

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS
CÂMPUS SÃO LUÍS DE MONTES BELOS, GO
PÓS-GRADUAÇÃO EM DESENVOLVIMENTO RURAL SUSTENTÁVEL
MESTRADO PROFISSIONAL

LUANA RODRIGUES COSTA

**IDENTIDADE, QUALIDADE E RENDIMENTO DO QUEIJO MINAS FRESCAL
ELABORADO COM LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO**

São Luís de Montes Belos
2019

LUANA RODRIGUES COSTA

**IDENTIDADE, QUALIDADE E RENDIMENTO DO QUEIJO MINAS FRESCAL
ELABORADO COM LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Goiás Câmpus São Luís de Montes Belos para obtenção do título de Mestre em Desenvolvimento Rural Sustentável.

Linha de pesquisa: Produção animal

Orientadora: Profa. Dra. Karyne Oliveira Coelho

São Luís de Montes Belos
2019

LUANA RODRIGUES COSTA

**IDENTIDADE, QUALIDADE E RENDIMENTO DO QUEIJO MINAS FRESCAL
ELABORADO COM LEITE INSTÁVEL NÃO ÁCIDO**

Dissertação apresentada à Universidade
Estadual de Goiás – Câmpus São Luís de
Montes Belos, para a obtenção do título de
Mestra em Desenvolvimento Rural Sustentável.

Aprovado em: 15 de fevereiro de 2019.

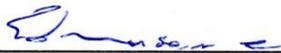
BANCA EXAMINADORA



Prof.ª Dra. Karyne Oliveira Coelho – UEG



Prof. Dr. Rodrigo Balduino Soares Neves – UEG



Prof. Dr. Edmar Soares Nicolau – UFG

Dedico a Deus, que soprou a vida em mim e me proporcionou mais chão nos meus olhos, mais esperança nos meus passos, mais estrada no meu coração. Dedico aos meus pais, que sempre me apoiaram e me deram o condicional amor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao nosso criador, Deus, pela proteção, força e amparo. Por nunca ter me abandonado, iluminando meus passos e concedido esperança no meu coração. Pela boa saúde estabelecida em mais uma etapa de evolução da minha vida acadêmica.

A minha orientadora, Professora Dr^a. Karyne Oliveira Coelho, admiro o seu exemplo constante, de fragilidade e garra. Pelo o seu entusiasmo, dedicação e incansável trabalho árduo como educador. Tenho convicção de que fui presenteada com crescimento amplo por andar ao seu lado nesta pesquisa. A minha amada mãe Ana Maria de Jesus Costa, pelo exemplo constante de companheirismo e amor. Por ser esta mulher maravilhosa em minha vida. Ao meu precioso pai João Rodrigues Costa, que torna meus dias mais alegres com a sua felicidade constante de todos os dias, pelo seu exemplo de honestidade, amo-te. Vocês dois me trouxeram à vida, zelaram por ela e a regaram com amor incondicional. A minha adorável irmã Samara Rodrigues Costa, que sempre me apoiou incondicionalmente. Por estar ao meu lado me incentivando todos os dias mesmo não me passando exemplo nenhum. Minhas razões de viver. Agradeço constantemente a presença da minha família querida tão abundante em minha vida.

A Universidade Estadual de São Luís de montes Belos - GO, pela contribuição de formação acadêmica. Ao Centro de Ensino e Pesquisa Animal e Vegetal - CEPAV da Universidade Estadual de São Luís de montes Belos – GO pela execução das análises da minha pesquisa. Ao Laticínio Escola por contribuir com a fabricação dos objetos de estudo. Ao professor Msc. Allan Afonso Passos pela atenção, disponibilidade e contribuição dos ingredientes do objeto de estudo e na realização da produção. Aos Alunos de Tecnologia em Laticínio, Rafael Francisco, Jose Divino e Thyago Silva, pela ajuda incondicional na produção. Aos colegas da Pós-graduação em Desenvolvimento Rural Sustentável, pela amizade, brincadeiras e companheirismo nos estudos, que tornaram os dias de aulas mais agradáveis. Em especial a minha colega Danielle Muniz Pessoa, que sempre me incentivou nos piores e melhores momentos de estudo, pela sua maturidade e risadas. Aos professores que me proporcionaram o conhecimento da Pós-graduação e me trouxeram ao final dessa etapa.

Aos membros da banca, que muito me honraram, em aceitar o convite e, enriqueceram este estudo, com suas preciosas considerações. Agradeço de coração aos que comigo estiveram nesta longa jornada. Cada um foi extremamente essencial, na realização deste objetivo. Pois nada se constrói sozinha.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

CBT - Contagem Bacteriana Total

CCS - Contagem de Células Somáticas

LINA - Leite Instável Não-Ácido

MAPA - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento

Céls/mL - Células Somáticas por Mililitro

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia Estatística

IN - Instrução Normativa

mL – Mililitro

UEG - Universidade Estadual de Goiás

UFC/mL - Unidade Formadora de Colônia por Mililitro

g – Gramas

v/v – Volume/volume

°D – Dornic

°C - Graus Celsius

% - Porcentagem

Nº - Número

GL – Gay Lussac

NS – Não significativo

RESUMO

O leite instável não ácido (LINA) é caracterizado pela perda de estabilidade da caseína, resultando em sua precipitação na prova do álcool sem, contudo, haver acidez superior a 18ºD. O objetivo proposto com a realização deste trabalho foi caracterizar a identidade, a qualidade, o rendimento e a vida de prateleira do queijo Minas Frescal elaborado com LINA. Foram realizadas análises de leite de tanque de produtores rurais, no caso da identificação do LINA, foi produzido o queijo Minas Frescal, constituindo dois tratamentos: uma produção de queijo com leite LINA e outra com o leite estável; as elaborações foram processadas separadamente observando-se as boas práticas de fabricação. Os queijos foram produzidos no Laticínio Escola da Universidade Estadual de Goiás. Após o processamento dos queijos foram avaliados o rendimento através do volume em litros de leite necessário para a elaboração de um quilo de queijo (L/kg) – rendimento industrial; também se considerou a divisão da massa em gramas de sólidos totais de queijo por litro de leite (g ST/L) – rendimento econômico ou ajustado. Foram colhidas duas amostras por lote 24 horas após a fabricação, bem como nos dias 8, 15 e 22 de armazenamento a 5°C; com a finalidade de realizar as análises físico-químicas e microbiológicas. Os resultados da composição físico-química, de rendimento e de recuperação de componentes do leite no queijo, foram avaliados estatisticamente por meio da análise de variância e regressão e o rendimento por meio do teste de *Student* a 5%. O queijo Minas Frescal produzido com leite LINA apresentou umidade, gordura e parâmetros microbiológicos de acordo ao padrão exigido pela legislação; porém apresentou maior umidade e menor teor de proteína, quando comparado ao queijo Minas Frescal produzido com o leite estável; o que determinou um menor rendimento econômico ou ajustado. Não foi observado efeito do LINA sobre a vida de prateleira. Conclui-se que o LINA pode ser utilizado para a produção do queijo Minas Frescal.

Palavras-chave: Alizarol. Caseína. Prova do Álcool. Sólidos Totais.

ABSTRACT

The unstable non-acid milk characterized by the loss of casein stability, resulting in its precipitation in the alcohol test without, however, having an acidity above 18°D. The objective of this work was to characterize the identity, quality, yield, and shelf life of the Minas Frescal cheese elaborated with UNAM. In the case of the identification of UNAM, the milk produced from Minas Frescal cheese. Two treatments used: one cheese production with UNAM milk and another with stable milk; the elaborations were processed separately observing good manufacturing practices. The cheeses produced at the Laticínio Escola of the State University of Goiás. After the processing of the cheeses, the yield was evaluated through the volume in liters of milk needed to prepare one kilo of cheese (L / kg) - industrial yield; it was also considered the division of the mass into grams of total cheese solids per liter of milk (g ST / L) - economic or adjusted yield. Two samples per batch taken 24 hours after fabrication, as well as on storage days 8, 15 and 22 at 5° C; with the purpose of performing the physical-chemical and microbiological analyzes. The physicochemical composition results, yield and recovery of milk components in the cheese evaluated statistically by variance analysis, regression, and the yield by means of the Student test at 5%. The Minas Frescal cheese produced with unstable non-acid milk showed moisture, fat and microbiological parameters according to the standard required by the legislation; but presented higher humidity and lower protein content when compared to Minas Frescal cheese produced with stable milk; which resulted in a lower economic or adjusted income. No effect of unstable non-acid milk of the shelf life observed. It concluded that unstable non-acid milk can be used for the production of Minas Frescal cheese.

Keywords: Alizarol. Casein. Alcohol Proof. Total solids.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	10
REFERÊNCIAS.....	16
CAPÍTULO 2 – QUALIDADE E IDENTIDADE DO QUEIJO MINAS FRESCAL PRODUZIDO COM LEITE LINA AO LONGO DO PERÍODO DE ARMAZENAMENTO*	22
RESUMO.....	22
INTRODUÇÃO	23
MATERIAL E MÉTODOS	24
RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
CONCLUSÃO	36
REFERÊNCIAS.....	36
CONSIDERAÇÕES FINAIS	45

CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES GERAIS

O leite é um fluido retirado diretamente das glândulas mamárias de fêmeas bovinas, sendo obtido após a assepsia dos tetos de animais descansados, nutridos e saudáveis (BELOTI, 2014). O leite obtido possui cor branca levemente amarelada, com sabor e odor característicos (BRASIL, 2011; BRASIL, 2017). Os principais componentes do leite são a água (86,0 % a 88,0%), sólidos totais (12,0% a 14,0%), gordura (3,5% a 4,5%), proteína (2,9% a 3,5%), lactose (4,3% a 5,2%), sais minerais (0,7% a 0,8%) e vitaminas (SANTOS e FONSECA, 2007).

De forma genérica, os fatores metabólicos nutricionais que afetam a composição do leite são: fatores meio-ambientais, que incluem a nutrição (composição da dieta), tipo de alimentação (pastagem, ração, suplementos), manejo (nível de produção) e época do ano, e fatores intrínsecos aos animais, divididos em genéticos, sanitários, grau de adaptação metabólica e período da lactação (TRONCO, 1997; SIMOES e OLIVEIRA, 2012).

A qualidade do leite é importante para a competitividade da atividade leiteira e para ampliação de mercados consumidores, interno e externo (BELOTI, 2014). No aspecto legal, a busca pela melhoria da qualidade do leite nacional iniciou em 2002, com a implementação do Programa Nacional de Melhoria da qualidade do Leite e a Instrução Normativa (IN) 51 (BRASIL, 2002), posteriormente substituída pela Instrução Normativa 62 (BRASIL, 2011) e Instrução Normativa 07 (BRASIL, 2016), atualmente IN 76 (BRASIL, 2018).

