

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS
CAMPUS FRANCISCO BELTRÃO**

**LUANA CAMILA CARARA
SAMARA FONTANA**

**VALOR CALÓRICO E DETERMINAÇÃO DE NATAMICINAEM
QUEIJOS TIPO GORGONZOLA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO II

FRANCISCO BELTRÃO

2015

LUANA CAMILA CARARA
SAMARA FONTANA

VALOR CALÓRICO E DETERMINAÇÃO DE NATAMICINA EM QUEIJOS TIPO GORGONZOLA

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do Curso de Tecnologia em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Câmpus Francisco Beltrão, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ivane Benedetti Tonial
Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Fabiane Picinin Castro Cislaghi

FRANCISCO BELTRÃO

2015

FOLHA DE APROVAÇÃO

VALOR CALÓRICO E DETERMINAÇÃO DE NATAMICINAEM QUEIJOS TIPO GORGONZOLA

Por

**LUANA CAMILA CARARA
SAMARA FONTANA**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos, no Curso Superior de Tecnologia em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

BANCA AVALIADORA

Prof^a. Dr^a. Alessandra Machado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR

Prof^a. Dr^a. Andréa Catia Leal Badaró
Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR

Prof^a. Dr^a. Ivane Benedetti Tonial
Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR
(Orientador)

Prof^a. Dr^a. Andréa Catia Leal Badaró
Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR
(Coordenadora do curso)

Francisco Beltrão, 26 nov. 2015.

“A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso.”

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaríamos de agradecer a Deus pelo dom da vida e por sempre iluminar nossos caminhos.

Em especial a nossa orientadora Prof^a Ivane Benedetti Tonial, pois sem suas orientações e ensinamentos não teria sido possível a realização desse trabalho. A nossa co-orientadora Fabiane Picinin de Castro Cislighi, por toda ajuda prestada a nós. Aos professores formadores da banca, pelas sugestões, as quais só ajudaram a engrandecer nosso trabalho. Aos colegas João Paulo Fernando Mileski, Caroline Giani de Carli e Jaqueline Laurindo, por toda ajuda fornecida a esse projeto.

A todos os professores do Curso de Tecnologia em Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus de Francisco Beltrão, os quais contribuíram para nossa formação.

Ao campus da UTFPR Francisco Beltrão pela disponibilidade e estrutura necessária para realização dos trabalhos.

Aos colegas de universidade, os quais se tornaram grandes amigos, em especial a Artur Ferreira e Camila Sartori Pavan, os quais nos auxiliaram no projeto e nunca nos deixaram na mão, os levaremos para sempre conosco.

Luana agradece também: Aos meus pais Pedro Carara e Marlene Araujo Carara e meu irmão Lucas Carara que me deram todo apoio tanto financeiro como pessoal, aos quais serei eternamente grata. Ao meu noivo José Augusto Nazario, que esteve sempre ao meu lado, além de seu grande auxílio na elaboração desse projeto fazendo com que eu nunca desistisse dos meus objetivos. A toda minha família por todo apoio o qual garantiu em minha formação.

Samara quer agradecer: Ao meu pai Ivo Fontana, que infelizmente não está mais aqui, mas foi meu exemplo de luta e superação e sei que de alguma forma me iluminou nessa trajetória. Minha mãe Solange Dalla Vecchia e meu padrasto Claudionei Milani que sempre me apoiaram e não mediram esforços para me ajudar, sem eles nada disso seria possível hoje. Sou eternamente grata a vocês, obrigada por tudo.

Enfim a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para que esta conquista pudesse ser alcançada.

*“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades.
Lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram
conquistadas do que parecia impossível.”*

Charles Chaplin

RESUMO

CARARA, Luana C.; FONTANA, Samara. **VALOR CALÓRICO E DETERMINAÇÃO DE NATAMICINA EM QUEIJOS TIPO GORGONZOLA.** p 41. Projeto do Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Tecnologia em Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Francisco Beltrão, 2015.

O presente trabalho teve como objetivo, determinar a concentração de natamicina em queijo tipo gorgonzola. O queijo tipo Gorgonzola, pertence a família dos queijos azuis é maturado pelo fungo *Penicillium roqueforti*. Foram coletadas amostras de três diferentes marcas de queijo gorgonzola. A concentração de natamicina foi avaliada na casca do produto (2 mm) de profundidade, sendo esta determinada por meio de espectrofotômetro com utilização de radiação ultravioleta, com comprimento de onda de 317 nm. O pH e acidez também foram determinados assim como o valor nutricional, por meio de avaliações físico-químicas como composição proximal e valor energético. Os resultados demonstraram diferenças significativas entre as amostras, tanto nos aspectos físico-químicos quanto para teor de natamicina. O teor de natamicina ficou em conformidade com a legislação para duas amostras, para a terceira a concentração deste antibiótico ficou acima do permitido, no entanto, o teor de natamicina não interferiram nas características físico-químicas finais das amostras de queijo avaliada.

Palavras-chave: Queijo Gorgonzola. Valor nutricional. Natamicina.

ABSTRACT

CARARA, Luana C.; FONTANA, Samara. **CALORIC NATAMYCIN VALUE AND DETERMINATION IN TYPE CHEESE GORGONZOLA.** p 41. Course Completion Project - Food Technology, Federal Technological University of Parana. Francisco Beltrão, 2015.

This study had as objective to determine the concentration of natamycin in type cheese gorgonzola. The type cheese gorgonzola, the family of blue cheeses are matured by the fungus *Penicillium roqueforti*. Samples from three different brands of gorgonzola cheese was collected. The concentration of natamycin was evaluated in the bark of the product (2mm) depth, which was determined by spectrophotometer with the use of ultraviolet radiation. The pH and acidity were determined too as well as the nutritional value, by means of physico-chemical evaluations as proximal composition and calorific value. The results showed significant differences among the samples, both in the physical-chemical aspects as to natamycin content. The natamycin content was in accordance with the legislation for two samples, to other the content was above the allowed, however the natamycin content not interfere with the final physical-chemical characteristics of the samples of cheese. Also it was found that the best method for application natamycin in cheese is by immersion.

Keywords: Gorgonzola cheese. Nutritional value. Natamycin.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 OBJETIVOS	8
2.1 OBJETIVO GERAL	10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
3 REVISÃO DE LITERATURA	11
3.1 LEITE	11
3.2 QUEIJO	11
3.3 TIPOS DE QUEIJO	12
3.4 GORGONZOLA	13
3.4.1 Processo de Produção do Queijo tipo Gorgonzola.....	15
3.4.2 <i>Penicillium roqueforti</i>	16
3.5 NATAMICINA	17
3.6 APLICAÇÃO DA NATAMICINA NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS	19
3.6.1 Aplicação de Natamicina na indústria queijeira	20
4 MATERIAL E MÉTODOS	21
4.1 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE NATAMICINA	21
4.2 COMPOSIÇÃO PROXIMAL	21
4.2.1 Determinação de Umidade.....	21
4.2.2 Determinação da Acidez	22
4.2.3 Determinação do pH	23
4.2.4 Determinação de Proteínas.....	23
4.2.5 Determinação de Extrato Etéreo (lipídios).....	24
4.2.6 Determinação de Cinzas	24
4.2.7 Determinação de Carboidratos.....	25
4.2.8 Valor energético	25
4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA	26
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	26
5.2 ANÁLISE CONCENTRAÇÃO DE NATAMICINA	30
5.2.1 Curva padrão de Natamicina.....	30
6 CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS	36

1 INTRODUÇÃO

O consumo de queijos no Brasil vem crescendo gradativamente, mas ainda é considerado baixo se comparado a outros países. O maior produtor de queijos no Brasil é o estado de Minas Gerais, sendo que o consumo anual de queijo no Brasil é de aproximadamente 2,3 kg per capita, onde a maior parte é de queijos denominados convencionais (mussarela, prato e colonial). Em relação aos queijos com adição de fungos, a produção mundial tem aumentado em média 4,5 % por ano (PERRY, 2004). Entre esses tipos de queijos, apresentam-se os queijos azuis, onde se destaca o queijo gorgonzola, o qual será utilizado no desenvolvimento deste trabalho.

As indústrias queijeiras e laticínios estão cada vez mais preocupados com a aparência de seus produtos, e estão investindo em aplicação de coberturas, que são incluídas na etapa de revestimento do queijo, para oferecer proteção contra bolores e leveduras, além de manter uma melhor aparência ao produto, que é o fator que mais intenciona na hora da compra (FURTADO, 2013).

