



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**RELATÓRIO DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO), REALIZADO NO
LABORATÓRIO DE INSPEÇÃO DE CARNE E LEITE E
NO LATICÍNIO D'ITÁLIA INDÚSTRIA E COMÉRCIO**

Thamyris Gracinda Peres Khoury de Souza Mello

Recife, 2018



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**RELATÓRIO DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO), REALIZADO NO
LABORATÓRIO DE INSPEÇÃO DE CARNE E LEITE E
NO LATICÍNIO D'ITÁLIA INDÚSTRIA E COMÉRCIO**

Trabalho realizado como exigência parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Medicina Veterinária, sob orientação da Prof^a. Dr^a. Maria Betânia de Queiroz Rolim.

Recife, 2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

M527r Mello, Thamyris Gracinda Peres Khoury de Souza..
Relatório do estágio supervisionado obrigatório(ESO), realizado
no laboratório de inspeção de carne e leite e no Laticínio D'Itália
indústria e comércio / Thamyris Gracinda Peres Khoury de Souza
Mello. - Recife, 2018.
42 f.: il.

Orientador(a): Maria Betânia de Queiroz Rolim.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação). – Universidade
Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina
Veterinária, Recife, BR-PE, 2018.
Inclui referências e apêndice(s).

1. Leite UAT 2. Análises laboratoriais 3. Queijo Minas frescal –
Processamento I. Rolin, Maria Betânia de Queiroz, orient. II. Título

CDD 636.089



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

**RELATÓRIO DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO), REALIZADO NO
LABORATÓRIO DE INSPEÇÃO DE CARNE E LEITE E
NO LATICÍNIO D'ITÁLIA INDÚSTRIA E COMÉRCIO**

Relatório elaborado por

Thamyris Gracinda Peres Khoury de Souza Mello

Aprovado em 14 /08/ 2018

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria Betânia de Queiroz Rolim
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

Prof. Dr. José do Egito de Paiva
Departamento de Tecnologia Rural da UFRPE

Profa. Dra. Elizabeth Sampaio de Medeiros
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

AGRADECIMENTOS

A Deus por sempre guiar meus passos dando muita força e coragem para concluir minha graduação.

Aos meus pais, Maura e Humberto, por sempre me apoiarem, investirem em minha educação, pelo amor e pelo carinho, que sempre foi fundamental para formação do meu ser, além de serem os maiores incentivadores para que eu sempre corra atrás dos meus objetivos.

Aos meus irmãos, Laryssah, Humberto, Rachel e Pamella e ao meu namorado Felipe, pelo carinho, pelos momentos de descontração e pela paciência, esta última principalmente quando estava estudando para alguma prova ou me dedicando ao presente trabalho.

Aos presentes que Deus colocou em minha vida, os meus peludos, Toby, Billy, Dara, Minnie (que infelizmente me deixaram ao longo da graduação) e Polly, Jade, Lua e Zothan que continuam iluminando meus dias e tornando a vida mais leve e feliz, minha eterna gratidão.

A minha orientadora, professora Dr^a Maria Betânia, por toda amizade, apoio, incentivo, aprendizado e por sempre me mostrar que sou capaz de fazer tudo aquilo que eu quiser. Você professora se tornou parte da minha vida, e pretendo carregá-la comigo para sempre.

A minha querida amiga Gianniny, uma amizade que tinha tudo para dar errado, mas que no fim foi uma das melhores coisas que a graduação me trouxe e que eu levarei para vida.

Aos demais colegas e amigos de graduação, obrigada pelas risadas, por compartilhar os momentos tristes, em especial: Bárbara, Mariana, Brenda, Wyrlla, Lais, Kássia, Lara, Davi, Larissa e Bruno. Outra pessoa especial que nos deixou ao longo da jornada para seguir outros caminhos, mas que é uma grande amiga minha Thayná, obrigada por mesmo distante sempre se fazer presente.

Um agradecimento especial para Dona Rosa, por me deixar estagiar no Laticínio D' Itália Indústria e Comércio, onde pude acompanhar todas as etapas de produção dos queijos.

Aos meus colegas de laboratório: Veriane, Diana, Thiago, Paulina, Clara e também a técnica Goretti, por toda a ajuda na parte prática do meu ESO, pela amizade, pelos momentos de descontração e também de aprendizado mútuo.

Ao amigo e médico veterinário dos meus peludos Dr Rodrigo Severiano, por todo apoio, ajuda e incentivo tanto na minha vida profissional, quanto zelando pela saúde e bem-estar dos meus animais.

Enfim, gratidão define o sentimento por cada um que me ajudou a chegar até aqui!!!

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Parâmetros físico-químicos para leite UHT	5
Quadro 2	Critérios microbiológicos para leite UHT	6

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Destino do leite no Brasil	2
Figura 2	Homogeneização da diluição 10^{-1} no "Vortex"	9
Figura 3	Semeio de 1 mL de cada diluição em placa de Petri descartável	10
Figura 4	Adição de cerca de 20 mL de PCA nas placas de Petri contendo as respectivas diluições	10
Figura 5	Placas em superfície plana para solidificação do meio de cultura	11
Figura 6	Procedimentos de coloração de Gram.....	12
Figura 7	Teor de gordura do leite UHT pelo método de Gerber	13
Figura 8	Titulação da amostra com solução Dornic e aparecimento de coloração rósea comparada com uma amostra de leite	14
Figura 9	Fórmula para calcular a acidez do leite fluído em graus Dornic	14
Figura 10	Agitação dos tubos de ensaio contendo a mistura do leite com álcool etílico a 68% vv	15
Figura 11	Fórmulas utilizadas para calcular extrato seco total e desengordurado	16
Figura 12	Fluxograma do processo de produção do queijo Minas Frescal	20
Figura 13	Agitação do leite após adição da quimosina	22
Figura 14	Formação de cubos de tamanho uniforme	23
Figura 15	Mexedura dos cubos com a lira	24
Figura 16	Enformagem da massa do queijo Minas Frescal.....	25
Figura 17	Queijo Minas Frescal na fôrma após seu processo de viragem.....	26
Figura 18	Embalagem à vácuo do queijo Minas Frescal	27

RESUMO

O Trabalho de Conclusão de Curso teve como objetivos descrever as análises físico-químicas e microbiológicas para leite integral submetido ao tratamento de ultra alta temperatura (UAT), e acompanhar todas as etapas da produção do queijo Minas frescal. As atividades ocorreram no período de 18 de abril de 2018 a 05 de julho de 2018, no Laboratório de Inspeção de Carne e Leite (LICAL) da UFRPE, localizado em Recife (PE), sob supervisão da Professora Dr^a. Maria Betânia de Queiroz Rolim; e no Laticínio D'Itália Indústria e Comércio, localizado em Cabo de Santo Agostinho (PE), com a supervisão da gerente geral e proprietária Rosa Di Francesco. Todas as atividades foram realizadas no decorrer da disciplina 08525- Estágio Supervisionado Obrigatório do Curso de Bacharelado em Medicina Veterinária, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, sob orientação da Professora Dr^a Maria Betânia de Queiroz Rolim. O estágio proporcionou um conhecimento técnico e prático da rotina de um laboratório de análises e também uma experiência acerca da rotina do funcionamento de uma indústria voltada para produção de queijos.