O padrão mínimo determinado para o leite com relação à composição físico-química são: 3,0% de gordura, 2,9% de proteína e 8,4% de extrato seco desengordurado. O número máximo de células somáticas (CCS) por mL de leite e a contagem bacteriana total (CBT) variam conforme a região e o ano de avaliação. Os valores máximos preconizados para CCS e CBT são crescentes, atualmente, são na região Centro Oeste são de 500 mil Cél/s/mL e 300 mil UFC/mL, respectivamente. Com relação à caracterização física, o leite deve apresentar acidez titulável entre 14 e 18^oD, e necessita ser estável em solução alcoólica com no mínimo 72% v/v de álcool (BRASIL, 2012; BRASIL, 2018).

A estabilidade térmica do leite refere-se à resistência relativa do leite em suportar o tratamento térmico industrial sem sofrer coagulação (ZANELA e RIBEIRO, 2018). A prova do álcool é utilizada para avaliar a estabilidade do leite (MARQUES

et al., 2007; MACHADO et al., 2017). É realizada, através da mistura de partes iguais de leite e álcool a 72% (STUMPF et al., 2013), atuando como medida direta para a verificação da estabilidade das micelas de proteína do leite cru, pela desidratação provocada pelo álcool, simulando o tratamento térmico (MARQUES et al., 2007). Ressalta-se que o teor de álcool pode afetar o resultado da prova e cita-se uma maior frequência de LINA nos testes com 78% v/v e menor nos testes com 68% v/v (SILVA et al., 2012; PASSOS, 2017).

O leite ácido ocorre devido à quebra da lactose provocada em meio ácido por microrganismos que estão em multiplicação e o tornando impróprio para o processamento na indústria e o consumo da população (MARQUES et al., 2007). Entretanto, FISCHER et al., (2011) relataram, que o LINA, apesar de instável e ser reprovado no teste do álcool, não é ácido, por estar entre 14^oD a 18^oD na prova de acidez. A indústria necessita descartar amostras com problemas de acidez elevada e conhecer a estabilidade térmica do leite recebido na plataforma, a fim de possibilitar a escolha do destino da matéria prima recebida, sem causar prejuízos ao processamento (STUMP et al., 2013).

A prova de estabilidade no teste do álcool ou alizarol, é um indicador de qualidade do leite, realizada rotineiramente nas propriedades rurais antes do recolhimento do leite na plataforma pelos transportadores e ao chegar às indústrias (MARQUES et al., 2007; ZANELA e RIBEIRO, 2018). Essa avaliação é utilizada para estimar a estabilidade térmica do leite, ao homogeneizar partes iguais de leite e álcool (72% v/v), e ser classificado como LINA com acidez entre 14 - 18 °D, conforme o quadro 1 (BRASIL, 2011; STUMPF et al., 2013; LIU et al., 2019).

Quadro 1 - Padrão de classificação das amostras de leite no teste de acidez e álcool

Leite	Acidez	Estabilidade
Alcalino	< 14 ^o D	estável ao álcool*
Normal	14 – 18 ^o D	estável ao álcool
Ácida	> 18 ^o D	instável ao álcool
LINA	14 - 18 ^o D	instável ao álcool

* exceto leite proveniente de vacas com mastite clínica.

Fonte: MARX, I. G. et al., (2011)

Os primeiros registros de precipitação de leite cru (LINA) à prova do álcool ocorreram na Holanda, em 1930; na atualidade tem distribuição cosmopolita, sendo

identificado em vários países, dentre os quais: Japão (YOSHIDA,1980), Itália (PECORARI et al.,1984), Irã (SOBHANI et al.,1998), Argentina (NEGRI et al.,2001), Uruguai (BARROS et al.,1999 e 2000) e Brasil (SOVINSKI et al., 2014).

No Brasil, os estudos sobre a ocorrência do LINA, são relatados em vários Estados, dentre os quais: Rio Grande do Sul (SUÑÉ, 2010), Paraná (MARX et al., 2011), Rio de Janeiro (DONATELE et al., 2003), São Paulo (BOTARO, 2009; OLIVEIRA et al., 2011), Minas Gerais (OLIVEIRA et al., 2015), Mato Grosso (SOUZA, ROMERO e DA ROSA, 2016), Rio Grande do Norte (FARIA et al., 2017) e Goiás (PASSOS, 2017).

FAGNANI, BELOTI e BATTAGLINI, (2014) relataram que a ocorrência de LINA no país é frequente, e que dependendo do período do ano, aproximadamente 20% a 30% do leite produzido são positivos. ROSA et al., (2017) observaram que a ocorrência do LINA é mais frequente no período seco; assim como PONCE e HERNANDEZ (2001) em estudos realizados em Cuba; dados corroborados aos apresentados por PASSOS (2017) em avaliações de amostras de leite no Oeste-Goiano. Em Panambi a ocorrência mais elevada de LINA foi identificada nos meses de verão (ZANELLA e FISCHER 2007). Entretanto VOGES et al. (2018) apontaram que a estação do ano tem pouca interferência sobre a ocorrência do LINA, especialmente, quando se tem um correto controle do manejo alimentar e de bem-estar dos animais.

Cita-se que a instabilidade proteica do leite pode ser causada por ação microbiana (leite ácido); mastite (leite alcalino) e LINA (SANTOS e FONSECA, 2007; BELOTI, 2014). SOUZA et al. (2011) coletaram 119 amostras de leite as quais apresentaram instabilidade ao teste do álcool, 78% das amostras foram indicadas como leite LINA e apenas 22% das amostras analisadas era realmente leite ácido. MARX et al., (2011) avaliaram 69 amostras de leite, sendo verificadas 16 amostras alcalinas, 8 ácidas e 23 consideradas como LINA. OLIVEIRA et al. (2011) coletaram 217 amostras no período chuvoso e 234 amostras no período sem chuvas, avaliando 64,8% classificadas como LINA e 35,2% como leite ácido. FAGNANI et al., (2016) interpretaram 92 amostras como normal, 138 como LINA e 92 como leite ácido.

FAGNARI et al., (2016) indicaram que o LINA pode permanecer estável durante a pasteurização; isso provavelmente, relaciona-se a causa do distúrbio. MOLINA et al. (2001) utilizaram amostras de leite LINA, onde realizaram o teste da

fervura (100°C) e notaram que as amostras permaneceram estáveis, sem coagular, revelando-se que estas duas variáveis não estão completamente correlacionadas. HORNE E MUIR (1990) também concluíram que o teste de álcool e a estabilidade ao calor são diferentes entre si, pois observaram que o aquecimento se permite que ocorram várias reações que não ocorrem com a adição de álcool.

Cita-se que a causa de ocorrência de LINA não está completamente elucidada; suspeita-se que o fator nutricional como um dos principais fatores que relacionam ao distúrbio metabólico (STUMPF et al., 2013; BELOTI, 2014), assim FISCHER et al., (2011) e ROSA et al., (2017) observaram a influência da alimentação na estabilidade do leite, onde tende-se a aumentar em condições de subnutrição e restrição alimentar. CHAVES (2011) e ROSA et al., (2017) relataram que a restrição alimentar como sendo a causa mais frequente do LINA, os mesmos autores indicaram, que há poucos estudos indicando que questões genéticas, transtornos fisiológicos, metabólicos, estágio de lactação, idade, falta de higiene e época do ano relacionam a ocorrência do LINA; porém que estes devem ser considerados na avaliação dos rebanhos (ZANELA et al., 2017).

Constata-se que o LINA é significativamente prevalente em estabelecimentos rurais com pequena produção leiteira, provavelmente associada às condições de alimentação e manejo nutricionais desfavoráveis (ZANELA et al., 2009; MACHADO, 2010). Quanto a questão sanitária; DONATELE et al., (2003) revelaram que não existe relação entre a instabilidade do leite e a mastite, mas OLIVEIRA et al.; (2011) ressaltaram maior contagem de células somáticas no LINA ao comparar com o valor médio obtido para o leite estável.

O LINA apresenta variações na sua composição em relação ao leite normal (CHAVEZ et al., 2004; ZANELA et al., 2014; PASSOS, 2017). Cita-se menores teores de lactose e sólidos desengordurados no leite instável comparado ao leite estável (ZANELA et al., 2017). CHAVEZ et al (2004) e OLIVEIRA e TIMM, (2007) detectaram redução de caseína no LINA. A menor concentração de componentes lácteos pode resultar em menor rendimento na produção de derivados lácteos (BELOTI, 2007).

A ocorrência do LINA causa significativos prejuízos a toda cadeia produtiva (incluindo produtores, indústria e ambiente), uma vez, que o leite é rejeitado ou subvalorizado pela indústria, mesmo que este apresente níveis de acidez

considerados normais, estando apto para ser processado, dependendo do derivado lácteo (ROMA JUNIOR et al., 2009; ZANELLA et al., 2009). O LINA industrializado apresenta da qualidade do produto final, dentre os quais, observam-se: aumento no tempo de coagulação, menor rendimento, elevada retenção de água no coágulo e perda de proteínas no soro, entretanto, o produto lácteo feito com LINA não interfere na saúde do consumidor (RIBEIRO et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2007; SILVA et al., 2018).

RIBEIRO et al. (2006) ao processar o LINA para a elaboração do iogurte batido observaram que não houve alteração na viscosidade, no tempo de fermentação e sabor do produto final. Segundo OLIVEIRA et al. (2007) o leite LINA reduz o rendimento da produção de queijos e adquire massa mole. MARQUES et al. (2007) ressaltaram que as composições do LINA com o leite estável são semelhantes. O LINA pode ser pasteurizado lentamente e utilizado para a fabricação de lácteos sem apresentar risco a saúde do consumidor, desde que o leite apresente boas condições sanitárias e higiênicas previstas na legislação (TRONCO, 1997; BELOTI, 2014). No entanto, estudos que avaliaram o uso do LINA para a produção de derivados são escassos, apresentando necessidade de se determinar as características físicas, químicas e microbiológicas dos produtos e a vida de prateleira, especialmente, em queijos considerando que o leite pode ser pasteurizado diretamente nas *queijomats*.

Ressalta-se que o queijo Minas Frescal se encontra entre os queijos mais consumidos no Brasil (DO VALE, RODRIGUES e MARTINS, 2018). Apresenta massa crua, coloração esbranquiçada, consistência mole e textura fechada. Normalmente é vendido na forma cilíndrica, com o peso variando em torno de 0,5 a 3 kg. O queijo acabado apresenta, em média, a seguinte composição: 55% a 58% de umidade; 17% a 19% de gordura; teor de sal variando entre 1,4% e 1,6%; e pH entre 5,0 e 5,3 (EMBRAPA, 2011). De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos (BRASIL, 1996) o queijo Minas Frescal é classificado como sendo de muita alta umidade, com teor superior a 55%. Segundo o regulamento, este queijo é enquadrado como semi-gordo, cujo teor de gordura encontra-se entre 25 e 44% de gordura; índices superiores aos destacados pela EMBRAPA (2011).

