), e a diminuição 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).

*3.3.3 Caracterização físico-química dos queijos:* As médias dos resultados das análises físico-químicas são apresentadas na tabela 4. A média do pH foi 5,46. Junior et al. (2012) avaliaram diferentes marcas de queijos coloniais comercializados na região sudoeste paranaense e observaram valores médios de pH que variaram entre 3,92 e 5,81. Avaliando queijos na região sudoeste da Bahia, Landim et al. (2001) obteve como resultado, valores de pH 5,36 e 6,54. Já Silva (2008) e Martins et al. (2004) obtiveram valores de pH entre 4,40 a 6,40. Segundo Noronha (2013), a diminuição do pH do queijo, para valores entre 4,5 e 5,5, contribui para a prevenção do crescimento de bactérias patogênicas e da maioria dos microrganismos relacionados na deterioração do queijo.

A acidez média dos queijos foi de 0,13 g de ácido lático/100g. Fariña et al. (2008), analisou a composição de queijos coloniais produzidos no município de Céu Azul no Paraná, e teve como resultado, teores de acidez entre 0,13% e 0,66%. Já Oliveira, Bravo e Tonial (2012), na região sudoeste do Paraná, foram encontrados valores médios entre 0,24 e 1,15% de ácido lático. Existe uma variação de concentração de ácido lático encontrado em cada queijo, que pode variar inclusive, dentro da mesma batelada, devido ao tamanho dos grãos de coalhada cortados, atividade dos cultivos lácticos presentes no leite, quantidade de sal e método de salga, bem como tempo e temperatura dos queijos prensados (SCOTT, 2002).

O teor de gordura médio foi 26,79g/100g. Em um estudo de Lucas et al. (2012), com Queijo Colonial, foram encontrados teores de gordura entre 15,43% e 26,53%. Assim como os resultados encontrados por Tesser (2014), com um intervalo de 22,00% a 30,50%. A composição do queijo varia com a composição do leite do qual é obtido, que pode apresentar diferenças significativas no seu teor de gordura se o leite for coletado pela manhã ou à tarde. Isso pode ser mais relevante nos queijos sem inspeção e com inspeção municipal, os quais, na maioria das vezes, são fabricados com o teor de gordura original do leite ou ainda é feito um

“desnate natural”, através da separação da gordura na superfície devido ao repouso do leite por várias horas, sob refrigeração (COSTA et al, 1992).

A umidade média foi de 56,99%, sendo próxima aos valores encontrados por Lucas et al. (2012), onde as amostras apresentaram conteúdo de umidade entre 46,00 e 54,90 %. Um fator relevante é a diferença de tecnologia entre produtores, com modificações na prensagem, tamanho dos grãos, tamanho dos queijos, teor de sal, o que reflete diretamente no teor de umidade (IDE e BENEDET, 2001).

O teor de sólidos totais médio foi de 43,02%. A média da % sólidos totais foi 43,02. Valores aproximados foram encontrados em um estudo de Gomes et al (2012), onde analisou amostras de queijo artesanais na cidade de Currais Novos – RN, obtendo uma média de 44,20%.

O valor do ESD médio foi de 16,05%. A variação do nível de proteína do leite é o parâmetro que mais influencia na quantidade de extrato seco desengordurado presente no queijo, o que demonstra a importância deste parâmetro para a avaliação do rendimento industrial dos queijos (RENEAU et al., 1991 apud VERZA, 2012).

### 3.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos sobre a caracterização do queijo colonial são fundamentais e permitirão a definição de um padrão de qualidade e, conseqüentemente, sua regulamentação a fim de atender aos requisitos microbiológicos que garantam a proteção da saúde do consumidor. Assinalado a necessidade de mais atenção com relação aos produtos artesanais, de forma a manter a tradição, sem oferecer risco à saúde do consumidor.

### 3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. 2003. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial da União**. Instrução Normativa Nº62, de 26 de agosto de 2003.