Palavras-chave: Leite UAT; Análises laboratoriais; Queijo Minas frescal; Processamento.

ABSTRACT

The objective of this study was to describe the physicochemical and microbiological analyzes for whole milk submitted to the ultra high temperature treatment (UAT) and to follow all stages of the Minas frescal cheese production. The activities took place from April 18, 2018 to July 5, 2018, at the Laboratory of Inspection of Meat and Milk (LICAL) of UFRPE, located in Recife (PE), under the supervision of Professor Dr^a. Maria Betânia de Queiroz Rolim; and in the dairy D'Italia Indústria e Comércio, located in Cabo de Santo Agostinho (PE), under the supervision of general manager and owner Rosa Di Francesco. All activities were carried out during the course 08525 - Compulsory Supervised Internship of the Bachelor's Degree in Veterinary Medicine, Federal Rural University of Pernambuco, supervised by teacher Maria Betânia de Queiroz Rolim. The internship provided a technical and practical knowledge of the routine of an analysis laboratory and also an experience about the routine of the operation of a cheese production industry.

Key words: UHT milk; Laboratory analyses; Minas Frescal cheese; Processing.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	1
	CAPÍTULO I	4
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1.	Leite UHT	4
2.2.	Origem do leite UHT	4
2.3.	Mercado do leite no Brasil	4
2.4.	Composição e requisitos para leite UHT	5
2.5.	Critérios microbiológicos para o leite UHT	6
2.6.	Rotulagem	6
3.	DESCRIÇÃO DO LOCAL DO ESO	7
4.	ATIVIDADES DESENVOLVIDAS	7
4.1.	Coleta das amostras	7
4.2.	No LICAL	7
*	DESCRIÇÃO DAS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	8
4.2.1.	Esterilização e preparo do meio de cultura	8
4.2.2.	Preparo das amostras	8
4.2.3.	Preparo das diluições	9
4.2.4.	Contagem em placas	11
4.2.5.	Procedimentos de coloração de Gram	11
*	DESCRIÇÕES DAS ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	12
4.2.6.	Avaliação do percentual de lipídios pelo método butirométrico para leite fluído	12
4.2.7.	Acidez titulável de leite fluído	13
4.2.8.	Teste de estabilidade ao álcool etílico	15
4.2.9.	Densidade e Extrato Seco Desengordurado (ESD)	15
	CAPÍTULO II	17
5.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
5.1.	Queijo Minas Frescal	17
5.2.	Histórico do queijo Minas Frescal	17

5.3.	Composição e aspecto de qualidade do queijo Minas Frescal	18
5.4.	Boas práticas de fabricação (BPF) no laticínio	18
6.	DESCRIÇÃO DO LOCAL DO ESO	19
7.	ATIVIDADES DESENVOLVIDAS	20
7.1.	No laticínio	20
7.1.1.	Pasteurização da matéria-prima	20
7.1.2.	Preparo do leite para coagulação	21
7.1.3.	Ponto de corte da massa	22
7.1.4.	Mexedura e dessora	23
7.1.5.	Salga	24
7.1.6.	Enformagem	24
7.1.7.	Embalagem	26
7.1.8.	Armazenamento	27
8.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	28
9.	REFERÊNCIAS	29

1. INTRODUÇÃO

O leite é definido como o produto proveniente da ordenha plena e ininterrupta, em condições higiênicas, de vacas saudáveis, bem alimentadas e descansadas. O leite das demais fêmeas mamíferas deverão denominar-se segundo a espécie do qual proceda (BRASIL, 2017). Dessa forma, o leite de outros animais, que não sejam bovinos, será especificado no rótulo da embalagem do produto (EBING et al., 2005).

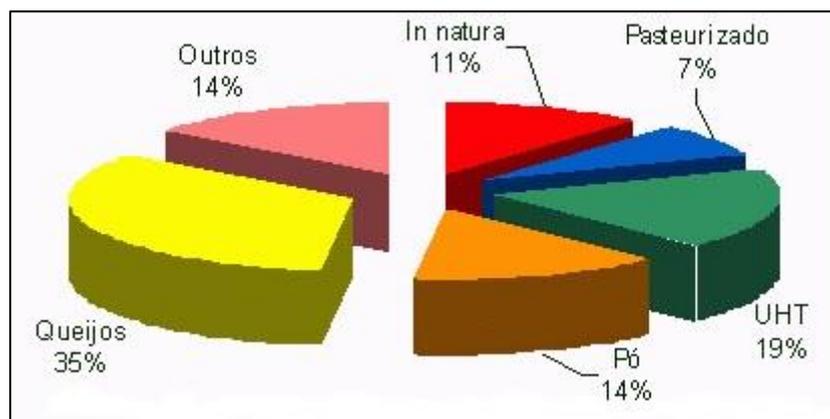
Do ponto de vista biológico o leite é descrito como o produto da secreção das glândulas mamárias de fêmeas mamíferas (TRONCO, 2008). E em relação ao seu aspecto físico-químico é caracterizado como sendo uma emulsão de glóbulos de gordura e uma suspensão de micelas de caseína em uma fase aquosa, possuindo solubilizadas moléculas de lactose, proteínas do soro do leite e alguns minerais (GONZÁLEZ et al., 2001).

Vários são os componentes do leite, sendo a água o que apresenta maior proporção e os demais são formados principalmente por gordura, proteínas e carboidratos, todos sintetizados pela glândula mamária. Existem também outras substâncias em menor quantidade como os minerais, os compostos hidrossolúveis transferidos diretamente do plasma sanguíneo, proteínas específicas do sangue e traços de enzimas. Devido a essa composição completa e balanceada, o leite acaba sendo um substrato ideal para o desenvolvimento de diversos microrganismos que podem provocar alterações e sua contaminação, inviabilizando dessa forma o seu consumo direto (TRONCO, 2008).

Segundo Tronco (2008), por ser um alimento altamente perecível, um dos cuidados a ser tomado logo após a obtenção do leite é submetê-lo imediatamente ao resfriamento a 5° C e posteriormente a um tratamento térmico, como por exemplo, a pasteurização. Esse processamento térmico pode ser feito de duas formas: o lento e o rápido. No lento, o leite é aquecido entre 63° C a 65° C, por 30 minutos, enquanto que no rápido o leite é submetido a uma temperatura entre 72° C a 75° C durante 12 a 15 segundos e sendo imediatamente resfriado em ambos os casos para uma temperatura de 4° C (SILVA, 2005; BRASIL, 2017).

De acordo com a EMBRAPA (2016), o Brasil é o quarto maior produtor de leite de vaca no mundo, e seu destino encontra-se na Figura 1.