A composição do queijo varia de acordo com o tipo produzido e a matéria-prima empregada. Um leite com percentagem mais elevada de matéria gorda, além

de propiciar produto melhor, resultará também em maior rendimento, pois há estreita relação entre a matéria gorda e a caseína, sendo esta, a base dos queijos (DAS DORES e FERREIRA, 2014).

A caseína é o componente do leite que determina o rendimento do queijo, embora a gordura represente, na maioria dos queijos, percentuais iguais ou superiores aos de proteínas. Junto com a caseína, a gordura é responsável por aproximadamente cerca de 90% dos sólidos totais do queijo (BELOTI, 2014).

Nos últimos anos, nota-se maior preocupação em melhorar a qualidade dos queijos, especialmente, os artesanais, devido ao aumento do número de treinamentos de produtores, as melhorias na estrutura física das queijarias, a regulamentação da produção e também a elevação no número de pesquisas e financiamentos por parte dos órgãos de fomento, com o intuito de aprimorar os conhecimentos sobre este assunto e possibilitar a fabricação de queijos mais seguros e de qualidade superior (SOBRAL et al., 2017). PINTO et al. (2016) destacaram ainda que ocorre grande variação nos parâmetros físico-químicos o que demonstra falta de padronização no processo de produção do queijo Minas Frescal, o que dificulta estabelecer um padrão para o queijo artesanal.

Ponderando os aspectos mencionados justifica-se verificar a possibilidade do aproveitamento do leite LINA na elaboração de produtos lácteos pela indústria de laticínios, oferecendo informações que possam auxiliar na continuidade das atividades do setor, especialmente, ressaltando que o LINA não apresenta risco a segurança do alimento (ZANELA et al., 2009; ZANELA et al., 2017), contribuindo assim, através da geração de dados quanto as características de produção, identidade, qualidade e vida de prateleira do queijo Minas Frescal elaborado com LINA, para os órgãos governamentais de fiscalização, como MAPA (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento) e demais órgãos de esferas estaduais e municipais, produtores rurais e indústrias de laticínios ou outros tipos de indústrias do segmento, minimizando os prejuízos de produtores, indústrias e ambientais; contribuindo para o desenvolvimento rural e sustentável.

REFERÊNCIAS

BARROS, L.; DENIS, N.; GONZALEZ, A.; GALAIN, C. Prueba del alcohol en leche y relación con calcio iónico. **Prácticas Veterinarias**, Florida-Uruguay, v.2, n. 9, p.13-15, 1999.

BELOTI, V. **Leite: Obtenção, Inspeção e Qualidade**. Londrina: Editora Planta, 2014. 417 p.

BOTARO, B. G.; LIMA, Y. V. R.; CORTINHAS, C. S.; SILVA, L. F. P.; RENNÓ, F. P.; SANTOS, M. V. Effect of the kappa-casein Gene Polymorphism, Breed and Seasonality Onphysicochemical Characteristics, Composition and Stability of Bovine Milk. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, n.12 p. 24472454, 2009

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146, de 07 de março de 1996. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Produtos Lácteos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília/DF, 07 mar 1996. Seção 1, p. 3977.

BRASIL. Instrução Normativa nº 51, de 20 de setembro de 2002. Aprova os Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília/DF, p.13, 21 set. 2002. Seção 1.

BRASIL. Instrução Normativa nº 62 de 29 de dezembro de 2011. Aprova o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília/DF, 30 dez. 2011. Seção 1, p.1-24.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Resolução Da Diretoria Colegiada – RDC nº 53, de 02 de Outubro De 2012. Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL- Metodologias Analíticas, Ingestão Diária Admissível e Limites Máximos de Resíduos para Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília/DF, 02 de outubro de 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 9.013, DE 29 de março de 2017. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília/DF, 30 março. 2017, Seção 1. Página 3.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 7 de 04/05/2016. Aprova os Regulamento Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite Tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite

Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial da União**, Brasília/DF, 04 de maio de 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 77, de 26 de Novembro de 2018. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, na Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, no Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017, que dispõe sobre os Procedimentos para a Produção, Acondicionamento, Conservação, Transporte, Seleção e Recepção do Leite Cru em Estabelecimentos Registrados no Serviço de Inspeção Oficial **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília/DF, 2 julho. 2018, Seção 1.Página 2.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº76, de 26 de novembro de 2018. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, na Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, no Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017, que dispõe o Regulamentos Técnicos que Fixam a Identidade e as Características de Qualidade que Devem Apresentar o Leite Cru Refrigerado, o Leite Pasteurizado e o Leite Pasteurizado tipo A. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília/DF, 30 novembro. 2018, Seção 1.Página 9

CHAVES, A. C. S. D. Leites. In: KOBLITZ, M. G. B. **Matérias-primas Alimentícias: Composição e Controle de Qualidade**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.147-185, 2011.

CHAVEZ, M. S.; NEGRI, L. M.; TAVERNA, M. A.; CUATRÍN, A. Bovine milk composition parameters affecting the ethanol stability. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v.71, n.2, p.201-206, 2004.

DAS DORES, M. T.; FERREIRA, C. L.de L. F.. Queijo minas artesanal, tradição centenária: ameaças e desafios. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, João Pessoa, v. 2, n. 2, p. 23-35, 2012.

DO VALE, R. C.; RODRIGUES, M. P. J.; MARTINS, J. M. Influência do tipo de fermento nas características físico-químicas de queijo Minas artesanal do serro– Minas Gerais, maturado em condições controladas. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 73, n. 2, p. 82-90, 2018.

DONATELE, D.M.; VIEIRA, L.F.P.; FOLLY, M.M. Relação do teste de Alizarol a 72% (v/v) em leite “in natura” de vaca com acidez e contagem de células somáticas: análise microbiológica. **Revista Higiene Alimentar**. São Paulo, v.7, n.110, p. 95-100, julho 2003.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. In: Silva, F. T. **Queijo Minas frescal**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2011.

FAGNANI, R., BATTAGLINI, A. P. P., BELOTI, V., & DE ARAÚJO, J. P. A. Estabilidade do leite ao álcool: Ainda pode ser um indicador confiável?. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 17, n.3, p.386-394, 2016.

FAGNANI, R.; BELOTI, V.; BATTAGLINI, A. P.P. Acid-base balance of dairy cows and its relationship with alcoholic stability and mineral composition of milk. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Londrina, v.34, n.5, p.398-402, 2014.

FARIA, P. F.; RANGEL, A. H. N.; URBANO, S. A.; BORBA, L. H. F.; GALVÃO JÚNIOR, J. G. B.; SILVA, E. R. Unstable milk occurrence in the semiarid region and its relation with the physicochemical characteristics of milk. **Livestock Research for Rural Development**, Cali - Colombia, v. 29, n. 1, p. 1-8, 2017.

FISCHER V.; ZANELA M.B.; RIBEIRO M.E.R.; MARQUES L.T.; ABREU A.S.; MACHADO S.C.; FRUSCALSO V.; BARBOSA R.S.; STUMPF M.T.; KOLLING G.J.; VIERO V. **Leite instável não ácido (LINA):** prevenção na propriedade leiteira e impactos nos laticínios. III, In: SIMLEITE, III, Anais... Viçosa: Universidade Federal Viçosa, p.45-65. 2011.

HORNE D.S., MUIR D.D. Alcohol and heat stability of milk protein. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v.73, n.12, p.3613-3626, 1990.

LIU, D.; ZHANG, J.; YANG, T.; LIU, X.; HEMAR, Y.; REGENSTEIN, J. M.; ZHOU, P. (2019). Effects of skim milk pre-acidification and retentate pH-restoration on spray-drying performance, physico-chemical and functional properties of milk protein concentrates. **Food chemistry**, Amsterdam, v.272, p.539-548, 2019.

MACHADO, S. C. **Fatores que afetam a estabilidade térmica do leite bovino.** 2010. 132 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010.

MACHADO, S.C.; FISCHER, V.; STUMPF, M.T.; STIVANIN, S.C.B. Seasonal variation, method of determination of bovine milk stability, and its relation with physical, chemical, and sanitary characteristics of raw milk. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.46, n.4, p. 340-347, 2017.

MARQUES, L.T.; ZANELA, M.B.; RIBEIRO, M.E.R.; STUMPF JUNIOR, W.; FISCHER, V. Ocorrência do leite instável ao álcool 76% e não ácido (lina) e efeito sobre os aspectos físico-químicos do leite. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.13, n.1, p.91-97, 2007.

MARX, I.G.; LAZZAROTTO, T.C.; DRUNKLER, D. A. COLLA, E. Ocorrência de Leite Instável não Ácido na Região Oeste do Paraná. **Revista Ciência Exatas e Naturais**. Guarapuava, v. 13, n.1, p.101-102, 2011.

MOLINA, L.H.; GONZÁLEZ, R; BRITO, C; CARRILLO, B; PINTO; M. Correlación Entre la Termoestabilidad y Prueba de Alcohol de la Leche a Nivel de um Centro de Acopio Lechero. **Archivos de Medicina Veterinaria**, Valdivia, v.33, p.233-240, 2001.

NEGRI, L.; CHAVEZ, M.; TAVERNA, M.; ROBERTS, L.; SPERANZA, J. Fatores que Afectan la Estabilidad Térmica y la Prueba de Alcohol en Leche Cruda de Calidad Higiénica Adecuada. **Informe técnico final del proyecto**. Rafaela: INTA EEA/INTI CITIL, 2001. 27p.

OLIVEIRA, C.A.F.; LOPES, L.C.; FRANCO, R.C.; CORASSIN, C.H. Composição e Características Físico-químicas do Leite Instável Não Ácido Recebido em Laticínio do Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.12, n.2, p.508-515, 2011.

OLIVEIRA, D S.; TIMM, C. D. Instabilidade da Caseína em Leite sem Acidez Adquirida. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v.102, n.561-562, p.17-22, 2007.

OLIVEIRA, L. R.; OLIVEIRA, N. J. F.; GONÇALVES, A. F.; SANTOS, C. A.; MOURTHE, M. H. F.; MATIAS, A. D. Parâmetros físicos do leite e ocorrência de leite instável não ácido em diferentes municípios do norte de Minas Gerais. **Caderno de Ciências Agrárias**, Montes Claros, MG, v. 7, n. 1, p. 150-155, 2015.

PASSOS, A. A. **Qualidade de vida no trabalho**. 2017. 56f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Rural Sustentável) – Campus São Luís de Montes Belos - Universidade Estadual de Goiás, São Luís de Montes Belos, 2017.