De acordo com a Resolução nº 124, de 19 de junho de 2001, essas coberturas são definidas como preparados formadores de película à base de resinas e / ou polímeros, que apresentam entre suas funções: controle de evaporação de água; proteção ao produto durante seu transporte e armazenamento, para evitar danos mecânicos; e sistema de energia de aditivos funcionais, onde se tem grande utilização da natamicina, que previne a proliferação de leveduras e bolores, garantindo a padronização da qualidade do queijo, além de cores atrativas que caracterizam o produto.

O queijo gorgonzola é maturado pelo fungo *Penicillium roqueforti*, por esse motivo durante o seu processamento é imerso em um banho de natamicina que é um antibiótico com grande potencial inibidor de bolores e leveduras. Seu uso é recomendado em alguns tipos de alimentos como queijos, produtos cárneos e bebidas (FURTADO 2013).

A natamicina em queijo pode ser determinada por vários métodos, através de análise microbiológicas, imunoquímicas, espectrofotométricas e de cromatografia líquida (FLETOURIS et al., 1995).

No presente estudo foi determinado o valor calórico e a concentração de natamicina em queijos gorgonzola comercializado na região de Francisco

Beltrão/PR, através de análises físico-químicas e de espectrofotometria, para que assim os resultados pudessem ser comparados com a legislação e conseqüentemente a qualidade do produto.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Determinar o valor energético e a concentração de natamicina em queijos tipo gorgonzola comercializados no município de Francisco Beltrão - PR.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Avaliar a composição proximal das amostras de queijo tipo gorgonzola;
- ✓ Determinar a concentração de natamicina na casca do queijo tipo gorgonzola;
- ✓ Verificar se os resultados do teor de natamicina estão em conformidade com a legislação.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 LEITE

O leite pode adquirir vários sabores e odores não desejáveis dependendo do ambiente em que se encontra, também é um meio para o desenvolvimento de microrganismos pelo seu valor nutritivo, devendo ser evitado tudo que possa afetar a integridade do mesmo (BEHMER et al., 1999). O leite faz parte da alimentação diária dos seres humanos, principalmente jovens e crianças, pois ele é considerado um alimento quase completo. Desta maneira, ele deve apresentar condições sanitárias adequadas, estando isento de qualquer forma de contaminação ou substância estranha (COVA, 1984).

Segundo a IN 51, de 18 de setembro de 2002 do MAPA, entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite de outras espécies deve denominar-se segundo a espécie da qual proceda.

É cada vez maior a quantidade de consumidores de produtos lácteos e conseqüentemente da procura por produtos com maior vida de prateleira sem alteração nas características sensoriais dos mesmos (VIANA, 2011).

Para que se obtenha um leite de qualidade é extremamente importante a higiene geral, tanto do animal como do ordenhador e dos equipamentos que serão utilizados assim como a refrigeração, armazenamento e transporte adequado desse leite (BRASIL, 2002).

A qualidade do leite também é muito importante para que se obtenha um produto de qualidade, isso inclui modificação estética desfavorável, perda nutricional e conseqüentemente perda do valor comercial do produto e a não satisfação do consumidor por ser um produto sem segurança (VIANA, 2011).

3.2 QUEIJO

O queijo surgiu de forma acidental há milhares de anos no Oriente Médio, onde o leite era armazenado e transportado em recipientes de estômago de animais

ruminantes, dentro desse recipiente o leite coagulava e dessa coagulação se originou o primeiro queijo (ALBUQUERQUE, 2015).

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos:

“entende-se por queijo o produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do calho, de enzimas específicas, de bactéria específica, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes” (BRASIL, 1996).

A denominação de queijo, se dá apenas aos produtos em que a base láctea contenha proteínas e gorduras apenas de origem láctea. O leite destinado à produção de queijos frescos deve ser obrigatoriamente pasteurizado. Para queijos maturados, somente permite-se a utilização de leite cru se o período de maturação destes queijos esteja dentro do prazo de no mínimo 60 dias (BRASIL, 1996).

A classificação dos queijos se dá a partir de alterações bioquímicas e físicas, onde denomina-se queijos frescos aqueles que estão prontos para o consumo logo após sua fabricação, e os queijos maturados, que são aqueles que sofreram alterações bioquímicas e físicas necessárias para a possível caracterização de sua variedade (BRASIL, 1996).

3.3 TIPOS DE QUEIJO

Existem inúmeras variedades de queijos, que se diferenciam por detalhes obtidos no seu processo de produção, região, matéria-prima, condições climáticas, além de outros fatores.

Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos (BRASIL, 1996), de acordo com o conteúdo de matéria gorda no extrato seco, em percentagem, os queijos classificam-se em:

- Extra Gordo ou Duplo Creme: quando contenham o mínimo de 60 %;
- Gordos: quando contenham entre 45,0 e 59,9 %;
- Semigordo: quando contenham entre 25,0 e 44,9 %;
- Magros: quando contenham entre 10,0 e 24,9 %;
- Desnatados: quando contenham menos de 10,0 %.

De acordo com o conteúdo de umidade, em percentagem, os queijos classificam-se em:

- Queijo de baixa umidade (geralmente conhecidos como queijo de massa dura): umidade de até 35,9 %;
- Queijos de média umidade (geralmente conhecidos como queijo de massa semidura): umidade entre 36,0 e 45,9 %;
- Queijos de alta umidade (geralmente conhecido como de massa branda ou “macios”): umidade entre 46,0 e 54,9 %;
- Queijos de muita alta umidade (geralmente conhecidos como de massa branda ou “mole”): umidade não inferior a 55,0 % (BRASIL, 1996).

Quando submetidos ou não a tratamento térmico logo após a fermentação, os queijos de muita alta umidade se classificam em: Queijos de muita alta umidade tratados termicamente; e Queijos de muita alta umidade (BRASIL, 1996).

Dentro da categoria de queijos com maturação por mofo e bactérias, encontram-se os queijos azuis, onde a maturação é provocada pelo crescimento interno natural do fungo *Penicillium roqueforti*. Esses queijos podem apresentar sabor e aroma pungentes, devido à ação proteolítica e lipolítica do mofo. A maturação é feita em câmaras especiais, com teor elevado de umidade relativa, o seu tempo de maturação pode variar de 30 a 120 dias (FURTADO, 2013).

3.4 GORGONZOLA

O primeiro queijo azul foi elaborado na França, e tinha como matéria-prima o leite de ovelha, devido a sua maturação ser pelo fungo *Penicillium roqueforti*, o queijo ficou conhecido como Roquefort (FURTADO, 2005). Logo a idéia chegou ao Brasil, pelo pioneiro dinamarquês *Lief Kay Godtfredsen*, que fabricou o primeiro queijo azul no sul de Minas Gerais. O queijo foi elaborado seguindo o processo do queijo Francês Roquefort, porém como matéria-prima, *Godtfredsen* utilizou leite de

vaca, por não haver criações de ovelhas naquela região. Na década de 1970, esse queijo passou a chamar-se Gorgonzola, devido a *Godfredsen* ser o único a realizar a sua fabricação na época (FURTADO, 2005).

De acordo com o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), o queijo Gorgonzola é de fabricação idêntica ao Roquefort, apenas diferindo-se em sua matéria-prima, que é o leite de vaca, enquanto que no Roquefort utiliza-se leite de ovelha. Lourenço Neto (1984) e Furtado e Lourenço Neto (1994), descrevem as características que o queijo Gorgonzola deve apresentar: obtido de leite de vaca, pasteurizado, massa macia, crua e gorda e de cor branca, matizada pela proliferação do mofo, vindo a apresentar veias de coloração azul esverdeadas, e tendo como composição físico-química: 43 a 45 % de umidade; 28 a 30 % de gordura; 21 % de proteína; 3,0 a 3,5 % de sal; e pH entre 5,7 – 5,9.

O Gorgonzola é maturado por *Penicillium roqueforti*, que multiplica nas olhaduras do queijo internamente. Seu sabor e aroma são desenvolvidos devido a forte ação proteolítica e lipolítica do mofo, devendo ser maturado por 60 a 120 dias, em câmaras especiais com temperatura entre 5 °C e 7 °C, umidade de 90 %. Após 15 a 20 dias de fabricação os queijos são perfurados, para que haja migração de oxigênio para seu interior, que é um fator para que o mofo cresça. Na fase final do queijo pronto, este quando cortado deve apresentar veias azul-esverdeadas, o que caracterizam o crescimento do mofo (FURTADO, 2013).