Figura 1: Destino do leite disponível no Brasil



Fonte: Diário Verde, 2017

Os maiores destaques para o destino do leite são o tratamento térmico de ultra alta temperatura (UAT ou do inglês “Ultra High Temperature” - UHT), para o consumo humano direto e a fabricação de queijos. Segundo Tronco (2008), o leite UHT é também denominado de leite longa vida, o qual é submetido a uma temperatura de 130° C a 150° C, por dois a quatro segundos, seguidos de um rápido resfriamento para uma temperatura inferior a 32° C, com subsequente homogeneização asséptica, a fim de reduzir o tamanho dos glóbulos de gordura na porção aquosa do leite, evitando a coalescência da gordura e posterior envase asséptico.

Esse procedimento tem como objetivo a utilização de um tratamento térmico rápido, capaz de eliminar os microrganismos em fase vegetativa e esporulada, mantendo as características nutricionais do leite com mínimas alterações e também garantindo uma extensa validade comercial sem refrigeração, mantendo o produto com características físicas, químicas, sensoriais e bacteriológicas aceitáveis (FRANCO, 2008).

Já em relação à produção dos diferentes tipos de queijos no Brasil, destaca-se o queijo Minas frescal, o qual é o terceiro mais consumido no país ficando atrás apenas do queijo muçarela e do queijo prato (FILHO, 2010).

O queijo Minas frescal é de grande interesse para as indústrias de laticínios por ter um elevado rendimento, variando em torno de 5 e 7 litros de leite por quilograma de queijo, resultando em um rápido retorno do investimento, preços mais

acessíveis e uma grande aceitabilidade pelos consumidores (HOFFMANN et al., 2002). É classificado como um queijo fresco, devido ao seu alto teor de umidade, por ser processado em temperaturas entre 32°C a 35° C, não ser submetido à cura e por apresentar uma baixa percentagem de sal. Por ser um produto perecível é susceptível aos fenômenos bioquímicos e microbiológicos que afetam suas características de rendimento, qualidade e durabilidade, apresentando assim uma vida de prateleira curta, mesmo sendo submetido às condições de refrigeração adequadas (CARVALHO et al., 2010).

Neste contexto, diante do cumprimento da disciplina 08525- Estágio Supervisionado Obrigatório do Curso de Bacharelado em Medicina Veterinária, o Trabalho de Conclusão de Curso teve como objetivos descrever todas as etapas das análises físico-químicas e microbiológicas para leite integral submetido ao tratamento de ultra alta temperatura (UAT), e acompanhar todas as etapas do processo produtivo do queijo Minas frescal.

CAPÍTULO I

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Leite UHT

É definido como o leite homogeneizado que foi submetido a temperatura entre 130 ° C e 150° C, por período de 2 a 4 segundos, por meio do térmico de fluxo contínuo, imediatamente resfriado a temperatura inferior a 32° C e envasado sob condições assépticas em embalagens estéreis e hermeticamente fechadas. É classificado de acordo com seu conteúdo de matéria gorda em leite UHT: integral, semidesnatado ou desnatado, sendo estas também suas denominações de venda, podendo ser acrescentadas as expressões “longa vida” e/ou “homogeneizado” (BRASIL, 1997).

2.2. Origem do leite UHT

Com o final da Segunda Guerra Mundial e visando facilitar o abastecimento do leite, Ruben Rausing, um economista sueco e fundador da empresa Tetrapak, desenvolveu a primeira embalagem cartonada com formato tetraédrico, cujo processo de envase utilizava a selagem da embalagem. O primeiro produto embalado e comercializado por essa tecnologia foi o creme de leite, seguido pelo leite pasteurizado. Por volta de 1961, foi implementado o processo de ultra-pasteurização e assepsia das embalagens, permitindo assim a obtenção de um leite que não necessitava de refrigeração e nem conservantes para seu armazenamento. Este, portanto, foi denominado de leite UHT ou longa vida, o qual pôde ser caracterizado como um dos mais recentes avanços tecnológicos da indústria de alimentos, revolucionando a distribuição de leite e aumentando seu tempo de vida útil por até 4 meses, mantendo suas características sensoriais intactas e estando apto para o consumo (TETRAPAK, 2010).

2.3. Mercado do leite no Brasil

A produção de leite no Brasil cresceu 150% nos últimos 25 anos, onde Minas Gerais é o maior produtor, seguido por Rio Grande do Sul, Goiás, Paraná e Santa Catarina. Diante deste cenário, a indústria de laticínios acaba apresentando um grande potencial para exportação de leite e derivados, tendo em vista que as

exportações aumentam em grande proporção a cada ano, mostrando-se um mercado promissor (ROTTA, 2008).

O leite UHT tem uma penetração de 80% nos domicílios, e isso se deve ao fato do leite envasado apresentar uma alta qualidade e segurança alimentar, maior praticidade para atender aos estilos de vida dos consumidores cada vez mais ocupados e em constante deslocamento (TETRAPAK, 2010).

2.4. Composição e requisitos para leite UHT

O leite UHT deve apresentar como componente obrigatório o leite de vaca e como ingrediente opcional o creme. Para o produto é permitido o uso de aditivos e coadjuvantes de tecnologia/elaboração como os seguintes estabilizantes: citrato de sódio, monofosfato de sódio, difosfato de sódio, trifosfato de sódio, separados ou em associação, em quantidade não superior a 0,1 g/100 mL expressos em P_2O_5 . Esse leite deve apresentar aspecto líquido, cor branca e odor e sabor característicos, além de respeitar os parâmetros físico-químicos mínimos de qualidade conforme o Quadro 1 (BRASIL, 1997).

Quadro 1: Parâmetros físico-químicos para leite UHT

Requisitos	Leite Integral	Leite Semi ou Parcialmente Desnatado	Leite Desnatado	Métodos de Análises
Matéria Gorda % m/v	Min. 3,0	0,6 a 2,9	Máx. de 0,5	FIL 1C: 1987
Acidez g ac láctico/100ml	0,14 a 0,18	0,14 a 0,18	0,14 a 0,18	AOAC 15 ed. 947.05
Estabilidade ao etanol 68% (v/v)	Estável	Estável	Estável	FIL 48: 1969
Extrato seco desengordurado % (m/m)	Min. 8.2	Min. 8.3	Min. 8.4	FIL 21B: 1987

Fonte: Brasil, 1997

Segundo Brasil (2006), o leite UHT deve ser submetido as análises físico-químicas de avaliação de percentual de gordura pelo método de Gerber, acidez titulável para leite fluído, teste de estabilidade ao álcool e determinação do extrato seco desengordurado a partir da densidade e percentual de gordura, para garantir que o consumidor final esteja adquirindo um produto próprio para o consumo humano e que esteja de acordo com o que é preconizado na legislação vigente.

Dessa maneira, o leite UAT após embalado e submetido a incubação na temperatura de 37° C por 7 dias deverá obedecer aos seguintes critérios: não poderá sofrer alterações que modifiquem a embalagem, deve ser estável ao etanol a 68% vv, a acidez não pode ultrapassar 0,02g de ácido láctico/100mL em relação a acidez sem incubação e não pode haver modificação alguma das características sensoriais. O acondicionamento desse tipo de produto deve ser feito com materiais adequados, previamente esterilizados e que garantam hermeticidade e proteção apropriada contra agentes contaminantes (BRASIL, 1997).

