**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE**
**TECNOLOGIA EM ALIMENTOS**

**Claiton Junior dos Santos Guatimosim**

# VIDA DE PRATELEIRA DE QUEIJO RALADO: AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA

**PORTO ALEGRE**
**2024**

**Claiton Junior dos Santos Guatimosim**

# VIDA DE PRATELEIRA DE QUEIJO RALADO: AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos.

Orientador: Prof.ª. Dra. Letícia Sopeña Casarin

Coorientador: Prof.ª. Dra. Júnia Capua de Lima Novello

**PORTO ALEGRE**

**2024**

Catalogação na Publicação

Guatimosim, Claiton Junior dos Santos
VIDA DE PRATELEIRA DE QUEIJO RALADO : AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA / Claiton Junior dos Santos Guatimosim. -- 2024.
69 p. : il., graf., tab. ;

Monografia (trabalho de conclusão de curso) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Curso de Tecnologia em Alimentos, 2024.

Orientador(a): Letícia Sopeña Casarin ; coorientador(a): Júnia Capua de Lima Novello.

1. vida de prateleira. 2. queijo ralado. 3. análise microbiológica. 4. análise físico-química.

Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da UFCSPA com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

**FOLHA DE APROVAÇÃO**

**Claiton Junior dos Santos Guatimosim**

**“Vida de prateleira de queijo ralado: avaliação microbiológica e físico-química”**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos.

Aprovado em 31/07/2024

Prof.ª. Dra. Letícia Sopeña Casarin
(UFCSPA)

Prof.ª. Dra. Júnia Capua de Lima Novello
(UNIFETC)

Prof.ª. Dra. Cheila Minéia Daniel de Paula
(UFCSPA)

Prof.ª. Dra. Vivian Caetano Bochi
(UFCSPA)

**Porto Alegre**
**2024**

## AGRADECIMENTOS

Ao meus pais, pelo apoio e incentivo;

À minha irmã Tainá pelo apoio e momentos de descontração;

Ao Henrique por estar sempre presente e incentivando a melhorar;

À minha professora orientadora Letícia pela paciência, disposição e disponibilidade em me ajudar a concluir este trabalho e suas orientações assertivas;

À minha coorientadora Júnia pelas orientações que tanto ajudaram na escrita deste trabalho;

À Giulia Giuliani Reta pelo auxílio nas análises realizadas na UFRGS;

À técnica do Complexo de Alimentos Morgana de Marco pelo auxílio prestado durante às análises realizadas na UFCSPA;

À Prof. Elizete Maria Pesamosca Facco e a Engenheira Juliana Rech pela realização das análises na UCS;

À empresa pela oportunidade de realização desta pesquisa e por ceder as amostras e os materiais para as análises.

**RESUMO**

O queijo ralado é o produto obtido através do esfarelamento ou ralagem da massa de uma ou até quatro variedades de queijos de baixa ou média umidade, sendo classificado como desidratado ou não. Dentre os principais tipos de queijos utilizados para o processamento deste produto estão o queijo parmesão, ou tipo parmesão, e o queijo Minas meia cura. A vida de prateleira de um alimento é, por definição, o tempo em que algum produto é seguro e aceitável para o consumo, cumpre com a informação nutricional declarada no rótulo e mantém suas características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais estáveis, se acondicionado em condições adequadas a seu tipo. A apresentação do prazo de validade nos rótulos de alimentos embalados é exigida pelas legislações vigentes, desta forma a sua adequada determinação por parte das indústrias de alimentos é fundamental. O presente estudo apresentou como objetivo determinar a adequação da vida de prateleira do queijo ralado fabricado em um laticínio no estado do Rio Grande do Sul, por meio da avaliação de parâmetros físico-químicos e microbiológicos. As análises realizadas foram selecionadas através de um estudo buscando integrar as análises obrigatórias para o produto e as análises julgadas necessárias para avaliar as principais características do produto. Foram selecionadas as análises físico-químicas de umidade, gordura, gordura no extrato seco, acidez titulável, cor, atividade de água, índice de ácido tiobarbitúrico e índice de peróxido. Para as análises microbiológicas foram selecionadas contagem total de bactérias aeróbias mesófilas, *Staphylococcus aureus,* coliformes totais e coliformes termotolerantes, *Escherichia coli*, fungos filamentosos e leveduras. A partir dos resultados obtidos, não é possível considerar que a vida de prateleira (quatro meses) adotada para o queijo ralado está adequada, pois o produto apresentou alterações devido à rancidez, que ocorreu a partir do terceiro mês da vida de prateleira. No entanto, apesar dos valores de teor de gordura e de extrato seco terem ficado abaixo do limite exigido pela legislação, os parâmetros de umidade e microbiológicos se mantiveram dentro do limite aceitável pela legislação, durante os quatro meses de validade avaliados.