A qualidade e o sabor desse tipo de queijo estão associados à quantidade de veias azuladas presentes no queijo (características de fungo adicionado). A presença de veias mais escuras associa-se a um sabor mais forte, logo, veias mais claras irão caracterizar um sabor mais suave. Veias descoloridas ou de cores esverdeadas ou marrons, podem associar ao consumidor características de deterioração ou tempo de maturação ultrapassado, levando a rejeição do produto. A falta de manuseio e armazenamento adequados podem originar uma atmosfera rica em CO₂, vindo a alterar a coloração e qualidade do produto (FURTADO, 2103).

A obtenção do queijo tipo gorgonzola deve ser feita utilizando um leite de boa qualidade, pois o mofo é adicionado ao mesmo antes da coagulação. A maioria das grandes indústrias utilizam o sistema de *High Temperature Short Time* (HTST) no processo de pasteurização, por ser um processo rápido e eficiente (WOLFSCHOON-POMBO e FURTADO, 1983).

3.4.1 Processo de Produção do Queijo tipo Gorgonzola

O queijo tipo gorgonzola é fabricado em formato cilíndrico e pesando aproximadamente 3 kg, sua massa apresenta rachaduras com veias azuladas que são características do queijo pelo crescimento interno do *Penicillium roqueforti*. Outra característica bem marcante é seu sabor forte e acentuado e seu aroma pronunciado que é consequência da maturação, caso seja feita corretamente (FURTADO, 2013).

Segundo Furtado 2013, a elaboração do queijo segue as seguintes etapas:

- Leite pasteurizado, alto teor de gordura (3,8 – 4 %) e resfriado a 32 °C;
- No início do enchimento do tanque é adicionado o fermento láctico mesófilico, geralmente é usada uma cultura que contém *Lactococcus lactis* sub sp. *lactis* biovar. *diacetylactis* e *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*, misturados com produtores de ácido láctico *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*. O uso de cultivo semidireto é frequente, ele produz mais gás e abre muito a massa do queijo, tornando-o assim mais cremoso no centro. É recomendado que se faça o teste de diferença de CO₂ diariamente com esse fermento, pois a diferença ideal é de 15 a 25 °D;
- Fazer a pré-maturação adicionando o fermento enquanto se enche o tanque, por 40 minutos no caso de culturas concentradas;
- Adição do fungo *Penicillium roqueforti* ao leite, geralmente é diluído em água em uma solução preparada na véspera ou alguns dias antes, sempre mantida em refrigeração. Também é comum manter o fungo diluído em água na geladeira por até 4 semanas;
- Adição do coalho e coagulação por aproximadamente 40 a 60 minutos. O corte da coalhada é feito em cubos de cerca de 2 cm de aresta, isso influencia para que o queijo tenha textura aberta e adequado teor de umidade;
- Repouso por 5 minutos, agitação lenta com pá de 40 a 60 minutos. Dado o ponto, deixar repousar por 5 minutos;
- Fazer a dessoragem aguardando a elevação da acidez do soro que escorre da massa, triturar os blocos e adicionar sal fino de 0,5 a 0,8% dependendo do volume inicial do leite;

- Enformar de modo que se obtenha aproximadamente 3 kg e nas próximas duas horas virar de 3 a 4 vezes em intervalos regulares;
- Manter a temperatura ambiente (20 – 25 °C) até o próximo dia para que a fermentação seja completada, é fundamental que após a fermentação o pH do queijo esteja entre 4,8 – 4,9;
- O processo de salga mais utilizado é a salga em salmoura por 48 horas.
- Então é feito o tratamento antifúngico que nesse queijo é com a natamicina, em solução aquosa contendo 3 a 5 g do antifúngico por litro, onde a agitação é constante e o queijo é imerso nesta solução por aproximadamente 2 segundos, após isso os queijos são deixados para secar por 24 horas;
- Após as 24 horas os queijos são perfurados, aproximadamente 150 furos de cada lado, então são conduzidos para a câmara de maturação (10 – 12 °C).
- O crescimento do fungo começa a aparecer internamente cerca de 10-15 dias após a perfuração;
- Cerca de 20 dias após a fabricação, os queijos podem ser fatiados e embalados, geralmente em forma triangular e embalados em papel alumínio.

3.4.2 *Penicillium roqueforti*

Pertence ao reino Fungi sendo classificado na Classe *Deuteromycetes* do Filo *Ascomycota*. É aeróbico, mais também pode suportar concentrações mais baixas de oxigênio e altos níveis de gás carbônico (FURTADO, 2013). As principais fontes de carbono que esse fungo utiliza são mono e dissacarídeos. Porém apresenta uma versatilidade maior por fontes de nitrogênio, utilizando compostos nitrogenados orgânicos e inorgânicos. Não apresenta nenhuma exigência quanto a vitaminas. Cresce na faixa de 20 a 30 °C e o pH 5,0 é considerado ótimo para seu desenvolvimento (GREUTER et al., 2000).

As suas enzimas lípases estão focadas no desenvolvimento de substâncias sensoriais, e estimulam as proteases que se envolvem na maturação dos queijos. O sabor apimentado e aroma diferenciado são características marcantes dos queijos azuis, as quais são obtidas pela conversão dos ácidos graxos presentes no *Penicillium roqueforti* em metilcetonas, alcoóis secundários, outros componentes de aroma (OLIVEIRA, 2010). Isso torna o sistema lipolítico de *P. roqueforti* de grande

importância. Oliveira (2010) descreve a atividade lipolítica de sete amostras de queijo azul, usando micélio de *P. roqueforti* como fonte de enzima e triglicerídeos como substrato. O autor conclui que a atividade lipolítica nos queijos é considerada como resultado de lípases alcalinas e ácidas do *P. roqueforti*.

O *Penicillium roqueforti* apresenta entre suas características:

- pH ótimo para crescimento no queijo de 4,7 a 4,9;
- Metaboliza o ácido láctico para crescer;
- pH sobe já nas primeiras semanas de cura;
- Amolece a textura do queijo, devido a ação de enzimas proteolíticas;
- É halotolerantes;
- Multiplicam em baixos teores de O₂ e toleram CO₂ bem mais que os demais fungos;
- Desenvolvem-se melhor em porcentagens mais elevadas de umidade;
- Libera componentes cetônicos e ácidos graxos no queijo;
- Libera aminas e NH₄, contribuindo para pH.

Dentre suas características citadas, destacam-se a sua alta tolerância aos valores de pH, pois suporta valores de pH entre 3,0 e 10,5. Sua alta resistência ao sal, que o torna muito utilizado em queijos azuis onde sua concentração de NaCl é alta (FURTADO, 2013).

3.5 NATAMICINA

A natamicina foi isolada em 1995 da cultura *Streptomyces natalensis*, que é um microrganismo encontrado na soja (DAVIDSON e DOAN, 1992). A natamicina pertence ao grupo dos aditivos conservadores, e é utilizada para impedir ou retardar a alteração dos alimentos provocada por microrganismos e enzimas.

É aplicada em solução aquosa de 0,2 a 0,4 % geralmente por imersão, isso ocorre entre sete a dez dias depois do início da maturação e antes da perfuração do queijo, assim retardando a proliferação de fungos e leveduras na superfície em diversas variedades de queijos e garantindo uma melhor aparência do produto (CHR HÁNSEN, 2000).

Produzida pela ação das enzimas *Polyketide Synthase* do *Streptomyces natalensis*, a natamicina é um antibiótico poliênico e antifúngico. Através da estrutura dos polienos percebeu-se que são ativos contra fungos, mas não com bactérias (MENDES et al., 2001).

A natamicina age sobre a membrana fúngica rompendo o ergosterol, o que faz com que ocorra a perda do conteúdo interno da membrana, isso acontece devido a formação de complexos dos polienos com o ergosterol (THOMAS et al., 2005). Esses componentes não são encontrados em bactérias, o que faz com que a natamicina não tenha efeito sobre as mesmas (OBREGON, 2004).

Como a natamicina é considerada um antibiótico, há ainda certa resistência na sua utilização em produtos alimentícios, isso também ocorre pela pouca informação disponível sobre essa substância. Mas já foram feitos vários estudos e teste que comprovam que não há resistência dos microrganismos à substância e também nenhuma outra diferença significativa (THOMAS et al., 2005).