PECORARI, M.; FOSSA, E.; AVANZINI, G. et al. Milk with abnormal coagulation: Acidity, chemical composition and observation on the metabolic profile of the cow. **Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia**, Parma, v.35, n.4, p.263-278, 1984.

PINTO, M. S.; LEMPK, M. W.; CABRINI, C. C.; SARAIVA, L. K. V.; DA CRUZ CANGUSSU, R. R.; CUNHA, A. L. F. S. Características físico-químicas e microbiológicas do queijo artesanal produzido na microrregião de Montes Claros–mg. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.71, n.1, p.43-52, 2016.

PONCE, P.; HERNÁNDEZ, R. Propriedades físico-químicas do leite e sua associação com transtornos metabólicos e alterações na glândula mamária. In: USO do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras. Porto Alegre – RS: **Gráfica UFRGS**, 2001. p. 58-68.

RIBEIRO, M. E. R.; RIBEIRO, M. E. R.; KROLOW, A. C. R.; BARBOSA, R. S.; BORGES, C. D.; ZANELA, M. B.; FISCHER, V.; VON, L. J. Ensaio preliminares sobre o efeito do Leite Instável Não Ácido (LINA) na industrialização do iogurte batido. In: **Anais... 9 Congresso Brasileiro de Qualidade do leite**. Goiânia-GO: Gráfica e Editora Talento. 2006.

ROMA JÚNIOR, L. C.; MONTOYA, J. F. G.; MARTINS, T. T.; MACHADO, P. F. Sazonalidade da proteína e outros componentes do leite e sua relação com programas de pagamento por qualidade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, MG, v. 61, p.1411-1418, 2009.

ROSA, P.P., ZANELA, M.B., RIBEIRO, M.E.R., FLUCK, A.C., ANGELO, I.D.V., FERREIRA, O.G.L., COSTA, O.A.D. Fatores etiológicos que afetam a qualidade do leite e o Leite Instável Não Ácido (LINA) REDVET. **Revista Electrónica de Veterinaria**, Málaga, v. 18, n. 12, pp. 1-17, 2017.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite. São Paulo: Manole, 2007. 314 p.

SILVA, I. B.; DE ALMEIDA FIDELLES, J.; PASSOS, A. A.; NEVES, R. B. S.; BUENO, C. P.; COELHO, K. O. (2018, Abril). Avaliação sensorial do queijo muçarela p. In **Anais** do Congresso de Ensino, Pesquisa e Extensão da UEG (**CEPE**)(ISSN 2447-8687). (v. 4), 2018.

SIMÕES, T. V. M. D.; OLIVEIRA, A. A. de. **Mastite bovina: considerações e impactos econômicos**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros. Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, v. 170, n. 1678-1953, p. 25, 2012.

SOBHANI, S.; VALIZADEH, R.; NASERIAN, A. Alcohol stability of milk and its relation to milk and blood composition in Holstein dairy cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.80, n. 1, p.85, 1998.

SOBRAL, D.; COSTA, R. G. B.; DE PAULA, J. C. J.; TEODORO, V. A. M.; MOREIRA, G. D. M. M.; PINTO, M. S. Principais defeitos em queijo minas artesanal: uma revisão. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.72, n.2, p.108-120, 2017.

SOUZA, H. P. M.; ROMERO, N. B.; DA ROSA, C. C. B. Ocorrência do leite instável não ácido (lina) na região norte do mato grosso. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.71, n.1, p.38-42, 2016.

SOUZA, P. P. M.; SOARES, K. D. A.; LIMA FILHO, C. F.; MOTA, R. A.; SILVA, M. C. D.; MEDEIROS, E. S. Ocorrência do leite instável não ácido em vacas leiteiras no município de Viçosa - AL. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v.17. n.2, p. 144-147, 2011.

SOVINSKI, Â. I.; CANO, F. G.; RAYMUNDO, N. K. L.; BARCELLOS, V. C.; & DOS SANTOS BERSOT, L. Situação da comercialização do leite cru informal e avaliação microbiológica e físico-química no município de Cafelândia, Paraná, Brasil. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, Umuarama, v. 17, n. 3, p. 159-163, 2014.

STUMPF, M. T.; FISCHER, V.; MCMANUS, C. M.; KOLLING, G. J.; ZANELA, M. B.; SANTOS, C. S.; ABREU, A. S.; MONTAGNER, P. Severe feed restriction increases permeability of mammary gland cell tight junctions and reduces ethanol stability of milk. **Animal**, Oxford, v.7, n.7, p.1137–1142, 2013.

SUÑÉ, R. W. A incidência de amostras de leite com reação positiva ao teste do álcool em diferentes concentrações na região da campanha do Rio Grande do Sul e a relação com a acidez titulável no acidímetro de Dornic. **Embrapa Pecuária Sul**. Bagé, RS, v. 260, p. 113, n. 1982-5390, 2010.

TRONCO, V. M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. 4. ed. Santa Maria: UFSM, 1997, 206p.

VOGES, J.G.; FELIPUS, N.C.; CANABARRO, L.O.; KNOB, D. A.; NETO, A.T. Relação da Infraestrutura da Propriedade e Alimentação dos Animais na Ocorrência de Leite Instável não Àcido no Planalto Norte de Santa Catarina. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.19, p.1-13, 2018.

YOSHIDA, S. Studies in the Utrecht abnormality of milke in the Miyuki Dairy Farm. **Journal of the Faculty of Japanese Applied Biology Science Hiroshima University**, Kyoto, v. 19, n.1, p.39-54, 1980.

ZANELA, M. B., KOLLING, G. J., RIBEIRO, M. E. R., FISCHER, V. Análises de composição e estabilidade do leite ao álcool In: Leche inestable. Desafios en el

Cono Sur.1 ed. Montevideo - Uruguay: Universidad de la República, v. 1, p. 9-16, 2014.

ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R.; FISCHER, V.; DE BARROS MELO, W. L. **LINA: passado, presente e futuro. evolução da pesquisa em pecuária leiteira**, 2017, 27p.

ZANELA, M. B; RIBEIRO, M. E. R. LINA-Leite Instável Não Ácido. **Embrapa Clima Temperado-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, Pelotas, RS, v. 356, n.1516-8654, 2018.

ZANELA, M.B ; RIBEIRO, M.E.R.; FISCHER, V. Ocorrência do leite instável não ácido no noroeste do Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.61, n. 4, p.1009-1013, 2009.

ZANELLA, M.B.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M.E.R.; BARBOSA, R.S.; MARQUES, L.T.; STUMPF, W.; ZANELA, C. Leite instável não ácido e composição do leite de vacas Jersey sob restrição alimentar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.5, p.835-840, 2006.

CAPÍTULO 2 – QUALIDADE E IDENTIDADE DO QUEIJO MINAS FRESCAL PRODUZIDO COM LEITE LINA AO LONGO DO PERÍODO DE ARMAZENAMENTO*

RESUMO

Objetivou-se avaliar a identidade, qualidade, rendimento e a vida de prateleira do queijo Minas Frescal produzido com leite instável não ácido (LINA). O queijo Minas frescal foi produzido, considerando dois tratamentos, queijo elaborado com leite estável e LINA. Realizou-se a determinação do rendimento bruto (Kg/L) e rendimento ajustado (g ST/L). As seguintes análises foram realizadas nos queijos, ao longo do período de armazenamento de 22 dias: pH, acidez, gordura, proteína, umidade, coliforme total (UFC/g), coliforme fecal (UFC/g), *Staphylococcus* coagulase positiva (UFC/g) e *Salmonella* sp. Os resultados foram avaliados através da ANOVA e regressão. O queijo Minas Frescal produzido com leite LINA apresentou características físico-químicas e microbiológicas de acordo ao padrão exigido pela legislação vigente; porém apresentou maior umidade e menor teor proteico quando comparado ao queijo Minas Frescal produzido com o leite estável; o que determinou um menor rendimento ajustado (g ST/L). Não foi observado efeito do LINA sobre a vida de prateleira. Conclui-se que o LINA pode ser utilizado para a produção do queijo Minas Frescal.

Palavras-chave: Alizarol. Caseína. Prova do Álcool. Sólidos Totais.

* Artigo formatado de acordo com a Revista Acta Scientiae Veterinariae

INTRODUÇÃO

O leite instável não ácido (LINA) se caracteriza pela perda de estabilidade da caseína, o que resulta na precipitação do leite na prova do álcool a 72°GL sem, contudo, haver acidez elevada (Omoarukhe et al., 2010; Stump et al., 2013; Zanela et al., 2018; LIU et al., 2019). Observa-se alterações composicionais no LINA o que altera qualidade nutricional do leite e, conseqüentemente, dos seus derivados (Zanela et al., 2006). Resultados positivos para a prova do álcool resultam na rejeição da matéria prima pela indústria laticínista (Brasil, 2011; Brasil, 2018).

Beloti (2014) relata que a acidez elevada e o conteúdo de células somáticas constituem os principais fatores que diminuem a estabilidade térmica do leite. Entretanto a perda da estabilidade pode ocorrer em leites não ácidos e dentro dos padrões preconizados pela legislação vigente (Brasil, 2011 e 2018), ou seja, o (LINA); fazendo necessário a sua diferenciação e possível aproveitamento.

As causas da instabilidade não estão totalmente esclarecidas, mas cita-se que o manejo alimentar (Zanela et al., 2006; Zanela et al., 2018), silagens com elevado teor de fibra e excesso de concentrados proteicos (Oliveira et al., 2013), dietas ou pastos ricos em cálcio, com deficiências ou desequilíbrios minerais, especialmente, Ca, P, Mg (Reis et al., 2013), estágio da lactação (Tsioulpas et al., 2007) podem ocasionar reações positivas à prova do álcool.

O volume de leite não aproveitado pelas indústrias de laticínios devido a ocorrência do LINA pode representar aproximadamente 20% do volume (Voges et. al. 2018). Considerando que o LINA não oferece risco a saúde do consumidor e que há semelhança quanto a composição do leite LINA com o leite estável, o seu aproveitamento, para a produção de derivados lácteos pode ser viável (Backes et al., 2012; Picolli et al., 2014; Rathnayake et al., 2016).

A utilização do LINA já foi avaliada, no entanto, são escassos os estudos; Ribeiro et al., (2009) avaliaram a qualidade do iogurte batido produzido a partir de LINA, detectaram qualidade semelhante ao iogurte fabricado por leite estável, sem diferença físico-química, sensorial e composicional. Lazzarotto (2013) observou que a fabricação de queijo Minas Frescal a partir de LINA, apresentou resultados semelhantes aos produtos obtidos a partir de leite estável, apontando para um tempo de vida útil adequado dos produtos fabricados a partir do LINA.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar a identidade, a qualidade, o rendimento e a vida de prateleira do queijo Minas Frescal elaborado com LINA.