2.5. Critérios microbiológicos para o leite UHT

O leite UAT não pode conter microrganismos capazes de se multiplicar em condições usuais de armazenamento e distribuição, para isso embalagens fechadas e incubadas em estufa a uma temperatura entre 35° C a 37° C por 7 dias devem obedecer aos critérios microbiológicos apresentados na Quadro 2 (BRASIL, 1997).

Quadro 2: Critérios microbiológicos para leite UHT

Requisito	Critério de Aceitação	Categoria(ICMSF)	Método de Análise
Aeróbios Mesófilos/ml	n=5 c=0 m=100	10	FIL 100B: 191

Fonte: Brasil, 1997

De acordo com Brasil (2003), a análise microbiológica do leite UHT é feita por meio da técnica de semeio “*Pour plate*” ou inoculação em profundidade, fazendo uso das amostras do leite diluídas em água peptonada e cultivadas no “*Plate Count Agar*” (PCA ou ágar padrão) e os resultados das contagens de microrganismos mesófilos aeróbios viáveis, após 48 horas de incubação em estufa a 37° C, devem ser expressos em UFC/mL.

2.6. Rotulagem

No rótulo da embalagem do leite UHT deverá conter as seguintes informações: “leite UHT (UAT) integral”, “leite UHT (UAT) desnatado”, “leite UHT (UAT) semidesnatado ou parcialmente desnatado”, segundo o tipo de produto correspondente. Deverá vir indicado ainda, no caso do leite semidesnatado a percentagem de matéria gorda que apresenta. Poderá se utilizada na embalagem as expressões “Longa Vida” e/ou “Homogeneizado” (BRASIL, 1997).

3. DESCRIÇÃO DO LOCAL DO ESO

O estágio supervisionado obrigatório foi realizado em dois locais, o primeiro foi no Laboratório de Inspeção de Carne e Leite (LICAL), localizado na Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n - Dois Irmãos, Recife - PE, no Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Esse foi o local de realização da maior parte da carga horária, 400 horas, durante o período de 18/04/18 a 05/07/18, excetuando-se as segundas-feiras de atividade no laticínio, sob supervisão da Médica Veterinária, professora doutora Maria Betânia de Queiroz Rolim.

O LICAL é um laboratório voltado para o desenvolvimento de projetos de pesquisa e extensão e onde são realizadas as aulas práticas das disciplinas de inspeção de leite e carne. Ele conta com uma técnica responsável por sua organização e com uma equipe de professoras que o coordenam e orientam alunos de graduação e pós graduação na realização de suas atividades de pesquisa.

4. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

4.1. Coleta das amostras

Foram coletadas um total de 60 amostras, correspondentes a seis lotes diferentes, representados por quatro marcas distintas de leite integral submetido ao processo de ultra- alta temperatura (UAT). As amostras foram obtidas na região do Sertão do São Francisco-PE, e encaminhadas ao LICAL para realização das análises previstas pela legislação.

4.2. No LICAL

As atividades realizadas durante o período do ESO consistiram em fazer as análises microbiológicas e físico-químicas do leite UHT, de acordo com o preconizado pela Legislação. Dentre as atividades desenvolvidas estão: a esterilização dos materiais, preparo de meios de cultura, das amostras, de diluições das amostras, contagem em placas, coloração de Gram, avaliação do percentual de matéria gorda, da acidez, teste de estabilidade ao etanol, densidade e cálculo do extrato seco desengordurado.

- **DESCRIÇÃO DAS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS**

4.2.1. Esterilização e preparo do meio de cultura

Para esterilização das vidrarias, foi utilizado o calor úmido, em autoclave com uma temperatura de 121° C por 15 minutos. Todos os materiais eram previamente embalados, identificados e fixados com fita para autoclave, assegurando assim a esterilização correta dos mesmos. Nesses casos a utilização de calor em ambiente úmido é um dos métodos mais eficazes para destruição de microrganismos, pois provoca a morte das células microbianas por desnaturação das proteínas e consequente desestabilização da membrana citoplasmática.

O meio de cultura ágar padrão (“Plate Count Agar”- PCA) era preparado de acordo com a demanda de amostras de leite a serem analisadas, onde para cada 1 L de água destilada era adicionado 23,5 g do meio, passando por aquecimento e agitação até dissolução completa do mesmo e em seguida sendo autoclavado a 121° C por 15 minutos. Era acondicionado na geladeira, e quando utilizado passava por aquecimento no micro-ondas e ficava acondicionado em banho-maria a 46° C para manter sua forma líquida.

A água peptonada era produzida de acordo com a quantidade de amostras de leite a serem processadas, onde era preparada em Erlenmeyer na proporção de 0,1 %, submetida a agitação para total diluição dos grãos em água destilada e era distribuída cerca de 9 mL em tubos de ensaio com tampa e posteriormente submetidos a autoclavagem. Os tubos ficavam armazenados sob refrigeração e quando utilizados eram retirados até atingir a temperatura ambiente.

4.2.2. Preparo das amostras

A cada semana era trabalhado um lote das amostras coletadas, cada lote representava 10 amostras, dessas 5 eram incubadas em estufa a 37° C por sete dias e as outras 5 eram homogeneizadas por cerca de 25 vezes. Feita a devida higienização na caixa, para posterior abertura e preparo das diluições, todas essas etapas eram realizadas próximo a chama para garantir um ambiente estéril de trabalho, evitando assim contaminação das amostras e obtenção de resultados falso positivos. As amostras incubadas, também passavam por essas etapas de preparo após os 7 dias da incubação.

4.2.3. Preparo das diluições

Após o preparo das amostras, próximo à chama a caixa de leite UHT integral era aberta de modo a evitar contaminação, onde com auxílio de pipeta automática de 1000 μL , era retirada essa alíquota do leite e adicionado em um tubo com água peptonada, em seguida sendo homogeneizado por 60 segundos no "Vortex" (Figura 2), formando assim a diluição 10^{-1} .

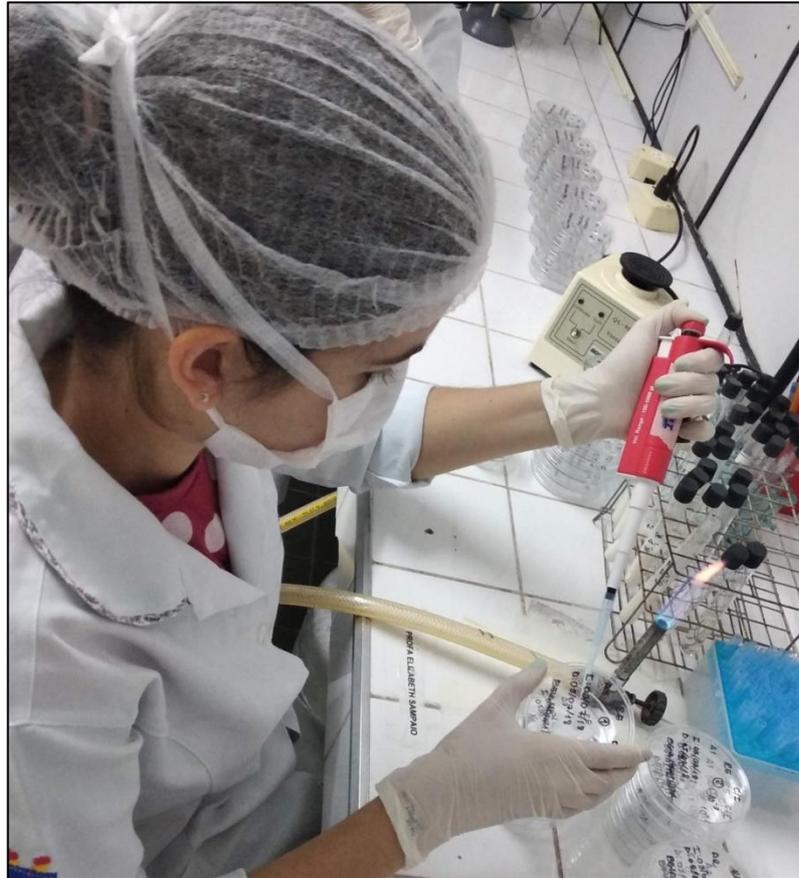
Figura 2: Homogeneização da diluição 10^{-1} no "Vortex"