Van Leeuwen et al. (2009) realizaram estudos de comparação da atividade da natamicina com a dos antimicóticos nistatina e filipina, e concluíram que ela age de forma diferente que os demais. Pode-se confirmar que a ligação da natamicina com ergosterol inibe o crescimento de fungos.

Em estudo desenvolvido por Türe et al. (2011), foram utilizados filmes contendo natamicina em queijos semi-duro turco inoculado com *Aspergillus niger* e *Penicillium roqueforti*. Realizou-se contagem de esporos durante um período de 30 dias, a uma temperatura de 10 °C e se pode notar uma redução no crescimento de *Aspergillus niger*. Segundo os autores a natamicina é liberada mais facilmente e garante resultados mais satisfatórios quando adicionadas a filmes de glúten, pois esses filmes absorvem com maior facilidade a umidade do queijo, atuando como plastificante. No entanto os filmes com natamicina não causaram redução no crescimento de *Penicillium roqueforti*, embora os autores tenham comprovado inibição em testes *in vitro*. De acordo com os autores a natamicina torna-se mais evidente em condições de temperatura que excedam a temperatura de refrigeração normal e em condições sujeitas a contaminação durante o armazenamento.

A natamicina é eficaz em doses baixas, a maioria dos fungos é susceptível a concentrações mínimas de 0,1 a 100 mg.L⁻¹, podendo inibir micotoxinas e metabolitos secundários produzidos por alguns fungos carcinogênicos e

teratogênicos, o que leva a esse efeito ser mais pronunciado na inibição de micotoxinas, do que do próprio fungo (DELVES et al., 2005).

3.6 APLICAÇÃO DA NATAMICA NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS

Devido a sua capacidade antifúngica, a natamicina tem grande uso na indústria de alimentos que serão submetidos a um período de maturação após seu processamento. Por apresentar baixa solubilidade em água e na maioria dos solventes orgânicos, a natamicina torna-se adequada para tratamento de superfícies de alimentos, sendo recomendado seu uso em alimentos sólidos onde a casca ou a película envolvente não é ingerida, como alguns tipos de queijos e embutidos cárneos (JECFA, 2002).

Em estudos de Torres (1997), a natamicina foi solicitada como aditivo em cervejas, vinhos e sucos de frutas, porém ao ser testado, apresentaram-se alterações irreversíveis em cepas de leveduras, o que levou a não implementação na prática. Na União Européia não é permitida a utilização de natamicina em vinhos, e a comercialização de bebidas que contenham a natamicina não podem ser comercializadas. Porém esta informação não vale a todos os países em desenvolvimento, na Argentina o seu uso é vetado, e já na África do Sul a natamicina é permitida (TORRES, 1997).

Pires et al. (2008) avaliou a atividade da natamicina contra os fungos *Penicillium* sp. e *Geotrichum* sp. em queijos mussarela. O autor observou uma diminuição significativa na contagem de bolores e leveduras, resultando em um prolongação de sua vida de prateleira de 6 dias.

Bierhalz (2014) avaliou três amostras de queijo prato armazenadas por um período de 14 dias a temperatura de 25 °C. Foram colocadas fatias de queijos em placas de Petri envolvidas com filmes Ca-Ca com e sem natamicina, a ainda utilizou-se uma fatia padrão sem filme. Os resultados obtidos pelo autor, demonstraram que com apenas 5 dias de armazenamento os queijos sem filmes já apresentavam crescimento de microrganismos, no entanto as amostras com filme compareceram intactas. Com 14 dias de armazenamento o crescimento das amostras sem presença de filmes se intensificou, ficando totalmente deterioradas. Porém as amostras com presença de filme compareceram sem crescimento.

Esses resultados apontaram a importância de se utilizar um agente antimicrobiano, relatando que dois dos principais fungos presentes nos queijos (*Aspergillus niger* e *Penicillium crustosum*) não se desenvolveram devido a presença dos filmes de natamicina.

Existem muitos estudos do uso da natamicina em queijos e produtos cárneos, os quais destacam o seu uso. Bierhalz (2014) cita em seu trabalho a utilização de natamicina em cobertura de melão Hami, e relata resultados satisfatórios em relação aos microrganismos causadores da deterioração do melão, os quais se destacam o *Fusarium* e a *Alternaria*. O autor ainda destaca que a aplicação de natamicina juntamente com outros filmes antifúngicos, ou antimicrobianos como a quitosana e cera de polietileno, são eficazes contra as perdas de peso de frutas durante a armazenagem.

3.6.1 Aplicação de Natamicina na indústria queijeira

A natamicina é utilizada em muitas variedades de queijo, como por exemplo, o Gorgonzola. A concentração máxima permitida é de 20 a 40 mg/kg, sendo que sua aplicação deve ser apenas superficial com migração máxima de natamicina para o interior do alimento de 5 mm de espessura. A aplicação é feita através de banhos de imersão ou aplicação por *spray*. O método mais recomendado para utilização é o por banho de imersão, devido a aplicação por *spray* não garantir total uniformidade de distribuição (WHO, 2009).

A Resolução nº 04/1998 da ANVISA, permite o uso da natamicina apenas na superfície de queijos, com limite máximo de 2 mg/100 cm² não havendo migração (BRASIL, 1998).

Além de sua capacidade antifúngica, a natamicina é utilizada também para melhorar a aparência do queijo Gorgonzola, pois impede a proliferação de fungos indesejáveis na superfície do queijo (FURTADO, 2005), o que muitas vezes intenciona na compra, do ponto de vista do consumidor.

Oliveira et al. (2007) desenvolveram um filme de natamicina destinado a conservação do queijo Gorgonzola, o qual foi avaliado e apresentou resultados satisfatórios na inibição de fungos na superfície do queijo (*Penicillium roquefortii*), sendo utilizado uma quantidade de natamicina abaixo do permitido pela legislação.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Três amostras de queijo tipo gorgonzola de três diferentes marcas foram adquiridas no comércio varejista do município de Francisco Beltrão-PR em quantidade suficiente para realização de todas as análises, em triplicata, com duas repetições.

4.1 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE NATAMICINA

A análise de concentração da natamicina na superfície do queijo (casca) foi realizada de acordo com metodologia proposta por Fletouris (1995). Para isso foram removidas 5 g das cascas dos queijos com aproximadamente 2 mm de profundidade. A casca foi, então, homogeneizada a 25 mL de solvente de extração acetonitrila e ácido fosfórico 1 mol.L⁻¹ (4:1). Após homogeneização do material, o mesmo foi filtrado e analisado em espectrofotômetro com utilização de radiação ultravioleta e comprimento de onda de 317 nm.

4.2 COMPOSIÇÃO PROXIMAL

As análises físico-químicas foram realizadas no complexo de Laboratórios da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus de Francisco Beltrão, conforme metodologias oficiais descritas a seguir:

4.2.1 Determinação de Umidade

A determinação de umidade foi realizada conforme método de secagem direta em estufa a 105 °C descrito por Instituto Adolfo Lutz (2008) na qual se pesou de 2 a 10 g da amostra em cápsula de porcelana, previamente tarada. Posteriormente foi aquecido durante 3 horas e resfriado em dessecador até a temperatura ambiente, repetindo-se a operação de aquecimento e resfriamento até que se observe peso constante. O percentual de umidade foi obtido através da Equação 1.

Equação 1.

$$\% \text{ UMIDADE} = \frac{100 \times N}{P}$$

N = nº de gramas de umidade (perda de massa em gramas)

P = nº de gramas da amostra

4.2.2 Determinação da Acidez

A determinação da acidez foi realizada através do método convencional de titulação, descrito por Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008), no qual foram pesados aproximadamente 10 g de amostra sendo posteriormente transferida para um balão volumétrico de 100 mL juntamente com álcool 95 % neutro até completar o volume do balão. A mistura ficou em descanso por 6 horas. Após este tempo, a mistura foi filtrada, e adicionadas 5 gotas de indicador fenolftaleína sendo posteriormente titulada com hidróxido de sódio 0,1 M, até mudar para cor rósea.

O percentual de acidez foi obtido através da equação 2.