MATERIAL E MÉTODOS

O leite necessário para a realização do experimento foi cedido por um Laticínio parceiro; localizado na região de São Luís de Montes Belos, Goiás. Para a identificação do leite LINA, realizou-se a sequência de análise preconizada por Zanela et al., (2018), assim foram coletadas amostras de leite, diariamente na plataforma de recepção, sendo que as mesmas foram submetidas às seguintes análises: alizarol a 72% de álcool, acidez e pH.

A cada identificação, o leite estável e LINA, foram separados e encaminhados, sob refrigeração a 5°C, ao Laticínio Escola da Universidade Estadual de Goiás (UEG) - Campus São Luís de Montes Belos, Goiás, para o processamento do queijo Minas Frescal, seguindo a metodologia de Furtado (2005). Ressalta-se que os queijos foram produzidos com o leite integral e utilizada a pasteurização lenta. Os queijos processados (0,200kg) foram conduzidos a câmara fria com temperatura entre 10-12°C, com umidade relativa do ar de aproximadamente 70%; os mesmos foram mantidos por 12h, seguindo-se da embalagem em plástico termo encolhível e armazenados em geladeira frost free a 2-4°C, por 22 dias.

No leite destinado à elaboração dos queijos, no momento da coleta, também foram amostrados dois frascos, contendo 40 mL de leite, diretamente dos tanques de refrigeração, visando o envio para realização das análises de contagem bacteriana total (CBT), contagem de células somáticas (CCS) e composição. Para a determinação da CCS do leite utilizou-se o equipamento Somascope 500 Basic® (Delta Instrumento) cujo princípio analítico baseia-se na citometria de fluxo. A CBT foi realizada por meio do Bactoscan FC® (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark), cujo princípio analítico baseia-se na citometria de fluxo. A composição do leite (gordura, proteína, lactose e sólidos totais) foi obtida através do método de absorção diferencial de ondas infravermelhas utilizando-se o equipamento Lactosope 4000®. Estas análises foram realizadas no Laboratório de Qualidade do Leite da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás (LQL/EVZ/UFG)

O rendimento de cada um dos dois tipos de queijos foi calculado de duas maneiras. A primeira consiste no volume em litros de leite necessário para a elaboração de um quilo de queijo (L/kg) (Rendimento industrial ou bruto). A outra forma se dá na divisão da massa em gramas de sólidos totais de queijo por litro de leite (g ST/L) (Rendimento econômico ou ajustado) segundo Furtado (2005) e Saboya et al. (1998). Foi aplicada a seguinte fórmula $R =$ rendimento; $P =$ quilos de queijos obtidos; $ST =$ percentagem de extrato seco dos queijos; $V =$ volume de leite utilizado.

$$R \text{ (g ST/L)} = \frac{P \times ST \times 1}{V}$$

Foram colhidas assepticamente amostras dos queijos ao longo do período de armazenamento (Dias 1, 8, 15 e 22); destinados à realização das análises físico-químicas: acidez, potencial hidrogeniônico (pH), proteína, gordura, umidade e microbiológicas através da contagem de coliformes total e fecal (termotolerantes), contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, pesquisa de *Salmonella* sp e contagem de bactérias ácido lácticas (BAC).

As análises físico-químicas e microbiológicas foram executadas em duplicata, no laboratório de bromatologia e de microbiologia do Centro de Ensino e Pesquisa Animal e Vegetal da Universidade Estadual de Goiás do Campus São Luís de Montes Belos, Goiás.

O pH do queijo foi determinado por leitura direta utilizando o potenciômetro *Thermo Scientific* modelo ORIONSTAR (Singapore), segundo a metodologia n° 981.12 da AOAC. A acidez (% m/m de ác. láctico) foi determinada por meio da titulação conforme preconizado em Brasil, (2006). A Gordura do queijo por meio do método modificado do ácido butirométrico VanGulik, descrito por Brasil, (2006). Para a determinação do Nitrogênio Total (NT) do queijo, empregou-se o método de Kjeldahl, conforme AOAC 991.20, sendo a proteína total calculada por meio da multiplicação da porcentagem de NT por 6,38. Para o parâmetro umidade as análises foram realizadas de acordo com Pereira et al (1999). Para a contagem de coliformes totais, fecais (termotolerantes); *Staphylococcus* coagulase positiva e BAC, realizou-se a técnica quantitativa através da contagem em superfície e/ou profundidade (APHA, 2015). A detecção da *Salmonella* sp foi realizada seguindo o preconizado na ISO 6579:2007.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), em parcelas subdivididas, sendo o fator LINA alocado nas parcelas e os tempos de armazenamento como subparcelas. Composto um DIC (2 x 3 x 4): dois tratamentos (queijo produzido com leite LINA e queijo produzido com leite estável), três repetições (produções 1; 2 e 3) e quatro momentos de análises (queijos armazenados por 1, 8, 15 e 22 dias).

Quanto a análise estática, realizou-se o desdobramento da análise de variância para estudar o comportamento da variável ao longo do tempo, através da análise de regressão. Em vista disso, foram feitas análises de variâncias para verificar os efeitos principais de tratamento, do tempo e da interação entre tratamento e tempo ($p \leq 0,05$). Nos casos onde

houve efeito significativo de tempo, o desdobramento foi feito através da análise de regressão que permitiu fazer interpolações para quaisquer tempos, dentro do intervalo estudado.

Os dados de rendimento foram analisados através do teste de *Student* a 5% de probabilidade. Foi utilizada a estatística descritiva para apresentação, avaliação e discussão dos resultados. As análises foram realizadas com o auxílio do programa *Bioestat 5.5*. Também foi realizada a análise considerada paramétrica contratando os resultados obtidos à legislação vigente (BRASIL, 1997 e 2001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação à qualidade da matéria-prima utilizada na fabricação dos três lotes estudados, todos os resultados se encontraram dentro dos padrões físico-químicos e microbiológicos estabelecidos pela legislação (Brasil, 2018). Os resultados médios observados foram, para leite estável e LINA, respectivamente: Acidez: 16 e 17°D; Ambas as amostras estáveis ao teste do alizarol a 72%; Gordura 3,4 - 3,5%; proteína 2,98 - 2,92%; Lactose: 4,6 e 4,7%; ST 12,86 - 12,79%; CCS 486.000 e 497.000 cél/mL; CBT: 290.000 e 291.000 UFC/mL e crioscopia: -0,539°H e -0,534°H; não foi observado diferença estatística entre o leite dos dois tratamentos.

Em estudo realizado por Embrapa (2011) os técnicos determinaram que os melhores valores lipídicos para a qualidade do queijo estão estabelecidos entre 2,5 e 3,0. Para o leite, a acidez máxima aceita pela legislação é de 18°D, o que pode ser observado para todos os resultados de acidez dos lotes envolvidos no estudo. Quando observados os sólidos do leite, verifica-se que estes também se mantiveram acima dos padrões exigidos pela legislação, de 11,4%, assim como os valores esperados para a densidade (Brasil, 2018).

Marques et al. (2007) concluíram que o leite LINA apresenta composição química diferente do leite estável, com diminuição dos teores de proteína e lactose, mas com aumento

do teor de gordura. Cita-se que leite instável não é ácido (Beloti, 2014), nem altera de forma expressiva a composição química do leite, que apresenta valores considerados normais (Corassin et al., 2013). Em relação aos teores de proteína no leite instável não ácido, os dados são controversos. Alguns autores afirmam que não há diferenças (Oliveira e Timm, 2006; Zanela et al., 2006; Rathnayake et al., 2016), enquanto que outros observaram menores concentrações deste componente no LINA em relação ao leite estável (Marques et al., 2007; Oliveira et al., 2011). Fischer et al., (2011) detectaram menores quantidades de componentes como, lactose, proteína e gordura no leite LINA em comparação ao leite estável.

A análise dos aspectos higiênico, sanitários e composicional do leite utilizado na fabricação é importante pois os produtos resultantes dependem de matéria-prima de boa qualidade, por isso o leite destinado à fabricação deve obedecer ao padrão estabelecido na legislação (Brasil, 2011/2018), e essa qualidade está diretamente relacionada às condições intrínsecas e extrínsecas adotadas na produção, obtenção e transporte do leite (Beloti, 2014).

Coelho et al. (2016) relataram que a CCS e CBT também constitui-se fatores que podem contribuir em maior ou menor grau para a apresentação de alterações significativas na produção e vida de prateleira de queijos; especialmente quando apresenta resultados superiores a 500 mil CCS e 400 mil para CBT.

Destaca-se também que a integridade microbiológica do leite é importante, uma vez que elevadas contagens de microrganismos na matéria-prima utilizada para fabricação de queijos representa um grande problema para as indústrias brasileiras (Santos e Fonseca, 2007). Além de representar um problema de saúde pública, provocam o aumento da velocidade de deterioração do produto, diminuem o rendimento e afetam a qualidade final do queijo (Cruz et al., 2018).

Ressalta-se que o queijo Minas Frescal se encontra entre os queijos mais consumidos no Brasil (Do vale, Rodrigues e Martins, 2018). Apresenta massa crua, coloração

esbranquiçada, consistência mole e textura fechada. Normalmente é vendido na forma cilíndrica, com o peso variando em torno de 0,5 a 3 kg. O queijo acabado apresenta, em média, a seguinte composição: 55% a 58% de umidade; 17% a 19% de gordura; teor de sal variando entre 1,4% e 1,6%; e pH entre 5,0 e 5,3. O Minas Frescal é um queijo consumido sem maturação, porém, a tecnologia de fabricação e, conseqüentemente, a proteólise, influenciam categoricamente na consistência, sabor e durabilidade do produto (EMBRAPA, 2011).

Considerando as características apresentadas, cita-se que os queijos, dos dois tratamentos, apresentaram características sensoriais em acordo ao citado na literatura, após o procedimento de embalagem, sendo que foram observadas peças com coloração esbranquiçada, consistência mole e textura fechada. Única diferença significativa, foi uma maior quantidade de água nas embalagens do queijo produzido com leite LINA.

A qualidade dos queijos, dentre eles o Minas Frescal, é determinada por atributos físicos, químicos, sensoriais e microbiológicos, que estão relacionados com o rendimento do processo industrial, pela condição físico-química e higiênico-sanitária das matérias-primas e dos ingredientes utilizados na fabricação dos produtos; observa-se os resultados físico-químicos e microbiológicos na Tabela 1.

Através da análise dos resultados obtidos referentes às análises físico-químicas e microbiológicas (Tabela 1), visualiza-se que os tratamentos não diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) entre si para as variáveis pH, acidez, coliforme total, coliforme fecal, *Staphylococcus coagulase positiva* e *Salmonella* sp.