Fonte: Arquivo pessoal, 2018

A partir da diluição inicial (10^{-1}), eram efetuadas as demais diluições desejadas em água peptonada a 0,1%, sendo que para as amostras incubadas por 7 dias, eram preparadas diluições até 10^{-3} e para as amostras sem incubação, só eram feitas diluições até 10^{-2} . Para cada diluição, era semeado 1 mL em placas de Petri descartáveis e em duplicata (Figura 3), na sequência era adicionado cerca de 20 mL do meio de cultura (PCA) fundido e mantido em banho-maria (Figura 4) e realizado a homogeneização do ágar com o inóculo, em movimentos de ∞ (oito horizontal ou infinito) por cerca de 25 vezes (BRASIL, 2003).

Figura 3: Semeio de 1 mL de cada diluição em placa de Petri descartável



Fonte: Arquivo pessoa, 2018

Figura 4: Adição de cerca de 20 mL de PCA nas placas de Petri contendo as respectivas diluições



Fonte: Arquivo pessoal, 2018

As placas ficavam armazenadas em superfície plana até a solidificação do meio (Figura 5) e em seguida eram incubadas de forma invertida na estufa a 37° C por 48 horas.

Figura 5: Placas em superfície plana para solidificação do meio de cultura



Fonte: Arquivo pessoal, 2018

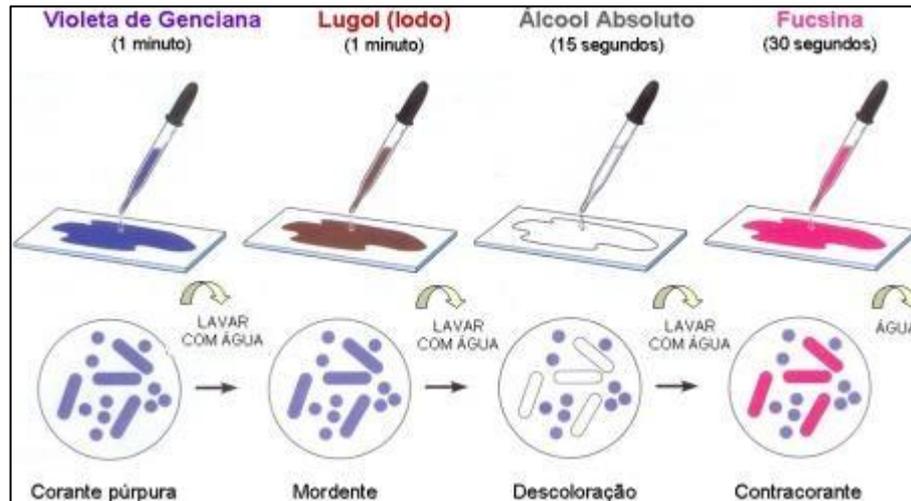
4.2.4. Contagem em placas

Para a leitura das placas foi utilizado um contador de placas, onde eram realizadas as seleções das placas que possuísem entre 25 e 250 colônias. Como o trabalho foi feito com duplicatas, ambas eram contadas e calculadas suas médias de colônias, para a partir desse resultado utilizar a fórmula $UFC/mL = \frac{\text{média das colônias na placa contada}}{\text{diluição da placa contada} \times \text{volume inoculado dessa diluição}}$ e encontrar o número de microrganismos presentes na amostra em análise.

4.2.5. Coloração de Gram

Baseia-se na verificação das características morfológicas e tintoriais do microrganismo, onde as bactérias Gram positivas coram-se fortemente de violeta e as Gram negativas de róseo a vermelho. Era feito o preparo de um esfregaço com as placas que possuíam crescimento bacteriano e a seguir realizados os procedimentos de coloração (Figura 6).

Figura 6: Procedimentos de coloração de Gram



Fonte: Biomedicina para todos, 2015

Após essas etapas, as lâminas ficavam secando ao ar livre e depois de prontas, adicionava-se uma gota do óleo de imersão no esfregaço e era feita a leitura no microscópio óptico com aumento de 100X.

- **DESCRIÇÃO DAS ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS**

4.2.6. Avaliação do percentual de lipídios pelo método butirométrico para leite fluído

Esse método consiste no ataque seletivo da matéria orgânica por meio do ácido sulfúrico, excetuando-se a gordura que será separada pela centrifugação com auxílio do álcool isoamílico, que tem a função de alterar a tensão superficial (BRASIL, 2006). Por esse método eram avaliadas apenas as amostras sem incubação.

Adicionava-se a um butirômetro, 10 mL da solução de ácido sulfúrico e em seguida transferido 11 mL da amostra homogeneizada, lentamente e pela parede deste, evitando sua mistura com o ácido. Na sequência acrescentava-se 1 mL do álcool isoamílico e com um pedaço de papel toalha era feita a limpeza das bordas do butirômetro para poder fechar com a rolha apropriada. O butirômetro era envolvido

com um pano, colocando o bulbo maior na palma da mão e o dedo polegar sobre a rolha, exercendo pressão, impedindo que houvesse projeção da mesma, durante a homogeneização. Após mistura completa dos líquidos, o butirômetro era colocado na centrífuga de Gerber por 5 minutos a uma rotação de 1200 rpm e em seguida transferido para banho-maria a 65° C por 5 minutos, essa operação era repetida por mais duas vezes e ao final na escala graduada da vidraria, ficava evidenciado o teor de gordura da amostra (Figura 7).

Figura 7: Teor de gordura do leite UHT pelo método de Gerber



Fonte: Flickr photos, 2011

4.2.7. Acidez titulável de leite fluído

Esse método se baseia na titulação de um determinado volume de leite fluído por uma solução de hidróxido de sódio de concentração conhecida, utilizando a fenolftaleína como indicador (BRASIL, 2006). Nesse método eram avaliadas tanto as amostras com incubação como as sem incubação.

Por este método, era transferido 10 mL do leite UHT integral, previamente homogeneizado, para um béquer e adicionava-se 4 gotas da solução de fenolftaleína a 1% e titulava-se com solução de hidróxido de sódio 0,1 N (Solução

Dornic), até o aparecimento de uma coloração rósea persistente por pelo menos 30 segundos (Figura 8).