Equação 2.

$$\frac{V \times f \times 0,9}{A} = \text{percentual de Ácido Láctico}$$

Onde:

V = nº de mL de solução de hidróxido de sódio 0,1 M gasto na titulação

f = fator da solução de hidróxido de sódio 0,1 M

A = nº de g da alíquota da amostra usado na titulação

4.2.3 Determinação do pH

Pesou-se 10 g de amostra, onde a mesma foi triturada e diluída em 100 mL de água. A leitura do pH foi então realizado com auxílio de phmetro previamente calibrado, sendo operado de acordo com instruções no manual do fabricante (IAL, 2008).

4.2.4 Determinação de Proteínas

A determinação de proteínas foi realizada pelo método de Kjeldahl Clássico descrito por Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008), o qual consiste na determinação de nitrogênio total e se baseia em três etapas: digestão, destilação e titulação. Inicialmente a matéria orgânica é decomposta e o nitrogênio existente é transformado em amônia. Em seguida a amônia é liberada pela reação com hidróxido e recebida numa solução ácida de volume e concentração conhecidos. Por fim determinou-se a quantidade de nitrogênio presente na amostra titulando-se o excesso do ácido utilizado na destilação com hidróxido. O teor de proteínas foi obtido através da Equação 3, utilizando um fator de correção pré-determinado de 6,38.

Equação 3.

$$\frac{V \times 0,14 \times f}{P} = \text{percentual de Proteína}$$

V = diferença entre o nº de mL de ácido sulfúrico 0,05 M e o nº de mL de hidróxido de sódio 0,1 M gastos na titulação

P = n de g da amostra

f = fator de conversão

4.2.5 Determinação de Extrato Etéreo (lipídios)

O extrato etéreo foi determinado pelo método direto em Soxhlet, descrito por Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008), onde foram pesados aproximadamente 5 g de amostra em cartucho para Soxhlet o qual foi amarrado com fio de lã desengordurado. Posteriormente transferiu-se o cartucho para o aparelho extrator tipo Soxhlet. Foi acoplado ao extrator um balão de fundo redondo contendo éter suficiente para a realização de um Soxhlet e meio. O balão foi mantido sob chapa de aquecimento a uma temperatura de 105 °C, para realização da extração contínua por um tempo de 4 horas. Posterior a extração, o éter foi destilado e o balão contendo resíduo foi mantido em estufa por uma hora. Após o tempo o balão foi resfriado no dessecador até atingir temperatura ambiente. O balão foi pesado e levado a estufa e o dessecador novamente até que atinja peso constante. O percentual de lipídios foi determinado através da Equação 4

Equação 4.

$$\frac{100 \times N}{P} = \text{percentual de Lipídios}$$

N = n° de gramas de lipídios

P = n° de gramas de amostra

4.2.6 Determinação de Cinzas

O percentual de cinzas foi baseado na determinação da perda de peso do material submetido à queima em temperatura de 550 °C em Mufla. A determinação de cinzas permite verificar a adição de matérias inorgânicas ao alimento. A perda de peso fornece o teor de matéria orgânica do alimento. A diferença entre o peso original da amostra e o peso da matéria orgânica fornece a quantidade de cinza presente no produto (IAL, 2008).

Equação 5.

$$\% \text{ CINZA} = \frac{\text{Peso da cinza} \times 100}{\text{Peso da amostra}}$$

4.2.7 Determinação de Carboidratos

O teor de carboidratos foi determinado segundo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008), obtido pela diferença entre 100 e a somatória dos teores de proteína, lipídios, umidade e cinzas, de acordo com a Equação 6.

Equação 6.

$$\text{Total de Carboidratos} = 100 - (U + C + L + P)$$

U = umidade;

C = cinzas;

L = lipídeos;

P = proteínas

4.2.8 Valor energético

O valor energético foi obtido pela somatória dos teores de carboidratos e proteínas, multiplicado por quatro, e de lipídios, multiplicados por nove de acordo com os coeficientes de Atwater, segundo Tagle (1981), conforme Equação 7.

Equação 7.

$$\text{Valor calórico (Kcal/100g)} = (PT \times 4) + (GI \times 4) + (L \times 9)$$

PT = Proteína total

GI = Glicídios;

L = lipídeos.

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram avaliados por meio de análise de variância (ANOVA) e para comparação das médias foi realizado o teste de Tukey com nível de significância de 5 % de probabilidade do erro através do software Statistica, versão 7.0 (STATSOFT INC, 2004).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

A Tabela 1 mostra os valores obtidos para pH, acidez, e umidade. Os valores de pH variaram de 5,59 g/100 g a 5,83 g/100 g sendo respectivamente das amostras C e A. Os valores de acidez variaram de 0,61 g/100 g da amostra B a 0,91 g/100 g da amostra C. Os valores de umidade variam de 40,72 g/100 g a 43,70 g/100 g das respectivas amostras C e A.

Tabela 01 – Acidez total, pH e umidade dos queijos tipo gorgonzola em base úmida.

Amostra	pH	Acidez (g ácido láctico/100 g de amostra)	Umidade (g/100 g)
A	5,83 ± 0,04 ^a	0,70 ± 0,03 ^b	43,70 ± 0,92 ^a
B	5,67 ± 0,03 ^b	0,61 ± 0,02 ^c	41,49 ± 1,36 ^a
C	5,59 ± 0,01 ^c	0,91 ± 0,01 ^a	40,72 ± 0,54 ^a

Médias e desvios padrões com letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$).

A escala do pH varia entre 1 e 14, e um alimento é tanto mais ácido quanto mais baixo for o seu pH. Noronha (2013) cita que, para valores de pH entre 4,5 e 5,5 tem-se uma gradativa prevenção do desenvolvimento de bactérias patogênicas e de microrganismo relacionados a deterioração do queijo. Sendo assim, a acidez se torna um fator de segurança. Os resultados de pH diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) para todas as amostras. A legislação (BRASIL, 1996) não estabelece valores de pH para o queijo tipo gorgonzola, porém Furtado (2013) cita que o pH para queijo gorgonzola deve ser entre 5,7 – 5,9. Apenas a amostra A apresentou o

valor esperado. Porém de acordo com o mesmo autor, o valor encontrado de pH não interfere no crescimento do *Penicillium roqueforti*, o qual tolera valores que variam de 3,0 – 10,5. Scott (2002) ainda cita que o pH elevado pode ser atribuído à alta adição de sal, fator este que também inibe a multiplicação de microrganismos. Segundo Brustolin (2009), os valores de pH encontrados estão em uma faixa favorável para produção de micotoxinas, entre 2,5 – 8,0.

A acidez em queijos é dada pela quantidade de ácido láctico de uma amostra que reage com uma base de concentração conhecida (CECCHI, 2003). A acidez não interfere diretamente no desenvolvimento de mofo e leveduras, somente o de bactérias do interior do queijo, o que para o queijo tipo gorgonzola é interessante (ROCHA, 2004). Para as amostras analisadas, os valores de acidez diferiram significativamente entre as amostras A, B e C ($p \leq 0,05$). Com o aumento da concentração de ácido láctico o pH diminui, porém Scott (2002) cita que não existe uma correlação entre os valores de pH encontrados, sendo que o mesmo mede a quantidade de íons hidrogênio no meio e a acidez a quantidade de ácido láctico disponível para reagir com uma base.

Para umidade, as amostras não apresentaram uma diferença significativa entre si ($p \leq 0,05$). Porém de acordo com Furtado (2013), a umidade esperada para queijo tipo gorgonzola varia entre 43,00 – 45,00 %, resultado encontrado apenas na amostra A. Ambas as amostras são classificadas como queijo com média umidade, a qual apresenta valor entre 36,00 – 45,90 g/100g BRASIL (1996). O teor de umidade do queijo é um fator de determinação muito importante, pois tem grande influência nas características físico-químicas, destacando-se a consistência. O queijo tipo gorgonzola apresenta umidade mais baixa em relação a outros queijos, de acordo com Furtado (1991) isso devido ao tratamento antifúngico com natamicina que lhe é aplicado. A natamicina inibe a multiplicação de fungos e bolores na superfície, fazendo com que a quantidade de umidade perdida seja maior, em função de maior quantidade de superfície livre para secagem. Hohendorff et al. (2006) realizaram análises de composição e valor nutricional de queijo tipo gorgonzola e obtiveram valores de umidade inferiores ao presente trabalho, sendo de 36,00 %.