CALLON, C.; ARLIGUIE, C.; MONTEL, MC. Controle de *Escherichia coli* produtora de Shigatoxina em queijo por cepas bacterianas lácteas. **Microbiologia de Alimentos**. 2016; 53 Pt B:63-70. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.08.009>.

COSTA, F. M. A.; D'ALESSANDRO W.T.; CARVALHO, A.L.; ROCHA J.M.; TANEZINI, C.A.; PONTES, I.S.; FERREIRA M.L.; SOTÉRIO, N.M.F. Variação do teor de gordura no leite bovino cru. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 5, p. 763-769, mai. 1992.

DOS SANTOS, S., RESSUTTE, J., BÁNKUTI, S., BÁNKUTI, F., POZZA, M., & MADRONA, G. S. Características tecnológicas, de qualidade e potencialidades da cadeia produtiva de queijo colonial na região Sul do Brasil: uma revisão. **FTT Journal of Engineering and Business**, p 1-15, 2017.

FARIÑA, L. O.; KURUMIYA, R.; TAKANO, D.; MOUSQUER, E. C.; FALCONI, F. A.; BUENO, F. G.; FERREIRA, R.; PAEZ, C. M. P.; TAVARES, B.; DALLABRIDA, S. F. Análise de composição e avaliação da acidez do Queijo Colonial produzido por agricultores familiares de Céu Azul (PR). **Anais do 3º Congresso de Ciências Farmacêuticas e 3º Simpósio em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Mercosul**. Cascavel/PR. 2008.

FLORES, M. A identidade cultural do território como base de estratégias de desenvolvimento: uma visão do estado da arte. **InterCambios**, n.64, 2006.

FURTADO, M. M. & CHANDN, R. C. Efeito do teor de gordura na maturação de um queijo por *Penicillium caseicolum*. **Revista do Instituto Cândido Tostes**, v. 38, p. 1983.

- GOMES, A.C. Evolução das características físico-químicas e da maturação em queijo amarelo e queijo picante da beira baixa DOP: Composição, frações azotadas e ácidos gordos livres. **Dissertação de mestrado**. Universidade Técnica de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia. Lisboa, 2012
- IDE, L. P. A.; BENEDET, H. D. Contribuição ao conhecimento do queijo colonial produzido na região serrana do estado de Santa Catarina, Brasil. **Ciência e Agrotecnologia, Lavras**, v. 25, n. 6, p. 1351-1358, nov./dez. 2001.
- JÚNIOR, J.F.S; OLIVEIRA, DF; BRAGHINI, F; LOSS, EMS; BRAVO, CEC; TONIAL, IB. Caracterização físico-química de queijos coloniais produzidos em diferentes épocas do ano. **Revista Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, p. 67-80, 2012.
- LAFARGE, V., OGIER, J. C., GIRARD, V., MALADEN, V. LEVEAU, J. Y., GRUSS, A. & BUCHET, A. D. Mudanças populacionais bacterianas do leite de vaca cru atribuíveis à refrigeração. **Microbiologia Ambiental Aplicada**, v. 70, n. 9, p. 5644-5650, 2004.
- LANDIM, L.B. Caracterização físico-química e bioquímica de queijos Minas Frescal comercializados na região sudoeste da Bahia. **Revista Analytica**, n. 5, 2001.
- LUCAS, Shaiane et al. Padrão de Identidade e Qualidade de Queijos Coloniais Prato, Comercializados na Cidade de Medianeira – PR. **Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, p. 38-44, 2012.
- MARTINS, J.M. et al. Características físico-químicas dos queijos minas artesanais produzidos na região de Araxá. **Revista Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 59, p. 317-320, 2004.
- McSWEENEY, P. L. H. & SOUZA, M. J., 2000. Vias bioquímicas para a produção de compostos aromáticos em queijos durante o amadurecimento: uma revisão. **Lait** 80, 293-324.
- NETO, J. S. C. Bolores deteriorantes em queijo parmesão. 65 p. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2005.

NORONHA, J. F. de. **Segurança alimentar dos queijos tradicionais**. Disponível em:

[http://www.esac.pt/noronha/manuais/seguranca\\_alimentar\\_queijos.pdf](http://www.esac.pt/noronha/manuais/seguranca_alimentar_queijos.pdf). Acesso em 25 de junho de 2018.