**Palavras-chave:** queijo ralado; vida de prateleira; análises físico-químicas; análises microbiológicas;

## ABSTRACT

Grated cheese is the product obtained by crumbling or grating the mass of one to four varieties of low or medium moisture cheeses, classified as dehydrated or not. Among the main types of cheeses used for processing this product are Parmesan cheese, or Parmesan-type cheese, and Minas mid-ripening cheese. The shelf life of a food is, by definition, the time during which a product is safe and acceptable for consumption, complies with the nutritional information declared on the label, and maintains stable physical, chemical, microbiological, and sensory characteristics when stored under appropriate conditions for its type. The presentation of expiration dates on packaged food labels is required by current regulations, and therefore, its accurate determination by food industries is essential. The present study aimed to determine the adequacy of the shelf life of grated cheese manufactured in a dairy located in the state of Rio Grande do Sul, through the evaluation of physicochemical and microbiological parameters. The analyses performed were selected based on a study that aimed to integrate mandatory product analyses with those deemed necessary to assess the main product characteristics. Physicochemical analyses included moisture, fat, fat in dry extract, titratable acidity, color, water activity, thiobarbituric acid index, and peroxide index. For microbiological analyses, total counts of mesophilic aerobic bacteria, Staphylococcus aureus, total coliforms, thermotolerant coliforms, Escherichia coli, filamentous fungi, and yeasts were selected. Based on the results obtained, it is not possible to consider the adopted shelf life (four months) for the analyzed grated cheese as adequate, as the product showed changes due to rancidity, which occurred from the third month of shelf life. However, despite the fat and dry extract content values being below the limit required by legislation, the moisture and microbiological parameters remained within the acceptable limit according to the evaluated four-month validity period.



**Keywords:** grated cheese; shelf-life; physicochemical analyses; microbiological analyses.

**SUMÁRIO**

**1 INTRODUÇÃO ..... 9**

**2 OBJETIVOS ..... 11**

2.1 OBJETIVO GERAL ..... 11

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS ..... 11

**3 REVISÃO DE LITERATURA ..... 12**

3.1 QUEIJO RALADO ..... 12

*3.1.1 Processo de fabricação do queijo ralado ..... 13*

3.2 VIDA DE PRATELEIRA ..... 14

*3.2.1 Fatores que afetam a vida de prateleira de alimentos ..... 15*

3.2.1.1 Fatores intrínsecos ..... 16

3.2.1.1.1 Natureza e qualidade da matéria-prima ..... 16

3.2.1.1.2 Formulação do produto ..... 17

3.2.1.1.3 Disponibilidade de oxigênio e potencial redox ..... 17

3.2.1.1.4 Atividade de Água (aw) ..... 18

3.2.1.1.5 Potencial Hidrogeniônico (pH) ..... 18

3.2.1.2 Fatores extrínsecos ..... 19

3.2.1.2.1 Processamento do alimento ..... 19

3.2.1.2.2 Tipos de embalagens e suas barreiras ..... 19

3.2.1.2.3 Condições de armazenamento e distribuição ..... 20

3.2.1.2.4 Temperatura, umidade e exposição à luz ..... 21

*3.2.2. Fatores que causam alterações nos alimentos e a Vida de Prateleira ..... 22*

3.2.2.1 Fatores que afetam a segurança do alimento ..... 22

3.2.2.2 Fatores que causam a deterioração do alimento ..... 24

3.2.2.2.1 Multiplicação de microrganismos ..... 24

3.2.2.2.2 Presença de oxigênio ..... 25

3.2.2.2.3 Rancificação ..... 26

3.2.2.2.4 Acidez ..... 28

3.2.2.2.5 Incidência de luz ..... 28

3.2.2.2.6 Umidade ..... 29

3.2.2.3 Fatores que afetam a composição ou qualidade nutricional dos alimentos ..... 30
*3.2.3 Determinação da vida de prateleira ..... 30*
3.2.3.1 Determinação da vida de prateleira baseada na deterioração do alimento ..... 33
**4 MATERIAIS E MÉTODOS ..... 37**
4.1 PRODUTO ALIMENTÍCIO SELECIONADO ..... 37
4.2 AMOSTRAS E AMOSTRAGEM ..... 39
4.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS ..... 39
*4.3.1 Umidade ..... 41*
*4.3.2 Gordura ..... 41*
*4.3.3 Acidez titulável ..... 42*
*4.3.4 Atividade de água ($a_w$) ..... 42*
*4.3.5 Índice de ácido tiobarbitúrico (TBA) ..... 43*
*4.3.6 Índice de peróxido ..... 43*
*4.3.7 Análise de cor ..... 44*
4.4 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS ..... 45
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA ..... 46
**5 RESULTADOS E DISCUSSÃO ..... 48**
5.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS ..... 48
5.2 DETERMINAÇÃO DE COR ..... 55
5.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS ..... 58
**6 CONCLUSÃO ..... 60**
**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS ..... 62**

# 1 INTRODUÇÃO

O Rio Grande do Sul (RS) se destaca pela produção de leite, sendo o terceiro estado brasileiro com maior produção no ano de 2021, segundo o Anuário do Leite de 2023 da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), ficando atrás apenas de Minas Gerais e Paraná. Neste ano (2021), produziu mais de 4 bilhões de litros de leite (EMBRAPA, 2023).