Porém, cita-se que os valores de umidade e proteína foram diferentes para os tratamentos avaliados; sendo que a umidade foi superior, enquanto a proteína inferior para o queijo produzido com LINA, em relação ao queijo produzido com leite estável. Ressalta-se, que apesar das diferenças observadas, todas as amostras avaliadas, de ambos os tratamentos,

apresentaram-se em acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) dos queijos e com os Padrões Microbiológicos de Alimentos (RDC) (Brasil, 1997; Brasil, 2012).

Cita-se que as diferenças identificadas, quanto à composição físico-química do queijo; possivelmente se relaciona a utilização do tratamento térmico, o que faz com que o LINA, perda mais finos proteicos para o soro e que ocorra uma maior retenção de umidade na massa, considerando que entre as causas de ocorrência do distúrbio está o desequilíbrio na quantidade de minerais (Zanela e Ribeiro, 2018), que relaciona diretamente a estabilidade dos coágulos.

A Instrução Normativa n.4 categoriza o queijo Minas Frescal como semi-gordo, cujo sua concentração deve-se encontrar entre 25,0 a 44% de gordura no extrato seco (BRASIL, 2004; BRASIL, 1997). Barbosa et al. (2006) estudaram amostras de queijo Minas Frescal, produzida com leite estável e outra a partir de leite LINA. Detectaram que os teores de lipídios foram inferiores aos encontrados neste trabalho (16 e 17%) e a umidade obteve média superior (60 e 60%). Os pesquisadores detectaram também valores superiores de pH (6,77) para o queijo fabricado a partir do leite estável, valor igual de pH (6,70) no derivado processado com LINA e tempo de coagulação inferior (30 min) para o queijo com leite normal e tempo inferior (50 min) para a amostra com leite LINA, fato que não foi observado neste trabalho, sendo que o tempo de coagulação foi semelhante para ambos.

O levantamento realizado por Silva (2008) relacionado à caracterização físico-química dos queijos Minas Frescais, elaborados pelos agricultores familiares na região de Guarapuava, constataram que os valores de umidade desse produto variaram de 36,4 a 61,67%, demonstrando a falta de padrão na elaboração desse tipo de queijo na região. O mesmo foi observado neste estudo, onde uma das amostras apresentou seu teor de umidade característico de um queijo maturado. Furtado (2005) estabelece que a umidade característica de queijos

Minas Frescal varia entre 55% e 60%, uma umidade muito superior a esses valores pode comprometer a qualidade do queijo quanto a vida de prateleira.

Quanto à qualidade, observa-se que os queijos se apresentaram, independente do tratamento (queijo produzido com LINA ou leite estável), com crescimentos não contabilizados, sem crescimento para todos os itens avaliados, cita-se que tal fato relaciona-se a adoção das boas práticas de fabricação e a correta pasteurização do leite utilizado na realização das produções; já que o leite LINA não possui risco microbiológico, assim como já relatado por Rathnayake et al. (2016).

Os resultados das análises de identidade e qualidade, para os três tratamentos de queijo Minas Frescal, durante o armazenamento nos tempos 1, 8, 15 e 22 dias, estão apresentados na Tabela 2.

A proteína, gordura e as análises microbiológicas não sofreram interferência do tempo de armazenamento sobre os percentuais encontrados nos queijos; observou-se interação do tipo de leite sobre os teores iniciais e finais de proteína e umidade.

Cita-se uma tendência progressiva da umidade do queijo Minas elaborado com leite estável e um comportamento regressiva da umidade do queijo produzido com LINA; em função do tempo de armazenamento sob refrigeração, com diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tempos avaliados.

Em relação a umidade, considera-se que os alimentos, incluindo os queijos, são formados por uma combinação de diferentes componentes e, por essa razão, geralmente, existem em um estado de não equilíbrio amorfo. Materiais amorfos são compostos susceptíveis às mudanças de temperatura e pressão do ambiente, de modo que pequenas variações nas condições ambientais podem provocar mudanças de estado em alguns componentes, causando mudanças estruturais indesejáveis, sobretudo, relacionadas ao teor de água (Leite et al., 2005). Sendo assim, os resultados encontrados neste trabalho identificaram

variações ao decorrer dos 22 dias de armazenamento.

A porcentagem de proteína não variou ao longo do tempo, apresentando teores médios inicial de 18,58 – 18,31 e final de 18,43 e 18,32 para queijo produzido com leite estável e LINA respectivamente; resultados não próximos aos mencionados por Sangaletti et al., (2019) que indicaram que o teor médio de proteína, pode variar de acordo com os procedimentos de obtenção do leite e processamento do queijo, contudo apresentando médias entre 12 a 20% de proteína. Relata-se que foi utilizado na produção o cloreto de cálcio; o que contribui com uma maior interação entre as moléculas de caseína e melhor expulsão do soro, também reforçada pela etapa de prensagem da massa; contribuindo desta forma para uma maior retenção proteica.

As proteínas dos queijos são degradadas por ações enzimáticas durante o período de estocagem, já no presente estudo estas reações não influenciaram significativamente o teor de proteínas ao final dos dias de análise, com comportamento linear ao longo dos dez dias de armazenamento para os Queijos Minas Frescal.

Resultados diferentes quanto ao comportamento proteico em queijos Minas Frescal, foram observados por Lazzarotto (2013) que analisaram a estabilidade do queijo Minas Frescal produzido com leite LINA contrastando ao queijo comercial, a autora observou-se resultados superiores de proteínas e diferença estatística ao longo do tempo. A porcentagem média de proteína encontrada nos queijos armazenados de Lazzarotto (2013), variou de 21,65 a 27,63% para o ensaio com LINA e 22,20 a 25,09 para a amostra adquirida em estabelecimentos varejistas.

Sangaletti et al. (2009) avaliaram o queijo Minas de seis marcas durante trinta dias de armazenamento e encontraram valores para proteínas mais elevados, variando entre 21,29 e 22,10%, não tendo apresentado diferença significativa entre o primeiro e o trigésimo dia de armazenamento, indicando que a ação proteolítica dos queijos não alterou significativamente os teores de proteínas.

Os teores de gordura das amostras de queijo não tiveram variação estatística apresentando uma média final (25,37); dentro dos limites preconizados pela legislação vigente (Brasil, 1997). Valores inferiores a estes foram encontrados por Rosa (2004) (20,5%) e Furtado e Lourenço Neto (1994) (23) em estudos realizados com amostras de queijo Minas Frescal comercializados nacionalmente. Sangaletti et al., (2019) também observaram que a gordura do queijo Minas Frescal comercial não teve variação estatística ao longo de vida de prateleira de 30 dias, no entanto, ressalta-se que os resultados foram inferiores com uma média final de 21,25%.

Em relação a qualidade microbiológica, cita-se que não houve diferença, quanto ao tempo de armazenamento e tipo de tratamento; e nem interações. Este resultado relaciona-se ao controle das condições de produção e de armazenamento dos queijos, pontuando que os mesmos foram fabricados e armazenados segundo o preconizado quanto as práticas de BPF. Além da pasteurização que garante a destruição dos microrganismos termosensíveis. Cita-se que a embalagem termo-recolhível também auxilia na manutenção das características microbiológicas do produto (Beloti, 2014). Quanto ao rendimento, observa-se na Tabela 3; os resultados obtidos.

Nota-se na Tabela 3 que não houve diferença significativa no rendimento em Kg de queijo/litros de leite, ou seja, rendimento industrial/bruto; no entanto, quando se considera o rendimento ajustado ou econômico, sólidos obtidos de queijo por litro de leite utilizado, observa-se que o queijo produzido com LINA teve um menor rendimento; isso devido provavelmente a incorporação de umidade na massa e a menor retenção de proteína, item já discutido nas Tabelas 1 e 2.

A redução dos componentes lácteos observadas no LINA poderia resultar em menor rendimento na produção de derivados lácteos, embora esse aspecto deva ser ainda melhor esclarecido (Ponce Ceballo e Aguilera, 2009). Neste trabalho não foram observadas

diferenças significativas quanto a composição do LINA; fato também ilustrado por Costabel et al., (2009).

O rendimento é influenciado pelo processo de produção e devido às características da matéria prima, no entanto Souza et al., (2016) relataram que o queijo LINA aponta menor porcentagem de proteínas e minerais que interfere na incorporação de sólidos na massa do queijo e no período de coagulação. Os minerais não foram estudados no trabalho; porém tal fato possa ter contribuído para o menor rendimento econômico/ ajustado; mas relata-se ainda que o queijo foi produzido utilizando o cloreto de cálcio, visando auxiliar a coagulação. Sabe-se que o LINA é desclassificado pelas indústrias e laticínios; portanto há viabilidade na utilização deste tipo de leite, e diante disso pode conseguir utilizar esse leite sem ter o desperdício alinhando a questão de desenvolvimento rural sustentável.

Segundo Furtado e Lourenço Neto (1994) o queijo tipo Minas Frescal apresenta variação em relação aos padrões de consistência, textura, sabor, durabilidade e rendimento em função dos diferentes métodos de processamento utilizados, do teor de umidade e da composição do leite; contudo, ressalta-se que as produções foram padronizadas.

Costabel et al. (2009) estudaram a relação entre os queijos produzidos com leite estável e LINA e concluíram que o rendimento varia entre 11,87 e 12,07 para as amostras estáveis e entre 11,16 e 11,77 para as amostras instáveis. Seus estudos também concluíram que leites positivos ao teste do álcool 72% e 80% e em boas condições higiênico-sanitárias tem boa aptidão para a coagulação, de modo que eles podem ser perfeitamente utilizados para a fabricação de queijos.

Observa-se na Tabela 4 a vida de prateleira do queijo Minas Frescal elaborados com leite estável e LINA.

Todas as formulações tiveram uma redução do pH e aumento da acidez ao longo das quatro semanas de vida de útil. A queda do pH e o aumento da acidez dos queijos durante o

armazenamento refrigerado são decorrentes da pós-acidificação e estão relacionados à contínua metabolização da lactose pela microbiota contida no produto.

Portanto o tempo influenciou o pH e acidez de ambos os queijos ao longo do período de armazenamento de 22 dias. Ao comparar os valores de pH das amostras no final da vida de prateleira com os valores obtidos no início, observa-se uma diminuição, evidenciando o mecanismo de pós-acidificação característico de culturas lácticas. O acompanhamento do pH durante a estocagem do produto é um fator determinante nas características sensoriais do produto e de seu estado de conservação (Oliveira et al., 2016). Buriti, Rocha e Saad (2005) estudaram o queijo Minas frescal por um período de 21 dias armazenado à temperatura de 8 °C; também observaram uma redução no pH de 6,16 a 5,38 (diferença de 0,78) entre o 1º dia e o 21º dia de armazenamento e um aumento na acidez titulável em ácido láctico de 0,36%. Os tratamentos mantiveram o valor de acidez titulável dentro do padrão estabelecido pela literatura consultada (Embrapa, 2011) durante as quatro semanas de armazenamento (Tabela 4), resultado que demonstra a longa vida útil dos queijos produzidos.