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**, v.64, p.521-523, 2012.

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

RIO GRANDE DO SUL. Secretaria de agricultura, pecuária e irrigação. Instrução normativa 7 de 09/12/2014. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Queijo Serrano, conforme o Anexo a esta Instrução Normativa.

SCOTT, R.; ROBINSON, R. K; WILBEY, R. A. **Fabricación de queso**. 2. ed. Zaragoza, ES: Acribia, 2002. 488 p

SILVA, T.V. Caracterização físico-química de queijos tipos Minas Frescal produzidos por pequenos produtores do município de Guarapuava e região. **Salão de Extensão e Cultura**, 2008.

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.

TESSER, I. C. Fabricação artesanal e avaliação química e microbiológica do queijo colonial produzido em municípios do oeste do território de Cantuquiriguaçu – Paraná/Brasil.

**Dissertação de Mestrado em Desenvolvimento Rural Sustentável**. Universidade Estadual do Pará, Marechal Cândido Rondon, Julho, 2014.

VERZA, M. Caracterização do sistema de produção de leite do município de Jupiá – SC. 2012. 110p. **Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas)** - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

WANDERLEY, L. et al. Ocorrência e patogenicidade de candida spp. em queijo não pasteurizado. **Revista Brasileira de Biociência**, Porto Alegre, v. 11, n. 2, p. 145-148, abr./jun. 2013.

ZACHAROV, E. H. & HALPERN, M. Comunidades bacterianas psicotróficas cultiváveis em leite cru e seus traços proteolíticos e lipolíticos. **Microbiologia Aplicada e Ambiental**, Nov. 2007, p. 7162-7168.

Tabela 1: Microrganismos isolados nas amostras de queijos coloniais coletadas no Rio Grande do Sul.

<b>Bactérias isoladas</b>	<b>N</b>	<b>Bolores isolados</b>	<b>N</b>	<b>Leveduras isoladas</b>	<b>N</b>
<i>Enterobacterasburiae</i>	1	<i>Aspergillus</i> sp.	2	<i>CandidaKefir</i>	1
<i>Enterococcusdurans</i>	1	<i>Aspergillusfumigatus</i>	3	<i>Candidalusitaniae</i>	2
<i>Enterococcusfaecalis</i>	1	<i>Cladosporium</i> sp.	1	<i>Candidaorthopsilosis</i>	1
<i>Enterococcusfaecium</i>	1	<i>Fusarium</i> sp.	1	<i>Candidaparapsilosis</i>	1
<i>Klebsiellapneumoniae</i>	1	<i>Penicillium</i> sp.	3	<i>Candidapararugosa</i>	1
<i>Kocuriakristinae</i>	1				
<i>Lactococcusgarvieae</i>	1				
<i>Lactococcuslactis</i>	1				
<i>Macrococccuscaseolyticus</i>	2				
<i>Staphylococcus aureus</i>	1				
<i>Staphylococcuscohnii</i>	1				
<i>Staphylococcusequorum</i>	1				
<i>Staphylococussciuri</i>	1				
<i>Staphylococcusvitulinus</i>	1				
<i>Streptococcusagalactiae</i>	1				

N = Número de amostras na qual o microrganismo estava presente.

Tabela 2: Percentual de bactérias que apresentaram resultados positivos para os testes de crescimento e produção de enzimas líticas nas temperaturas de 37°±1°C, 25°±1°C e 7°±1°C

<b>Teste realizado</b>	<b>% Bactérias isoladas</b>	<b>% Leveduras isoladas</b>
Crescimento a 37°C	100	100
Crescimento a 25°C	100	100
Crescimento a 7°C	0	0
Proteólise a 37°C	72,25	0
Proteólise a 25°C	44,45	0
Proteólise a 7°C	0	0
Lipólise a 37°C	0	0
Lipólise a 25°C	0	0
Lipólise a 7°C	0	0