A Tabela 2 apresenta os valores obtidos para as análises de cinzas, lipídios e proteína. Os valores de cinzas variaram de 2,60 a 4,39 g/100g das amostras C e B. No entanto os valores de lipídios variaram de 30,90 a 40,00 g/100g das

amostras B e C e os valores de proteína variaram de 15,91 a 18,32 g/100g que foram das amostras C e B.

Tabela 02 – Resultados de Cinzas, Lipídios e Proteína dos queijos tipo Gorgonzola em base úmida.

Amostra	Cinzas (g/100 g)	Lipídios (g/100 g)	Proteína (g/100 g)
A	3,67 ± 0,04 ^b	35,30 ± 1,52 ^b	16,75 ± 0,34 ^b
B	4,39 ± 0,35 ^a	30,90 ± 1,01 ^c	18,32 ± 0,65 ^a
C	2,60 ± 0,02 ^c	40,00 ± 1,00 ^a	15,91 ± 0,04 ^b

Médias e desvios padrões com letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$).

A composição das cinzas pode variar para diferentes alimentos, sendo que nos queijos e produtos lácteos, há a presença de consideráveis quantidades de cálcio, fósforo e cloretos, devido aos ingredientes utilizados em sua fabricação e à matéria-prima utilizada (CECCHI, 2003). Furtado (1991) escreve que as cinzas têm papel fundamental na formação da textura final dos queijos, sendo que o cálcio faz papel de estrutura, elemento e de ligação. Os resultados de cinzas apresentaram valores de acordo com os citados por Cecchi (2013) o qual se estima para produtos lácteos entre 0,7 a 6,0 g/100 g. As amostras apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$). Bittencourt (2011) relatou em seu trabalho que um valor alto para cinzas pode estar associado à quantidade cloreto de sódio adicionado à massa. Em estudos de Hohendorff et al. (2006), encontrou-se valores de 5 % para cinzas, superior aos encontrados no presente trabalho.

Para lipídios encontrou-se também diferença ($p \leq 0,05$) entre as três amostras, as quais obtiveram teor de gordura desejável, que de acordo com caracterização de Furtado (2013) deve ser acima de 30%. O autor cita que os lipídios encontram-se nos queijos em forma de emulsão, tornando-os fáceis de serem digeridos, sendo responsáveis pela caracterização dos aspectos sensoriais dos queijos, como, cremosidade, aroma e sabor. Os queijos são compostos de mistura de ácidos graxos saturados, mono e poliinsaturados, importantes para entendimento do processo de maturação dos queijos azuis. A hidrólise dos triglicerídeos, com a liberação desses ácidos graxos, resulta de uma ação enzimática que é característica de todos os produtos lácteos, denominada de lipólise (SBAMPAT et al., 2000). O teor de ácidos graxos trans (ácido vacênico e o ácido rumênico) irá depender da procedência de sua produção. Esses ácidos

apresentam benefícios à saúde, como prevenção de câncer, aterosclerose e tem ação imunológica. O teor de gordura é um fator importante na formação de *flavor*, principalmente em tipo gorgonzola, pois a lipólise fúngica é intensa.

O percentual de proteína apresentou diferença significativa ($p \leq 0,05$) apenas para a amostra A, sendo que as amostra B e C não diferiram entre si. De acordo com Furtado (2013), o queijo tipo gorgonzola apresenta teor de proteína de aproximadamente 21,4 g para cada 100 g de queijo. No entanto neste trabalho foram encontrados valores menores para todas as amostras. De acordo com Spreer (1991), isso pode ter ocorrido devido a uma adição excessiva de coalho a massa, pois quando em excesso ocasiona maior proteólise, o que implica em redução do teor de proteínas. As proteínas são os únicos compostos sólidos do queijo, que durante a maturação diminuem a elasticidade e consistência dos queijos duros através da proteólise (ROCHA, 2004).

Na Tabela 3 estão presentes os resultados obtidos para carboidratos e valor calórico. Os valores de carboidratos variaram entre 0,75 g/100 g e 4,92 g/100 g sendo respectivos das amostras C e B. No entanto os valores para valor calórico variaram de 371,09 kcal/100 g a 426,63 kcal/100 g das amostras B e C.

Tabela 03– Resultados de carboidratos e valor calórico em queijo tipo Gorgonzola em base úmida.

Amostra	Carboidratos (g/100 g)	Valor Energético (kcal/100 g)
A	0,58 ± 0,92 ^b	387,02 ± 11,61 ^b
B	4,90 ± 1,93 ^a	370,98 ± 6,07 ^b
C	0,77 ± 0,52 ^b	426,72 ± 6,51 ^a

Médias e desvios padrões com letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$).

Os valores de carboidratos diferiram significativamente entre as amostra A, B e C ($p \leq 0,05$) sendo que a A e C não apresentaram diferença entre si. O principal carboidrato presente no queijo é a lactose. O queijo tipo gorgonzola apresenta um teor de carboidrato baixo, de acordo com Furtado (2013) é de aproximadamente 2,34 % para cada 100 g de queijo. A amostra B, no entanto, apresentou valor superior a este. Os queijos maturados, caso do tipo Gorgonzola, apresentam um teor de carboidratos menor em relação aos queijos frescos, devido a eliminação da lactose ou sua transformação em ácido láctico (LOURENÇO NETO, 2013).

Para os resultados de valor energético, observou-se diferença significativa entre as amostras A e C, B e C sendo que as amostras A e B não apresentaram diferença ($p \leq 0,05$) entre si. O valor energético de alimentos é apresentado em calorias, sendo que essa medida também pode ser expressa em joules (J), considerando-se que uma quilocaloria equivale a 4,1868 quilojoules (KJ), ou 1 KJ equivale a 0,2388 kcal (TANNUS et al.; 2001).

Levando em consideração que uma fatia (porção) de queijo gorgonzola tem em média 30 g e nessa fatia há 144 kcal, podemos dizer que um adulto ao consumir a quantidade recomendada de acordo com a pirâmide alimentar, que para derivados lácteos é de 2 a 3 porções, estaria consumindo aproximadamente 25% da ingestão diária recomendada para 2000 kcal.

5.2 ANÁLISE DA CONCENTRAÇÃO DE NATAMICINA

5.2.1 Curva padrão de Natamicina

Para obtenção dos valores de natamicina para cada amostra, primeiramente realizou-se a construção de uma curva de calibração com o padrão de natamicina industrial. Foram utilizadas 6 concentrações diferentes de natamicina, medindo-se a absorvância em triplicata conforme Tabela 4.

Tabela 04 – Resultados de Absorvância do Padrão Natamicina para construção da curva de calibração

Solução Padrão mg/1000mL	ABS 1	ABS 2	ABS 3	Média
2,5	0,213	0,217	0,243	0,2233
5,0	0,443	0,438	0,442	0,4455
7,5	0,669	0,655	0,672	0,6553
10,0	0,876	0,863	0,872	0,8695
12,5	1,063	1,075	1,085	1,0743
15,0	1,296	1,286	0,1297	1,2911

ABS: Absorvância

A partir dos dados apresentados na Tabela 4 procedeu-se a elaboração da curva padrão de natamicina, conforme Figura 1. Os valores de absorvância foram

adquiridos com precisão, sendo a possível confirmação pelo fator de correção $R^2 = 0,999$ obtido pela curva.

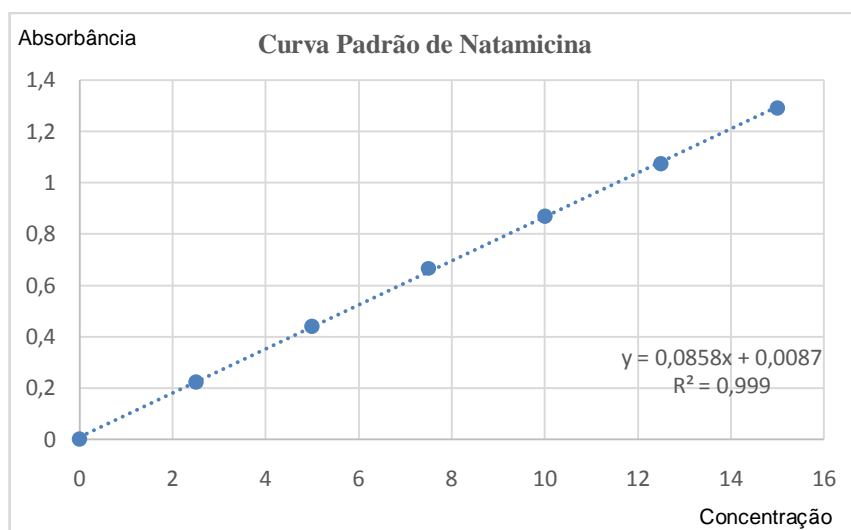


Figura 1. Curva Padrão de Natamicina

Após realização da curva padrão, foi realizada a leitura de absorbância das amostras, em triplicata. Foram pesados aproximadamente 5 g de casca queijo com no máximo 2 mm de profundidade. As análises de natamicina por método espectrofotométrico foram de fácil realização, devido a sua rapidez de realização e fácil acesso ao equipamento. Os resultados estão expressos na Tabela 5, juntamente com o peso de cada amostra.