Em relação as contagens de bactérias ácidos lácticas observa-se aumento ao longo do período de armazenamento (4,61 e 4,12 dia 1º e média final de 6,14 e 6,21 log UFC.g⁻¹), sem, contudo, haver diferenças entre o LINA e leite estável a partir da segunda avaliação, que ocorreu aos 8 dias; Sangaletti et al., (2019) também relataram o aumento das BAC em estudo sobre a vida de prateleira de queijo Minas Frescal apontando que a população inicial de 3,48 e 9,53 log UFC.g⁻¹ no 30º dia com crescimento médio final de 6,56 log UFC.g⁻¹; cita-se que as BAC ocasionam o aumento da acidez pelo fato de fermentarem a lactose e formarem ácido láctico. As bactérias lácticas são responsáveis pelas transformações bioquímicas de lipídios e proteínas em diferentes compostos desenvolvendo *flavor*, caracterizando o produto final quanto ao sabor, aroma e textura.

Cita-se que a carência de dados científicos na literatura especializada impossibilita

discussões comparativas em relação aos derivados elaborados a partir do leite LINA, sendo de extrema importância pesquisar a influência deste leite sobre a qualidade e o rendimento industrial dos derivados lácteos. Considerando estes resultados e alinhando aos observados quanto as características físico químicas e microbiológicas, observa-se que o leite LINA pode ser utilizado para a produção de queijos Minas Frescal o que irá minimizar os impactos econômicos e ambientais relacionados ao descarte.

CONCLUSÃO

Conclui-se, com base na análise paramétrica e avaliação estatística, que o queijo tipo Minas Frescal apresentaram características de identidade, qualidade e vida de prateleiras, adequadas, por isso, o leite instável poderia ser utilizado na fabricação deste derivado lácteo; apesar do menor rendimento ajustado, quando comparado ao queijo produzido com leite estável.

REFERÊNCIAS

- Apha. 2015.** *American Public Health Association Compendium of Methods for the Microbiological Examination of foods*. 5. ed. v. 9, 2015.
- Backe, S. G., Stefani, L.M. & Pasetti, M. 2012.** Leite termicamente instável – problemas e soluções tecnológicas. *Revista de Ciências Agroveterinárias*. Lages, 11(3):254-260.
- Barbosa, R. S., Júnior, J.C.R., Tamanini, R., Araújo, J.P.A., Yamada, A.K & Antônio. N. S. 2006.** Ensaio preliminares sobre o efeito do leite instável não ácido (LINA) na industrialização do queijo minas frescais. In: Encontro de iniciação científica e pós-graduação da embrapa clima temperado. 1. Pelotas, **Anais...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2006.
- Beloti, V. Júnior, J.C.R., Tamanini, R., Araújo, J.P.A., Yamada, A.K. & Antônio. N. S. 2014.** Enumeração de microrganismos psicotróficos e termotróficos psicotróficos de leite: comparação de metodologias. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*. Juiz de Fora, 70 (1): 1723, 2014.
- Brasil. 1997.** Ministério da Agricultura. Decreto nº 30.691 de 29 de março de 1952, alterado pelos Decretos nº 1255 de 25 de junho de 1962, nº 1236 de 2 de setembro de 1994, nº 1812 de 8 de fevereiro de 1996 e nº 2.244 de 4 de junho de 1997. *Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal* - RIISPOA. Brasília, DF, 1997.

Brasil. 1996. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146 de 07 de março de 1996. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos e Regulamento Técnico Geral para a Fixação dos Requisitos Microbiológicos de Queijos. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Produtos Lácteos. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, 11 mar. 1996. Seção1, p. 3977.

Brasil. 2001. Agência Nacional de Vigilância Sanitária –ANVISA. Resolução RDC nº12, de 2 de janeiro de 2001, dispõe sobre Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos, revogando a portaria SVS/MS 451, de 19 de setembro de 1997. *Diário Oficial da União*, Brasília 10 de janeiro.

Brasil. 2004. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 04, de 01 de março de 2004. Inclusão do termo Muito na expressão Alta Umidade nos itens 2.2 (Classificação), 4.2.3 (Requisitos Físico-Químicos) e 5.1 (Aditivos), no Regulamento Técnico para fixação de Identidade e Qualidade do queijo Minas frescal. *Diário Oficial da União*, Brasília, 05 março.

Brasil. 2006. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº68 de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos, conformidade com o anexo desta Instrução Normativa determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. *Diário Oficial da União*, Brasília, 14 de dezembro. Seção 1, página 8.

Brasil. 2011. Instrução Normativa nº 62 de 29 de dezembro de 2011. Aprova o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. *Diário Oficial da União*, Brasília, 30 dez. 2011. Seção 1, p.1-24.

Brasil. 2012. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Resolução Da Diretoria Colegiada – RDC nº 53, de 02 de outubro De 2012. Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL- Metodologias Analíticas, Ingestão Diária Admissível e Limites Máximos de Resíduos para Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal. *Diário Oficial da União*, Brasília, 02 de outubro.

Brasil. 2017. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 9.013, DE 29 de março de 2017. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, 30 março. 2017, Seção 1.Página 3.

Brasil. 2018. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 77, de 26 de Novembro de 2018. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, na Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, no Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017, que dispõe sobre os procedimentos para a produção, acondicionamento, conservação, transporte, seleção e recepção do leite cru em estabelecimentos registrados no serviço de inspeção oficial *Diário Oficial da União*, Brasília, 2 julho. 2018, Seção 1.Página 2.

Brasil. 2018. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº76, de 26 de novembro de 2018. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, na Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, no Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017, que

dispõe o Regulamento Técnico que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A. *Diário Oficial da União*, Brasília, 30 novembro. 2018, Seção 1. Página 9.

Furtado, M. M. 2005. *Principais problemas dos queijos: causas e prevenção*, 2. ed. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora, 200 p.

Buriti, F. C. A., Rocha, J. S. & Saad, S. M. I. 2005. Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas fresh cheese and implications for textural and sensorial properties during storage. *International Dairy Journal*, Cambridge, 15 (2) :1279-1288.

Coelho, K. O., Da Silva, A. A., Braga, P. D. C., Melo, C. S., Bueno, C. P. 2016. Efeito do nível de células somáticas sobre o rendimento do queijo prato. *PUBVET*, São Paulo, v.6, Art-1352.

Costabel, L. M. 2009. Estudio de la relación entre aptitud a la coagulación por cuajo y prueba de alcohol en muestras de leche de vacas individuales. In: I Conferência Internacional Sobre Leite Instável. 1., 2009, Pelotas. **Anais...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado.

Cruz, A. G., Zacarchenco, P. B., Corassin, C. H. & Oliveira, C. A. F. 2018. *Microbiologia, higiene e controle de qualidade no processamento de leites e derivados*. São Paulo: Elsevier Brasil, v.4.

Do Vale, R. C., Rodrigues, M. P. J., Martins, J. M. 2018. Influência do tipo de fermento nas características físico-químicas de queijo Minas artesanal do serro-Minas Gerais, maturado em condições controladas. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, 73(2):82-90.

Embrapa. 2011. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. In: Silva, F. T. *Queijo Minas frescal*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica.

Fischer, V. 2012. Leite instável não ácido: um problema solucionável? *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, Salvador, 13(3):838-849.

Furtado, M. M. 2005. *Principais problemas dos queijos: causas e prevenção*, 2. ed. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora, 200 p.

Furtado, M. M. & Lourenço Neto, J. P. De M. 1994. *Tecnologia de queijos*. Manual Técnico para a Produção Industrial de Queijos. São Paulo: Dipemar, 1994. 112p.

Lazzarotto, T. C. 2013. Estudo da viabilidade técnica na industrialização de derivados lácteos a partir da utilização do leite instável não ácido (LINA). 2013. *Trabalho de Conclusão de Curso*. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Leite, J. T. C., Murr, F. E. X. & Park, K. J. 2005. Transições de Fases Em Alimentos: Influência no Processamento e na Armazenagem. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, Campina Grande, 7(1):83-96.

Liu, D., Zhang, J., Yang, T., Liu, X., Hemar, Y., Regenstein, J. M. & Zhou, P. 2019. Effects of skim milk pre-acidification and retentate pH-restoration on spray-drying performance, physico-chemical and functional properties of milk protein concentrates. *Food Chemistry*, Amsterdam, 272:539-548.

Lopes, L. C. 2008. Composição e Características Físico-químicas do Leite Instável Não Ácido (LINA) na Região de Casa Branca Estado de São Paulo. 2008. p.64. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programama de Pós Graduação em Zootecnia, Universidade de São Paulo, Piranssununga.

Marques, L.T., Zanela, M.B., Ribeiro, M.E.R., Stumpf Junior, W. & Fischer, V. 2007. Ocorrência do leite instável ao álcool 76% e não ácido (lina) e efeito sobre os aspectos físico-químicos do leite. *Revista Brasileira de Agrociência*, Pelotas, 13(1)91-97.

Oliveira, C.A.F., Lopes, L.C., Franco, R.C. & Corassin, C.H. 2011. Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido recebido em laticínio do Estado de São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, Salvador, 12(2):508-515.

Oliveira, C.A.F., Lopes, L.C., Rosim, R.E., Fernandes, A.M. & Corassin, C.H. 2013 Composition, somatic cell count and casein fractions of ethanol unstable milks. *Revista Acta Scientiarum*, Maringá, 35(1):153-156, 2013.

Oliveira, D S. & Timm, C. D. 2007. Instabilidade da caseína em leite sem acidez adquirida. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, Lisboa, 102(561-562):17-22.

Oliveira, K. A. M., Jardim, D. M., Chaves, K. S., Oliveira, G. V. & Vidigal, M. C. T. R. 2016. Avaliação físico-química, microbiológica e sensorial de queijo minas frescal de leite de cabra desenvolvido por acidificação direta e fermentação láctica. *Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, 71(3):166-178.

Omoarukhe, E. D., On-Nom, N., Grandison, A. S. & Lewis, M. J. 2010. Effects of different calcium salts on properties of milk related to heat stability. *International Journal of Dairy Technology*, Cambridge, 63(4): 504–511.

Pereira, D.B.C., Silva, P.H.F., Costa Jr., L. C.G. & Oliveira, L.L. 2001. *Físico química do leite e derivados* – Métodos analíticos. 2 ed. Revisada e ampliada, Juiz de Fora: EPAMIG, 234p.

Picoli T., Zani J.L., Bandeira F., Roll V.F.B., Ribeiro M.E.R., Vargas G.D.Á., Hübner S.O., Lima M., Meireles M.C.A. & Fischer G. 2014. Manejo de ordenha como fator de risco na ocorrência de micro-organismos em leite cru. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, 35(4): 2471-2480.