Figura 8: Titulação da amostra com Solução Dornic e aparecimento de coloração rósea comparada com uma amostra de leite



Fonte: Arquivo pessoal, 2018

Em seguida era anotado o volume gasto de solução Dornic para poder calcular a acidez em graus Dornic (°D) da amostra, por meio da fórmula na Figura 9.

Figura 9: Fórmula para calcular a acidez do leite fluído em graus Dornic

Acidez (oDornic) = $V \times f \times 0,9 \times 10$ Onde:

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

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

0,9 = fator de conversão do ácido láctico;

10 = transformação de ácido láctico para grau Dornic.

Fonte: Adaptado de BRASIL, 2006

4.2.8. Teste de estabilidade ao álcool etílico

A prova do álcool tem como fundamento estimar a estabilidade térmica do leite, realizada com as amostras com e sem incubação.

Para realização desse método, era transferido 2 mL de leite para um tubo de ensaio pequeno e a seguir era acrescentando 2 mL de álcool etílico a 68% vv, com posterior agitação do mesmo e observava-se o aspecto do leite quanto a presença ou ausência de grumos, determinando assim se a amostra era estável, quando o leite apresentava-se sem grumos ou instável quando formava grumos (Figura 10).

Figura 10: Agitação dos tubos de ensaio contendo a mistura do leite com álcool etílico a 68% vv



Fonte: Arquivo pessoal, 2018

4.2.9. Densidade e Extrato Seco Desengordurado (ESD)

A densidade do leite tem como princípio, a imersão de um termolactodensímetro de massa constante em uma determinada quantidade de leite, provocando o deslocamento deste, que será em massa igual à do densímetro utilizado e em volume, proporcional à densidade da amostra. Esse deslocamento

fará o leite alcançar um valor na escala graduada em graus densiométricos, e a temperatura também será aferida e registrada. O Ideal é que a temperatura da amostra esteja a 15° C, do contrário era necessário fazer sua correção para essa temperatura, onde para cada grau acima de 15° C era acrescentado a leitura 0,0002 e para cada grau abaixo dessa temperatura era subtraído 0,0002.

Após determinada a densidade e o percentual de gordura, eram realizadas a determinação do extrato seco total (EST) e do extrato seco desengordurado (ESD), por meio de cálculos práticos conforme a Figura 11.

Figura 11: Fórmulas utilizadas para calcular extrato seco total e desengordurado

$$\% \text{ extrato seco} = G/5 + D/4 + G + 0,26$$

Onde:

D = densidade;

G = % gordura.

$$\% \text{ extrato seco desengordurado} = \% \text{ extrato seco total} - \% \text{ gordura}$$

Fonte: Adaptado de BRASIL, 2006

CAPÍTULO II

5. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

5.1. Queijo Minas Frescal

É o queijo fresco obtido por meio da coagulação enzimática do leite pasteurizado com coalho ou com outras enzimas coagulantes adequadas ou com ambos, podendo ser acrescido ou não de bactérias lácticas específicas, obtendo assim uma massa coalhada, dessorada, não prensada, salgada e não curada (BRASIL, 2017).

5.2. Histórico do Queijo Minas Frescal

Descobertas arqueológicas revelaram que o queijo já era produzido de forma rústica há 12.000 anos antes do nascimento de Cristo, no período conhecido como paleolítico superior. Os egípcios estão entre os primeiros povos a dominar a arte de criar o gado, no fértil Vale do Nilo, onde a partir do leite ordenhado produziam queijos, que era uma fonte importante de alimentação. Há relatos de passagens bíblicas que registram o queijo como uma das fontes de alimento da época e na Europa, os gregos foram os primeiros a adotá-lo em seus cardápios, sendo elaborados exclusivamente a partir de leite de cabra e ovelha. Atualmente, mais de mil variedades são catalogadas no mundo, das quais cerca de 300 são produzidas na França (SALINAS, 2002).

No Brasil, o queijo foi trazido no século XVIII pelos colonizadores portugueses e teve sua importância econômica iniciada com a decadência do ciclo do ouro em Minas Gerais, nesse período os “queijos de Minas” eram fabricados de forma artesanal, a partir do leite cru e com uso de tecnologias tradicionais como instrumentos de madeira e outras técnicas que levaram a Vigilância Sanitária a proibir sua comercialização. Sendo assim, apenas o queijo elaborado a partir de leite pasteurizado poderia ser produzido e comercializado (MELO; SILVA, 2014).

O queijo Minas frescal é um queijo tipicamente brasileiro e o terceiro tipo mais consumido no país, quando elaborado a partir de leite pasteurizado apresenta um sabor suave promovido pelo frescor da ligeira acidez natural do leite combinado com o equilíbrio da salga que de ser suave. Graças a isso, em 2002 foi reconhecido pelo

Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional (IPHAN), como “Patrimônio Cultural Imaterial Brasileiro” (IPHAN, 2015).

5.3. Composição e aspecto de qualidade do Queijo Minas frescal

O queijo Minas frescal deve possuir como ingredientes obrigatórios em sua composição o leite e/ leite reconstituído, coalho e/ou enzimas coagulantes específicas, e opcionalmente pode conter: leite em pó, creme, sólidos e origem láctea, cloreto de sódio, cloreto de cálcio e cultivo de bactérias lácteas específicas (BRASIL, 1997).

É um tipo de queijo que apresenta consistência branda e macia, cor esbranquiçada, odor e sabor característicos e suaves, levemente ácido, com ou sem olhaduras mecânicas, não tem crosta ou ela é fina, possui formato cilíndrico com peso que pode variar entre 0,3 kg e 5 kg (BRASIL, 1997).

O queijo Minas frescal, antes era classificado como um queijo semigordo e de alta umidade pelo Regulamento técnico para Fixação Identidade e Qualidade do Queijo Minas Frescal (1996). Passou a ser classificado como queijo semigordo de “muito” alta umidade após uma alteração realizada pela Instrução Normativa nº 04, de 01 de março de 2004 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Visto isso, deve apresentar em sua composição 25,0% a 44,9% de matéria gorda no extrato seco e umidade superior a 55% (BRASIL, 1997; SILVA, 2005).

Possui características distintivas em seu processo de elaboração como a obtenção de uma massa coalhada, dessorada, não prensada, salgada e não maturada, a qual posteriormente deve ser embalada em embalagem plástica ou acondicionada em envases bromatologicamente aptos e armazenadas em uma temperatura não superior a 8°C (BRASIL, 1996).

5.4. Boas práticas de fabricação (BPF) no laticínio

A fim de se produzir um alimento seguro e de qualidade para o consumo humano e minimizando os riscos para a saúde pública, as boas práticas de fabricação devem ser adotadas nos laticínios produtores de leite e derivados. Além da redução dos riscos, as BPF possibilitam um ambiente de trabalho mais eficiente, otimizando a cadeia produtiva. São muito importantes para controlar possíveis fontes de contaminação cruzada e para garantir que o produto atenda as especificações de

qualidade. Um programa BPF deve contemplar todos os elementos do processo produtivo, desde a obtenção da matéria-prima e dos ingredientes a serem incorporados, bem como o registro em formulário dos procedimentos adotados pela empresa até as recomendações de construção das instalações e de higiene tanto do pessoal quanto dos equipamentos e do espaço físico (SILVA, 2005).