Tabela 3: Bactérias capazes de produzir enzimas proteolíticas a 37°C e a 25°C

<b>Bactérias</b>	<b>Proteólise A 37°C</b>	<b>Proteólise A 25°C</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	P	N
<i>Lactococcus lactis</i>	P	P
<i>Staphylococcus cohnii</i>	P	N
<i>Kocuriakristinae</i>	P	N
<i>Macroccoccus caseolyticus</i>	P	P
<i>Streptococcusagalactiae</i>	P	N
<i>Enterococcus durans</i>	P	P
<i>Enterococcus faecalis</i>	P	P
<i>Enterococcus faecium</i>	N	P
<i>Lactococcus garvieae</i>	P	P

Tabela 4: Média dos resultados das análises físico-químicas das amostras avaliadas

<b>Parâmetro avaliado</b>	<b>Média</b>
pH	5,46
Acidez g ác.lático/100g	0,13
%gordura	26,79
%umidade	56,99
%sólidos totais	43,02
%ESD	16,025

#### **4 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Queijos coloniais ainda não possuem Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) e suas técnicas de produção não são padronizadas nas propriedades rurais. A não padronização do processo produtivo, aliada a variabilidade da microbiota ao longo do ano e das regiões, tornam os queijos coloniais regionais bastantes diferentes uns dos outros. Desta forma, é muito importante a elaboração de um regulamento técnico de identidade e qualidade do queijo colonial, sendo este amplamente comercializado e consumido não só no estado do Rio Grande do Sul, mas no restante da região Sul do Brasil. Assim se tornaria mais simples avaliá-lo quanto a sua inocuidade, bem como a padronização do seu processo de fabricação, com conseqüente padronização do produto, uma vez que houve variação entre a maioria dos aspectos físico-químicos avaliados, interferindo diretamente na composição, sabor, aroma e textura final deste tipo de queijo.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, S.H.O.M. do. Influência da espécie bacteriana e da temperatura da amostra no teste de redutase para leite, com azul de metileno e rezasurina.1985. 104 f. **Dissertação (Mestrado em MicrobiologiaAgrícola)** - Escola Superior de Agricultura Luiz deQueiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

AMBROSINI, L.B. Sistema agroalimentar do queijo serrano: estratégia de reprodução social dos pecuaristas familiares no sul do Brasil – RS. 2007.**Dissertação (mestrado em desenvolvimento rural)** – Pós-graduação em desenvolvimento rural, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre 2007.

AMBROSINI, L.B.; FILIPPI, E.E. ‘Território’, um diálogo multidisciplinar, a partir da economia-ecológica, na legitimação de sistemas de produção territoriais em áreas rurais marginalizadas. **In: CONGRESO EUROPEO DE LATINOAMERICANISTAS, 5, Bruxelas. Anais...** Bruxelas: CEISAL, 2009.

ANVISA – **Monitoramento e Prevenção da Resistência Microbiana em Serviços de Saúde**, Brasília, 2006.

BEZERRA, J. M. R. V. **Tecnologia de Fabricação de Derivados do Leite**. Guarapuava. UNICENTRO. 2008. 55 Pag.

BOOR, K. J. Pathogenic microorganisms of concern to the dairy industry.**Dairy, Food and EnvironmentalSanitation**, Ames, v.17, n.11, p.714-717, 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 jan. 2001. Seção 1.

CAVALCANTE, F. de M. Produção de queijos Gouda, Gruyére, Mussarela e Prato. 2004. 111 p. **Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos)**. Universidade Católica de Goiás. Goiânia, 2004.

CRUZ, F.T. Produtores, consumidores, e valorização de produtos tradicionais: um estudo sobre qualidade de alimentos a partir do caso do queijo serrano dos campos de cima da serra – RS. **Tese de doutorado**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS. 2012.

DOS SANTOS, S., RESSUTTE, J., BÁNKUTI, S., BÁNKUTI, F., POZZA, M., & MADRONA, G. S. (2017). Características tecnológicas, de qualidade e potencialidades da cadeia produtiva de queijo colonial na região Sul do Brasil: uma revisão. **FTT Journal of Engineering and Business**, 1(2).