Ponce Ceballo, P. & Aguilera, G. P. 2009. Síndrome de Leche Anormal: un enfoque integral sobre las alteraciones em lãs características físico-químicas de la leche en las condiciones de Cuba. In: I Conferência Internacional Sobre Leite Instável. 1, Pelotas. **Anais...** Pelotas: Brasil.

Rathnayake, R.M.C.S., Mangalika, U.L.P., A. M. J. B. Adikari, A.M.J.B. & Nayananjalie, W. A. D. 2016. Changes in compositional and keeping quality parameters of cow milk on ethanol stability. *International Journal of Livestock Research*, India, 6(4):83-89.

Reis, C. B. M., Barreiro, J. R., Mestieri, L., Porcionato, M. A. F. & Santos, M. V. 2013. Effect of somatic cell count and mastitis pathogens on milk composition in Gyr cows. *Veterinary Research*, Paris, 9(1):67.

Ribeiro, M. E. R., Schafhäuser Junior, J. & Zanela, M. B. 2009. *Leite instável: avanços científicos e caminhos para inovações na América Latina*. Pelotas: Embrapa Clima Temperado.

Rosa, V. P. 2004. Efeitos da atmosfera modificada e da irradiação sobre as características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais do queijo Minas frescal. Piracicaba, 2004. *Dissertação* (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo.

Saboya, L. V., Oliveira, A.J. & Furtado, M.M. 1998. Efeitos físico-químicos da adição de leite reconstituído na fabricação de queijo Minas frescal. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 18(4):368-376.

Sangaletti, N., Porto, E., Brazaca, S. G. C., Yagasaki, C. A., Dalla Dea, R. C. & Silva, M. V. 2009. Estudo da vida útil de queijo Minas. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas - SP, 29(1):262-269..

Santos, M.V.& Fonseca, L.F.L. 2001. Importância e efeito de bactérias psicrotólicas sobre a qualidade do leite. *Higiene Alimentar*, São Paulo, 15(82): 13-19.

Silva, T. V. 2008. Caracterização físico-química de queijos tipos Minas Frescal produzidos por pequenos produtores do município de Guarapuava e região. *Salão de Extensão e Cultura*, São Paulo, 4(6)35.

Souza, H. P. M., Romero, N. B. & Rosa, C. C. B. 2016. Occurrence of unstable milk not acid in the north state of Mato Grosso, Brazil. **Revista do Instituto Laticínios Cândido Tostes**, Juíz de Fora, v. 71, n. 1, p. 38-42, 2016.

Stumpf, M. T., Fischer, V., Mcmanus, C. M., Kolling, G. J., Zanela, M. B., Santos, C. S., Abreu, A. S. & Montagner, P. 2013. Severe feed restriction increases permeability of mammary gland cell tight junctions and reduces ethanol stability of milk. *Animal*, Pelotas, 7(7):1137–1142.

Tsioulpas, A., Lewis, M.J. & Grandison, A.S. 2007. Effect of minerals on casein micelle stability of cows' milk. *Journal of Dairy Research*, Champaign, 74(2):167-173.

Voges, J.G., Felipus, N.C., Canabarro, L.O., Knob, D. A. & Neto, A.T. 2018. Relação da Infraestrutura da Propriedade e Alimentação dos Animais na Ocorrência de Leite Instável não Àcido no Planalto Norte de Santa Catarina. *Ciência Animal Brasileira*, Goiânia, 19(1):1-13.

Zanela, M. B. & Ribeiro, M. E. R. 2018. *LINA-Leite Instável Não Ácido*. Embrapa Clima Temperado-Comunicado Técnico (INFOTECA-E), 2018.

Zanella, M.B., Fischer, V., Ribeiro, M.E.R., Barbosa, R.S., Marques, L.T., Stumpf, W. & Zanela, C. 2006. Leite instável não ácido e composição do leite de vacas Jersey sob restrição alimentar. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 41(5):835-840.

Tabela 1 – Identidade e qualidade dos queijos Minas Frescal elaborados com leite estável e leite instável não ácido (LINA)

Parâmetros avaliados	Leite estável	LINA	Padrão
pH*	6,12 ± 0,01a	6,14 ± 0,02a	4,50 a 6,8*
Acidez (g ácido láctico/ g de queijo)	0,59 ± 0,01a	0,57 ± 0,02a	-----
Umidade (%)	56,4 ± 2,45a	61,8 ± 3,58b	>55 ¹
Proteína (%)	18,58 ± 0,46a	18,31 ± 2,96b	12 a 18**
Gordura (%)	25,44 ± 0,61a	25,01 ± 1,51a	25 a 44,9 ¹
Coliforme total (UFC/g)	<3,0 ± 0,00a	<3,0 ± 0,00a	-----
Coliforme fecal (UFC/g)	<3,0 ± 0,00a	<3,0 ± 0,00a	500 ¹
<i>Staphylococcus</i> ² (UFC/g)	<10 ± 0,00a	<10 ± 0,00a	100 ¹
<i>Salmonella</i> sp	Ausência a	Ausência a	Ausência/25g ¹

Valores com mesma letra na linha não diferiram significativamente entre si ($p \leq 0,05$). *EMBRAPA, 2011.

**Sangaletti et al. (2009). ¹Regulamento de identidade e qualidade do queijo minas frescal e RDC nº 12.

²Coagulase positiva.

Tabela 2 - Identidade e qualidade dos queijos Minas Frescal, elaborados com leite estável e leite instável não ácido (LINA), ao longo do período de armazenamento de 22 dias

Tratamentos	1° dia	8° dia	15° dia	22° dia	CV(%)	R**
Umidade (%)						
Estável	56,4aA	57,3 aA	58,8 bA	59,4 bA	17,15	Linear
LINA	61,8aB	61,3 bB	61,0 bB	60,2 bB		
Gordura (%)						
Estável	25,44 aA	25,14 aA	25,87 aA	25,37 aA	10,86	ns
LINA	25,01 aA	25,45 aA	25,46 aA	25,38 aA		
Proteína (%)						
Estável	18,58aA	18,08aA	18,38 aA	18,43 aA		
LINA	18,31aB	18,45aB	18,96 aA	18,32 aA	9,12	ns
Coliforme total e fecal/ termotolerante (log UFC.g ⁻¹) - todos aA						
Estável	0,48 ± 0,0	0,48 ± 0,0	0,48 ± 0,0	0,48 ± 0,0	0,0	ns
LINA	0,48 ± 0,0	0,48 ± 0,0	0,48 ± 0,0	0,48 ± 0,0		
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva (log UFC.g ⁻¹) - todos aA						
Estável	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,0	0,0	ns
LINA	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,0		
<i>Salmonella</i> sp (presença em 25g) - todos aA						
Estável	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0	ns
LINA	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0		

NS: não significativo para $p \leq 0,05$ pela Análise de Variância. Letra diferentes minúsculas na linha e maiúsculas nas colunas, são diferentes para $p \leq 0,05$. ** Efeito linear para o tempo.

Tabela 3 – Rendimentos dos queijos Minas Frescal elaborados com leite estável e leite instável não ácido (LINA)

Parâmetros avaliados	Queijos	Queijos
	Leite estável	LINA
Rendimento (Kg de queijo/100 litros de leite)	13,27a	13,78a
Rendimento ajustado (Kg de ST de queijo /100 litros de leite)	12,31a	11,18b

*Letras diferentes na mesma coluna difere entre si para $p \leq 0,05$

Tabela 4 - Vida de prateleira dos queijos Minas Frescal elaborados com leite estável e leite instável não ácido (LINA), ao longo do período de armazenamento de 22 dias

Tratamentos	1° dia	8° dia	15° dia	22° dia	CV(%)	R**
pH						
Estável	6,21aA	5,85aB	5,53aB	5,40 aC	15,76	Linear
LINA	6,18aA	5,85 aB	5,53 aB	5,30 aC		
Acidez (g ácido láctico/ g de queijo)						
Estável	0,59 aA	0,61 aB	0,64 aB	0,72 aC	17,22	Linear
LINA	0,57 aA	0,62 aB	0,63 aB	0,75 aC		
Bactérias Ácido Lácticas (log UFC.g ⁻¹)						
Estável	4,61aA	5,51 aB	6,12 aC	6,14 aC	29,31	Linear
LINA	4,12bA	5,33 aB	6,17 aC	6,21 aC		

NS: não significativo para $p \leq 0,05$ pela Análise de Variância. Letra diferentes minúsculas na linha e maiúsculas nas colunas, são diferentes para $p \leq 0,05$. ** Efeito linear para o tempo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O leite instável não ácido (LINA) constitui-se em um problema em rebanhos leiteiros do país, especialmente, nos meses de estiagem, compreendendo as estações de inverno e outono. Observou-se na revisão da literatura especializada que no país que entre 10 e 20% do leite produzido apresenta-se instável ao teste de álcool, tal fato, torna-se preocupante já que o MAPA, estabelece o não aproveitamento desta matéria prima; havendo necessidade de se classificar este leite e no caso do LINA, que não oferece risco ao consumidor, utiliza-lo de maneira mais satisfatória possível.

Com base na análise paramétrica e avaliação estatística, o queijo tipo Minas Frescal não apresentaram diferenças identidade, qualidade e vida de prateleira significativas e que, por isso, o leite instável pode ser utilizado na fabricação deste derivado lácteo, apesar de ter um menor rendimento industrial, fator que não supera o impacto causado pelo descarte do leite, ou seja, torna-se viável já que 10% do leite, atualmente “dados da literatura”, obtido na região pode ser descartado devido ao LINA.

O queijo LINA apresentou-se mais úmido, tornando-o mais macio e fresco; porém tal fato não relacionou a uma menor vida útil. Sendo assim, os resultados obtidos comprovaram que as boas práticas de higiene propuseram um queijo com acidez adequada, ausência de bactérias deteriorantes e patogênicas; ressalta-se ainda que do ponto de vista microbiológico; o queijo apresenta dentro dos padrões estabelecidos, determinando a segurança do alimento.

Deste modo, considerando os resultados obtidos, propõe-se uma alternativa para o aproveitamento do leite LINA, à produção do queijo Minas Frescal, buscando agregar valor e trabalhando para minimizar as perdas do produtor leiteiro e indústrias de laticínios; auxiliando os órgãos de defesa no que diz respeito à padronização deste tipo de produto.

Salienta-se que a caracterização deste tipo de produto pode se tornar viável, especialmente, para a produção artesanal, já que o LINA, torna-se difícil de levar ao laticínio, já que não pode ser misturado ao leite estável no caminhão tanque; sua utilização na agricultura familiar pode representar uma saída para agricultura familiar, minimizando os impactos ambientais através da redução de desperdícios do LINA e auxiliando no desenvolvimento rural sustentável.