Portanto, nos laticínios queijeiros, as condições de higiene devem ser uma preocupação constante, essencial para evitar a entrada e o desenvolvimento de microrganismos contaminantes. Assim, a sanitização deve ser feita imediatamente antes do uso dos equipamentos e no final do expediente ou no caso de interrupções demoradas. O procedimento ideal de higienização deve compreender quatro etapas: pré-lavagem, lavagem, enxague e desinfecção, garantindo assim a eliminação de resíduos e contaminantes e garantindo a obtenção de um produto apto e seguro para o consumo (SILVA, 2005).

6. DESCRIÇÃO DO LOCAL DO ESO

O segundo local de atividades realizadas do ESO, foi o laticínio D' Itália durante o período de 5 segundas-feiras, com a carga horária total de 20 horas, nos dias 23/04/18, 30/04/18, 07/05/18, 14/05/18 e 21/05/18, sob a supervisão da proprietária e gerente geral Rosa Di Francesco Maia Câmara. A D'Itália Indústria e Comércio Ltda-Me está localizada na Zona Rural, município do Cabo de Santo Agostinho, na BR 101/ Sul, Km 106, s/n. Está registrada no Serviço de Inspeção Estadual (SIE) pela Agência de Defesa Agropecuária de Pernambuco (ADAGRO), sendo classificada como fábrica de laticínios. O laticínio é de porte pequeno e está projetado para produção de três tipos de queijo: ricota, de coalho e Minas Frescal.

7. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

7.1. No laticínio

As atividades desenvolvidas durante o período de realização do ESO consistiram em acompanhar a rotina de trabalho da equipe responsável pela produção dos queijos de coalho, minas frescal e ricota, tendo como foco, realizar o acompanhamento de todas as etapas do processo de elaboração do queijo de minas frescal (Figura 12). Dentre as atividades executadas, destacaram-se o

acompanhamento do processo de pasteurização da matéria-prima, obtenção da massa coalhada, dessorada, salga, enformagem, embalagem e armazenamento do produto final.

Figura 12: Fluxograma do processo de produção do Queijo Minas Frescal



Fonte: Arquivo pessoal, 2018

7.1.1. Pasteurização da matéria-prima

A pasteurização é o processo que garante que o leite fique isento da presença de microrganismos contaminantes, prejudiciais à saúde e dos deteriorantes que comprometem a qualidade do produto final. Porém, durante a pasteurização também ocorre a destruição de microrganismos que são favoráveis à produção dos queijos, sendo necessário repor essas perdas através da adição do fermento (SILVA, 2005).

No laticínio D' Itália, eles utilizavam o pasteurizador de placas, no qual o leite era submetido a uma temperatura de 75° C durante 15 segundos, sendo imediatamente resfriado a 34° C: este é o chamado processo de pasteurização

rápida. O leite pasteurizado, em torno de 430 L era colocado em tanque de aço inoxidável, onde ficava até a formação da massa.

7.1.2. Preparo do leite para coagulação

Nessa etapa eram realizados os procedimentos essenciais para coagular a proteína do leite (caseína), para dar origem à massa do queijo (coalhada), através da adição de fermento, cloreto de cálcio e do coalho (quimosina).

O fermento, composto por uma cultura láctica de mesófilos selecionados (*Lactococcus lactis* e *Lactococcus cremoris*), era adicionado na proporção de 1% a 1,5% em relação à quantidade de leite pasteurizado, sendo essencial para a fabricação desse tipo de queijo, pois suas finalidades eram: produzir ácido láctico e conseqüentemente reduzir o crescimento de microrganismos indesejáveis pela redução do pH, desenvolvendo uma leve acidez, o que aumentava o poder de coagulação do coalho, melhorando assim a consistência do coágulo e facilitando a remoção do soro.

A seguir era feita a adição do cloreto de cálcio, necessária para aumentar o teor de cálcio solúvel no leite, pois a pasteurização o tornava indisponível e sem sua adição a coagulação tornava-se demorada e incompleta, fora isso também conferia elasticidade à massa do queijo. Seu uso era em torno de 0,02% a 0,03% em relação ao volume inicial de leite, sendo sempre diluído totalmente em água filtrada antes da sua incorporação a massa.

E por último era aferida a temperatura do leite, que deveria estar entre 32° C a 34° C, para então poder acrescentar a quimosina aos poucos na quantidade estipulada pelo fabricante. Nesse caso para os 430 L de leite era utilizado 0,9mL do coalho por litro, diluído sempre em água filtrada e sob agitação (Figura 13), onde após sua completa incorporação o leite ficava em absoluto repouso por cerca de 45 minutos, promovendo assim sua coagulação e conseqüente formação da massa do queijo.

Figura 13: Agitação do leite após adição da quimosina



Fonte: Arquivo pessoal, 2018

7.1.3. Ponto de corte da massa

O ponto de corte era determinado com o auxílio de uma faca, onde era feito um corte na massa e introduzia-se a faca na mesma e a forçava para cima na região do corte, quando ocorria a formação de uma fenda retilínea sem fragmentação, a massa estava pronta para o corte.

O corte era feito com a lira horizontal dividindo a massa em lâminas superpostas e em seguida passava-se a lira vertical no mesmo sentido da horizontal, cortando a massa em tiras e posteriormente no sentido transversal, em relação aos cortes anteriores para formar os cubos ou grãos uniformes (Figura 14) o que facilitava a retirada homogênea do soro (dessora), evitando assim a perda da qualidade do produto.

Figura 14: Formação dos cubos de tamanhos uniformes



Fonte: Arquivo pessoal, 2018

7.1.4. Mexedura e dessora

Essa etapa consistia em agitar os cubos por um minuto (Figura 15) e deixá-los em repouso por três minutos, sendo essa operação repetida por cerca de 30 minutos, preservando assim sua característica de alta umidade. Após realizada a mexedura, era feita a dessora da massa, a fim de remover a maior parte do soro.

Figura 15: Mexedura dos cubos com a lira



Fonte: Arquivo pessoa, 2018

7.1.5. Salga

O cloreto de sódio (NaCl) foi adicionado à massa em torno de 1% a 1,2% (esse cálculo era realizado de acordo com o volume de leite utilizado) e misturado cautelosamente por 3 minutos, após a remoção da maior parte do soro, evitando assim a formação de um soro leitoso.

7.1.6. Enformagem

Com auxílio de peneiras de plástico de tela fina, os cubos eram removidos do tanque de aço inoxidável e colocados nas formas de plástico, com formato redondo e pequenos furos em toda sua superfície permitindo a saída do soro (Figura 16).