FOGUESATTO, C. R.; REVILLION, J. P. P.; BADEJO, M. S.; SAUL da ROSA, A. H. Análise de Viabilidade Econômico-Financeira de uma Agroindústria Familiar para a Produção de Queijo Tipo Colonial. III Fórum Internacional Ecoinovar. Anais... 2014.

FLORES, M. A identidade cultural do território como base de estratégias de desenvolvimento: uma visão do estado da arte. **InterCambios**, n.64, 2006.

GOMES, A.C. Evolução das características físico-químicas e da maturação em queijo amarelo e queijo picante da beira baixa DOP: Composição, frações azotadas e ácidos gordos livres. **Dissertação de mestrado**. Universidade Técnica de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia. Lisboa, 2012

HOFFMANN, F. L. Fatores limitantes à proliferação de micro-organismos em alimentos. **Brasil Alimentos**. v. 9. p. 14-23. 2001.

HOSKEN, F.S.; FURTADO, M.M. **Tecnologia de fabricação de queijos**. 3.ed. Juiz de Fora: EPAMIG, 1983. 215 p.

IDE, L.P.A.; BENEDET, H.D. Contribuição ao conhecimento do queijo colonial produzido na região serrana do estado de Santa Catarina. **Ciência e Agrotecnologia, Lavras**. Vol. 25, n.6, p.1351 -1358. 2001.

LOUVATEL, K.; DEGENHARDT, R. Caracterização bromatológica de queijos coloniais produzidos no distrito de Santa Lúcia, município de Ouro, SC. **Jornada Integrada de Biologia**, v. 3, p. 37–46, 2016.

LUCAS, S.D.M. et al. Padrão de identidade e qualidade de queijos colonial e prato, comercializados na cidade de Medianeira- PR. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Minas Gerais, v. 67, 2012.

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

RIO GRANDE DO SUL. Secretaria de agricultura, pecuária e irrigação. Instrução normativa 7 de 09/12/2014. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Queijo Serrano, conforme o Anexo a esta Instrução Normativa.

SCHMIDT, V, SANTIN, K., CARDOSO M.R.I. **Caracterização da microbiota mesófila aeróbia isolada de um Sistema de lagoas de estabilização para tratamento de dejetos suínos**. *Acta Scientiae Veterinariae*. V.31. n.3. p. 179 – 184. 2003.

SCHNEIDER, R.N. Análise microbiológica e do sistema produtivo do queijo serrano produzido no município de Cambará do Sul/RS. **Monografia de TCC**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, 2009. 60f.

SCOTT, R. **Fabricación de queso**. 2 edição, Zaragoza- Espanha, 2002.

TAMANINI, R.; SILVA, L. C. C.; MONTEIRO, A. A.; MAGNANI, D. F.; BARROS, M. A. F.; BELOTI, V. Avaliação da qualidade microbiológica e dos parâmetros enzimáticos da pasteurização de leite tipo “C” produzido na região norte do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 449-454, jul./set. 2007.

TEIXEIRA, R.D. O queijo artesanal serrano em São Francisco de Paula (RS): Das especialidades da produção local aos limites da comercialização. **Monografia de TCC**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Economia, 2011. 39f.

TRONCO, V.M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. 4. ed. Santa Maria: Editora UFSM, 2010. 203 p.

WALSTRA, P., WOUTERS, J. T. M., & GEURTS, T. J. (2006). **Dairy Science and Technology** (2nd ed., Vol. 4). Boca Raton, FL: CRC Press

WANDERLEY, L. et al. Ocorrência e patogenicidade de *Candida* spp. em queijo não pasteurizado. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 11, n. 2, p. 145-148, abr./jun. 2013.

ZOCHE, F.; BESSOT, L. S.; VARCELLOS, V. C.; PARANHOS, J. K.; ROSA, S. T. M.; RAYMUNDO, N. K. Qualidade microbiológica e físico-química do leite pasteurizado produzido na região oeste do Paraná. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v.7, n.2, p.59-67, 2002.