Tabela 05 – Absorbância das amostras de Queijo tipo Gorgonzola para determinação da concentração de natamicina.

Amostra	Peso das amostras (g)	Abs das amostras	Médias
A1	5,056	0,371	
A2	5,082	0,375	0,366
A3	5,073	0,354	
B1	5,028	0,481	
B2	5,005	0,463	0,455
B3	5,051	0,421	
C1	5,023	0,339	
C2	5,030	0,351	0,349
C3	5,002	0,357	

O teor de natamicina foi encontrado através do cálculo descrito pela equação 8.

Equação 8.

$$x = \frac{y - b}{a}$$

Onde:

Y= Absorbância encontrada

b – Coeficiente angular = 0,0087

a – Coeficiente linear = 0,0858

Na Tabela 6 estão apresentados os resultados obtidos pela equação da reta que indicam a concentração de natamicina das amostras.

Tabela 06– Natamicina em queijo tipo Gorgonzola

Amostra	Natamicina (mg/Kg)
A	4,17 ± 0,13 ^c
B	5,19 ± 0,08 ^a
C	3,94 ± 0,36 ^b

Médias e desvios padrões com letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$).

Para os valores de natamicina quantificados em mg/kg, as amostras resultaram em valores significativamente diferentes a um nível de 0,05% de significância ($p \leq 0,05$). De acordo com a Portaria 146 de 1996 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1996), o limite máximo permitido é de 5 mg por kg de queijo. A amostra B apresentou teor de natamicina superior às outras amostras.

Pinto (2014) citou em seu trabalho que devido a natamicina evitar o crescimento de leveduras, resulta em uma maior conservação dos carboidratos solúveis, fato que ocorreu com a amostra B, e o teor de carboidratos apresentou-se mais elevado que as demais amostras. O mesmo autor ainda cita que a adição de natamicina em alimentos proporciona um ambiente favorável para as bactérias ácido lácticas, o que favorece a fermentação e redução do pH em produtos

fermentados, como no caso do queijo gorgonzola, fato esse não comprovado no presente estudo.

Estudos de Oliveira (2007) comprovam que mesmo em concentrações baixas a natamicina inibe o desenvolvimento do fungo *Penicillium roqueforti*. Oliveira et al. (2007) avaliaram a eficiência da natamicina em concentrações de 2 e 4%, que apresentou resultados satisfatórios na inibição fúngica. No presente trabalho os resultados das concentrações de natamicina coincidiram com os encontrados por Oliveira et al. (2007), sendo que as presentes amostras apresentaram concentrações que variam de 2,5 a 5,0%, as quais garantiram satisfação na inibição do fungo *Penicillium roqueforti*. O autor também relata que a quantidade de natamicina liberada, para se garantir a atividade antifúngica no queijo, foi inferior a quantidade máxima permitida pela legislação, o que confirma seu potencial, podendo levar a diminuição de uso de aditivos sem que se perca a eficácia antifúngica.

Oliveira et al. (2007) avaliaram amostras de queijos tipo gorgonzola com aplicação de filmes de celulose contendo natamicina e nisina, e compararam com o tratamento por imersão em solução de natamicina a 0,2 % após 45 dias de maturação. De acordo com os autores, a aplicação do filme é mais eficiente na inibição de *Penicillium roqueforti* que o tratamento por imersão, sendo que se observou desenvolvimento apenas nas partes onde o filme não ficou aderido totalmente ao queijo.

Em relação ao teor de natamicina, foram encontrados valores de acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 1996) para as amostras A e C. No entanto para amostra B, o valor encontrado foi superior ao da legislação. Estudos realizados pela Organização Mundial da Saúde (OMS, 2001) determinaram uma ingestão diária de 0 – 0,3 mg/Kg de peso corporal, no entanto, para pessoa adulta com peso corporal de 60 kg, a ingestão aceitável seria de 18 mg de natamicina. Ainda em outro estudo realizado pela OMS em 10 pacientes, foram administradas doses diárias de 300 a 400 mg, e observaram-se náuseas e vômitos. Em outro estudo, foram administrados doses de 500 a 1000 mg em pacientes que apresentavam micoses sistêmicas, onde observou-se que os pacientes que receberam dose superior a 600 mg apresentaram náuseas, vômitos e diarreia.

Matos (2009) citou em seu estudo que o uso corrente de substâncias antibióticas na medicina humana pode levar ao desenvolvimento de resistência a

microrganismo. O autor ainda completa que a natamicina quando usada em dosagens mais altas que o permitido, pode vir a ocorrer a preservação de microrganismos mais resistentes e eliminação dos mais sensíveis, assim podendo reduzir o efeito de um medicamento quando for necessário.

Ainda em trabalho de Matos (2009), o autor descreve que os fungos não apresentam resistência natural à natamicina. O autor chegou a essa afirmação através de dados de um estabelecimento onde a natamicina foi usada por um período de 9 anos, e não ocorreu nenhuma mudança na composição da microbiota encontrada. O mesmo autor ainda destaca que foram avaliados 73 trabalhadores envolvidos na produção de natamicina para constatação de reações alérgicas. Os resultados foram negativos, considerando que a natamicina não produz reações alérgicas.

Nos Estados Unidos, a natamicina é considerada como aditivo seguro, sendo permitida em queijo e mais recentemente foi aprovada seu uso para iogurtes, queijo cottage e tempero de saladas (MATOS, 2009).

6 CONCLUSÃO

A análise dos resultados obtidos no presente estudo possibilitou concluir que as amostras de queijos analisadas se apresentaram de acordo com a legislação para os parâmetros físico-químicos de pH, cinzas, acidez, umidade, e valor energético. Para proteínas os valores encontrados nas três amostras foram inferiores ao estabelecido pela legislação. Para carboidratos duas das amostras (A, C) ficaram dentro dos padrões estabelecidos, enquanto que a amostra B resultou em um teor de carboidratos superior ao estabelecido pela legislação.

Quanto ao teor de natamicina, foi verificado que as amostras A e C encontraram-se dentro do limite estabelecido pela legislação, no entanto na amostra B a concentração apresentou valor acima do permitido.

O acompanhamento dos níveis de aditivos em alimentos é importante no sentido de se identificar fraudes e/ou adulterações que possam acarretar danos à saúde do consumidor.

REFERÊNCIAS

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução nº 124**, de 19 de julho de 2001. Regulamento Técnico de Preparados Formadores de Películas a base de Polímeros e/ou Resinas. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resoluções/124_01.htm. Acesso em 28/05/2014.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 540 - SVS/MS**, de 27 de outubro de 1997. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/540_97.htm. Acesso em 28/05/2014.

ALBUQUERQUE, L.C. **História da fabricação de queijos**. Disponível em: <http://www.cienciadoleite.com.br>. Acesso em: 28 de out. 2015.

BEHMER, Manuel Lecy Arruda. **Tecnologia do leite: leite, queijo, manteiga, caseína, iogurte, sorvetes e instalações**: produção, industrialização, análise. 13.ed. rev. Atual. São Paulo: Nobel, 1999. 320 p

BIERHALZ, A. C. K. *Desenvolvimento de Biofilmes de alginato impregnados com natamicina e aferição do seu potencial antimicótico*. 2014. 207 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA)**. Pescados e Derivados, C.7, seção 1. Brasília, 1952.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146, de 07 de março de 1996. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lacteos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, p.3977, sec.1, 11 março, 1996.

BRASIL (1997). ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997. **Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares - definições, classificação e emprego**. Disponível em: < <http://portal.anvisa.gov.br/>> Acesso em: 10 outubro de 2015.

BRASIL (1988). ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 4, de 24 de novembro de 1988. **Aditivos Intencionais**. Disponível em: <<http://portal2.saude.gov.br/saudelegis>> Acesso em: 18 julho de 2014.