Figura 16: Enformagem da massa do queijo Minas Frescal



Fonte: Arquivo pessoal, 2018

Por ser um queijo de alta umidade não era necessário realizar sua prensagem, sendo seu próprio peso dentro da fôrma suficiente para prensá-lo levemente. Entretanto a viragem do queijo era necessária e feita da seguinte forma: o queijo era retirado da fôrma e recolocado na mesma em posição invertida, esse procedimento foi realizado por três vezes, (Figura 17), quando necessário as quinas eram removidas com uma faca para dar acabamento ao queijo minas frescal.

Figura 17: Queijo Minas Frescal na fôrma após seu processo de viragem



Fonte: Arquivo pessoal, 2018

7.1.7. Embalagem

Após ficar pronto, o queijo Minas Frescal era submetido ao processo de embalagem à vácuo, em sacos de filmes coextrusados do tipo poliamida (PA), promovendo assim o retardo do crescimento microbológico e aumentando o tempo de vida de prateleira do queijo (Figura 18).

Figura 18: Embalagem à vácuo do queijo Minas Frescal



Fonte: Arquivo pessoal, 2018

7.1.8. Armazenamento

Os queijos após embalados eram submetidos à câmara de refrigeração, na temperatura de 8° C até sua expedição, dessa forma aumentando seu tempo de prateleira e inibindo o desenvolvimento de microrganismos.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estágio supervisionado obrigatório proporcionou um conhecimento técnico e prático da rotina de um laboratório de análises de leite e também uma experiência acerca da rotina de funcionamento de um laticínio voltado para produção de queijos, com um enfoque maior para o Minas frescal.

Tanto as análises físico-químicas quanto as microbiológicas realizadas nas amostras de leite, são fundamentais de serem realizadas nas indústrias garantindo assim um produto final de qualidade, minimizando ou eliminando os riscos para a saúde do consumidor, especialmente porque o leite é considerado um meio de cultura para o desenvolvimento de microrganismos.

Em relação ao laticínio, foi importante conhecer todas as etapas de produção dos queijos, não só o Minas frescal, como também a Ricota e o de Coalho. Foi possível observar a organização e habilidade dos funcionários e também proporcionou um aprendizado maior a cerca da finalidade de cada produto utilizado na fabricação dos queijos.

O estágio foi de extrema importância para complementar os conhecimentos adquiridos durante toda a graduação, sendo, portanto, fundamental para a formação acadêmica.

9. REFERÊNCIAS

Biomedicina para todos. **Figura dos procedimentos para coloração de gram.** 2015. Disponível em: <<http://biomedicinaparatodos.blogspot.com/2015/06/coloracao-de-gram-sabe-o-que-e-entenda.html>>. Acesso em: 12.jul.2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003.** Brasília, DF: MAPA, 2003. Disponível em: <<https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/instrucao-normativa-sda-62-de-26-08-2003,665.html>>. Acesso em: 05. jul. 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 68 de 12 de dezembro de 2006.** Brasília, DF: MAPA, 2006. Disponível em: <<https://wp.ufpel.edu.br/inspleite/files/2016/03/Instru%C3%A7%C3%A3o-normativa-n%C2%B0-68-de-12-dezembro-de-2006.pdf>>. Acesso em: 15. jun. 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Portaria nº 370 de 04 de setembro de 1997.** Brasília, DF: MAPA, 1997. Disponível em: <http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/GTA/Legislacao/Legislacoes_Manual_Fiscalizacao_Transito_Agropecuario/Portaria_Mapas_370_1997.pdf>. Acesso em: 08. jul. 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Portaria nº 352, de 04 de setembro de 1997.** Regulamento Técnico Para Fixação de Identidade e Qualidade do Queijo Minas Frescal. Brasília, DF: MAPA, 1997. Disponível em: <<https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/portaria-ma-352-de-04-09-1997,644.html>>. Acesso em 20.jul.2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017** . Brasília, DF: MAPA, 2017. Disponível em: <<http://www2.camara.leg.br/legin/fed/decret/2017/decreto-9013-29-marco-2017-784536-norma-actualizada-pe.pdf>>. Acesso em: 06.jul. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. **Regulamento Técnico MERCOSUL de Identidade e Qualidade de Queijo de Minas Frescal nº 145 de 13 de dezembro de 1996.** Disponível em:<http://www.agais.com/normas/leite/queijo_minas_frescal.htm>. Acesso em 18.jul.2018.

CARVALHO, J. D. G. *et al.* **The quality of Minas Frescal cheese produced by diferente technological processes.** Food Control. 2010; 18 (3): 262-267.

Diário Verde. **Figura do destino do leite no Brasil.** 2017. Disponível em:<<https://diarioverde.com.br/grande-importador-de-leite/>>. Acesso em: 13.jul.2018.

EBING, P.; RUTGERS, K.; MULLER, R.; WEIJENBERG, M. **A preparação de laticínios.** Agrodok 36. 2 ed. Wageningen: Agromisa Foundation, p. 11-12, 2005.

EMBRAPA. 2016. **Pecuária de leite no Brasil: cenários e avanços tecnológicos.** Brasília-DF: Embrapa informação tecnológica, 435p.

FLICKR PHOTOS. 2011. **Teor de gordura do leite UHT pelo método de Gerber.** Disponível em:<<https://www.flickr.com/photos/33476447@N08/5747609351/in/photostream/>>. Acesso em: 18.jul.2018.

FILHO, R. R. L. 2010. **Aumenta o consumo de queijo no Brasil.** *In:* SILVA, T. E. **Estudo do Shelf Life do Queijo de Minas Frescal artesanal e industrial.** Dissertação (Mestrado em Zootecnia)- Programa de Pós Graduação em Zootecnia, Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Goiano- Campus Rio Verde. 2015.

FRANCO, B. D. G. M. 2008. **Microbiologia dos alimentos.** *In:* MELO, L. R. B. **Avaliação da qualidade do leite UHT: Aspectos bacteriológicos, físico-químicos, avaliação de embalagens e rotulagens.** Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal)- Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense. 2015.

GONZÁLEZ, F. H. D.; DÜRR, J. W.; FONTANELLI, R. S. (Ed.) **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: UFRGS, 2001. p. 5-22.

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

Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional (IPHAN). **Modo artesanal de fazer queijo de Minas**. Brasília-DF: IPHAN, 142p, 2015.

MELO, A. C. A.; SILVA, E. L. **Queijo Minas Artesanal: Patrimônio brasileiro proibido e oportunidade para o desenvolvimento do turismo rural em Serro/MG**- Fórum Internacional de Turismo do Iguassu. Foz do Iguaçu – PR. Junho de 2014.

ROTTA, U. A. S. **Rede de negócios: um panorama da cadeia de leite no Brasil**. 2008.

SALINAS, R. D. **Alimentos e Nutrição – Introdução a Bromatologia**. 3ª Edição. Editora Artmed. Porto Alegre – SC, 2002.

SILVA, F. T. Queijo Minas frescal. Informação Tecnológica. **Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária - EMBRAPA**. Brasília - DF, 2005.

TETRAPAK. 2010. **Leite UHT**. Disponível em:< <https://www.tetrapak.com/br>>. Acesso em 31.jul.2018.

TRONCO, M. Manual para Inspeção da Qualidade do Leite. 3ª Edição. **Editora da UFSM**. Santa Maria, 2008.p. 114.