BRASIL (2001). ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 124, de 19 de junho de 2001. **Aprova o Regulamento Técnico sobre Preparados Formadores de Películas a base de Polímeros e/ou Resinas destinados ao revestimento de Alimentos, constante do Anexo desta Resolução, com o prazo de 180 (cento e oitenta) dias, a contar da data da publicação desta Resolução para as empresas se adequarem à mesma**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/>> Acesso em: 12 outubro de 2015.

BRASIL. Instrução Normativa nº51, 18 de setembro de 2002. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, do leite tipo B, do leite tipo C, do leite cru refrigerado e o regulamento técnico da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 24 de ago. 2005. Seção 1, p. 13.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2º ed- Campinas, SP: Editora da Unicamp, 2003.

CHR HANSEN, INFORMATIVO HA-LA BIOTEC divisão laticínios. Ano X - nº 56 Março/Abril de 2000.

DAVIDSON, P. M.; DOAN, C. H. **Antimicrobials in Foods**. Second edition. Marcel Dekker, Inc. New York. 1992.

DELVES-BROUGHTON, Joss; THOMAS, Linda V.; DOAN, Craig H. e DAVIDSON, P. Michael. Natamycin In: DAVIDSON, P. Michael; SOFOS, John N. e BRANEN, A. L. (ORG). Antimicrobials in food. 3rd edition. **Food Science and Technology**; 143, Florida/Us, 2005

FLETOURIS D. J.; BOTSOGLOU, N. A.; MANTIS, A. J. **Rapid Spectrophotometric Method for analyzing Natamycin in Cheese and Cheese Rind**. Journal of AOAC International. Food Composition and Additives, Vol. 78, n. 4, 1995

FURTADO, M. M. **Defeitos da Fabricação de Queijos**. Juiz de Fora: ILCT, 1987.

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

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

FURTADO, M. M. **Queijos Especiais**. São Paulo, 2013.

GUIMARAES, T.F. et al. Exportações Mundiais de Queijos: 2003 a 2007. In: **X Minas Leite** – 25 e 26 de novembro de 2008, 2008, Minas Gerais. Disponível em: <http://www.cileite.com.br/sites/default/files/exportacoes_mundiais_de_queijos_2003_a_2007.pdf>. Acesso em: 24 jul 2014.

GREUTER, W. et al. **International Code of Botanical Nomenclature**. Konigstein Koeltz Scientific Books (Saint Louis Code), 2000. P. 474.

HOHENDORFF, C. G. V.; SANTOS, D. **Produção de queijos**. Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos. UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2006.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. Ed. Adolfo Lutz, 4ª ed., São Paulo, 2008.

JECFA, 1976. Evaluation of certain food additives. Twentieth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, FAO Food and Nutrition Meetings Series, No. 1, WHO Technical Report Series, Rome, Italy, April 21-29, 1976.

JECFA, 2002. Safety evaluation of certain food additives and contaminants. Sixty-seventh report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Food Additives Series, No. 48, p. 49-76, 2002.

LOURENÇO NETO, J. P. M. **Queijos: aspectos tecnológicos**. São Paulo: Master Graf, 2013. 270 p.

MATOS, Celles Regina. **Parahidroxifenilsalicilamida e natamicina no controle de fungos na superfície de salames tipo Milano**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

MENDES, M. V.; RECIO, E.; FOUCES, R.; LUITEN, R.; MARTÍN, J. F.; APARICIO, J. F. Engineered Biosynthesis of Novel Polyenes: A Pimaricin Derivative Produced by Targeted Gene Disruption in *Streptomyces natalensis*. **Chemistry & Biology**, v.8, p. 635-644, 2001.

MERCOSUL/GMCIRESOLUÇÃO. n° 13 4/96, disponível em http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/mercosullalimentosl134_96.htm. Acessado em 20 jul 2014.

MYERS, R. S. Antifungal Agentes. In Immunizing and Antimicrobial Agents, 2006. Disponível em: <http://courses.washington.edu/medch401/pdf_text/401_06_VI_Antifungal.pdf>. Acesso em 20 julho de 2014.

NORONHA, J. F. de. **Segurança alimentar dos queijos tradicionais**. Disponível em: http://www.esac.pt/noronha/manuais/seguranca_alimentar_queijos.pdf. Acesso em 01 novembro de 2015.

NOTERMANS, S.; NAUTA, M.J.; JANSEN, J.; JOUVE, J.L.; MEAD, G.C. A risk assessment approach to evaluating food safety based on product surveillance. **Food Control**, Guildford, v. 9, n. 4, p. 217-223, 1998.

OBREGÓN, A. C. Métodos de conservación em Cárnicos y Lácteos. **Mundo Lácteo e Cárnico**, PP. 24.2004

OLIVEIRA, T. M.; SOARES, N. D. F.; PEREIRA, R. M.; FRAGA, K.D. Development and evaluation of antimicrobial natamycin-incorporated film in Gorgonzola cheese conservation. **Packaging Technology and Science**, v. 20 p. 147-153, 2007.

OLIVEIRA, F. C. Proteção de lípases por *Penicillium roquefort* e sua aplicação na obtenção de aroma de queijo. 2010. 124p. Dissertação (Mestrado em Ciências – Programa Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial na Area de Microbiologia Aplicada) – Escola de Engenharia Lorena da Universidade de São Paulo. Lorena, 2010.

PIRES, A. C. S., SOARES, N. F. F., ANDRADE, N. J., SILVA, L. H. M., CAMILLOTO, G. P., BERNARDES, P. C. Development and evaluation of active packaging for sliced mozzarella preservation. *Packaging Technology and Science*, v. 21, n. 7, p. 375-383, 2008.

PERRY, K. S. P. Queijo: Aspectos físicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**. Vol. 27, n. 2, 2004.

RASGELE, P. e KAYMAK, F. Chromosome aberrations, micronucleus and sperm head abnormalities in mice treated with Delvocid, a food preservative. **Food and Chemical Toxicology**, v 48, p 789–797 , 2010.

SBAMPATO, C. G.; GATTINI, A. L. R.; FURTADO, M. M. Queijo gorgonzola fabricado com leite pasteurizado por ejetor de vapor e HSTS: parâmetros físico-químicos e sensoriais. *Pesc. agropec. Brás.*, Brasília, v35, n.1, p 191-200, Jan. 2000

SEBRAE. **Queijos Nacionais**. Estudo de mercado SEBRAE/ESPM. Relatório Completo, 2008.

SPREER, E. **Lactologia industrial**. 2.ed. Zaragoza: Editorial Acribia, 1991. 617.p.

THOMAS, L. V.; INGRAM, R. E.; BEVIS, H. E.; BRIGHTWELL, P.; WILSON, N.; DELVES-BROUGHTON, J. Natamycin Control of Yeast Spoilage of Wine. **International Association for Food Protection - Food Protection Trends**, v. 25, p. 510-517, 2005.

TORRES, Elizabeth A. F. S. A. Questão do Uso da Natamicina em Alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, v. 11, n. 51, p. 6, 1997.

TÜRE, H., EROĞLU, E., ÖZEN, B., SOYER, F. Effect of biopolymers containing natamycin against *Aspergillus niger* and *Penicillium roquefortii* on fresh kashar cheese. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 46, p. 154-160, 2011.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Estatísticas. Disponível em: <<http://www.usda.gov/wps/portal/usdahome/>>. Acesso em 20/05/2014.

VAN LEEUWEN, M. R.; GOLOVINA, E. A.; DUKSTERHUIS, J. The polyene antimycotics nystatin and filipin disrupt the plasma membrane, whereas natamycin inhibits endocytosis in germinating conidia of *Penicillium discolor*. **Journal of Applied Microbiology**, 106 (2009) 1908–1918

VIANA, F. Leticia. **Análise de risco na produção de queijo**, Universidade Federal de Goiás, 2011.

WHO. GSFA/Codex Provisions for Natamycin (Primaricin), 2009. Disponível em: <<http://www.codexalimentarius.net/gsfaonline/additives/details.html?id=208>> Acesso em: 20 julho de 2014

WOLFSCHOON-POMBO, A.F.; FURTADO, M.M. Uma tecnologia a ser preservada: o queijo prato da região sul de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Tecnologia**, São Paulo, v.14, n.5/6, p.50-54, set./dez. 1983.