O queijo é um produto lácteo que possui alto valor nutritivo e, por esse motivo, é um dos alimentos que mais se destacam entre os alimentos complexos. Seu consumo é consideravelmente elevado, sendo utilizado em diversas preparações culinárias e, de forma geral, tem seu consumo observado em todas as classes sociais (Bertoncelo, 2019). Conforme observado pelo Anuário do Leite de 2023 da EMBRAPA, o consumo deste produto cresceu entre as pessoas de 30 a 59 anos, durante o período de 2010 a 2022 (EMBRAPA, 2023).

A qualidade da maioria dos alimentos degrada-se desde o momento em que é produzido até o seu consumo, devido a reações complexas baseadas em mecanismos físicos, químicos e biológicos. Portanto, existe um período finito durante o qual um alimento pode ser armazenado, mantendo-se próprio ao consumo, sob condições específicas de empacotamento e ambiente, chamado de vida de prateleira de um produto. A vida de prateleira é definida como o intervalo de tempo no qual um alimento permanece seguro, mantendo suas características sensoriais, químicas e microbiológicas, se armazenado nas condições recomendadas (Torrieri, 2016).

A determinação da vida de prateleira é fundamental não apenas para garantir a segurança do alimento, mas também para prever quando as características sensoriais, químicas e microbiológicas do alimento irão se alterar. Essa avaliação contribui para evitar o desperdício e assegurar a conformidade com regulamentações, e desempenha um papel importante na gestão eficiente da cadeia de suprimentos e na construção da confiança do consumidor.

O presente estudo teve como objetivo determinar, por meio de análises físico-químicas e microbiológicas, a adequação do prazo de validade adotado para o queijo ralado obtido a partir de queijo Minas meia-cura, produzido em uma fábrica do Rio Grande do Sul. Se sustentando na demanda da empresa fabricante decorrente dos problemas observados em análises internas e no Serviço de Atendimento ao Consumidor (SAC). As principais reclamações no SAC foram de alteração na cor e a

presença de sabor e odor de ranço. Nas análises internas foi observado o crescimento de bactérias aeróbias mesófilas no produto final.

# 2 OBJETIVOS

## 2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral do trabalho foi determinar a adequação da atual vida de prateleira do queijo ralado fabricado em um laticínio no Estado do Rio Grande do Sul - RS, por meio da avaliação de parâmetros físico-químicos e microbiológicos.

## 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos deste trabalho foram:

- Avaliar a qualidade microbiológica do queijo ralado produzido a partir de queijo Minas meia-cura, através da realização de análises microbiológicas mensais (fungos filamentosos e leveduras, coliformes totais, *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* e bactérias aeróbias mesófilas), durante o prazo de validade estipulado pela empresa (4 meses);
- Realizar análises físico-químicas periódicas (mensais), durante o prazo de validade do queijo ralado, para avaliar características como umidade, teor de gordura, teor de gordura no extrato seco, acidez titulável e atividade de água;
- Avaliar alterações sensoriais decorrentes da deterioração do queijo ralado, ao longo do prazo de validade, através da análise de parâmetros como índice de ácido tiobarbitúrico (TBA), índice de peróxido e cor.

# 3 REVISÃO DE LITERATURA

## 3.1 QUEIJO RALADO

De acordo com a Portaria nº 357 de 04 de setembro de 1997, que fixa o padrão de identidade e qualidade de queijo ralado, o queijo ralado é o produto obtido por esfarelamento ou ralagem da massa de uma ou até quatro variedades de queijos de baixa umidade aptos para consumo humano, podendo ser parcialmente desidratados ou não. Os principais tipos de queijos utilizados para o processamento deste produto são os queijos de massa dura, também chamados de queijos de baixa ou média umidade, por exemplo o parmesão, ou tipo parmesão e Minas meia cura (Brasil, 1997b).

O queijo parmesão é, por definição um queijo de baixa umidade, obtido de uma massa cozida, dessorada, prensada, salgada e maturada, através da coagulação do leite por meio do coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada pela ação de bactérias lácteas específicas, tendo conteúdo mínimo de 32% de matéria gorda no extrato seco (Brasil, 1997a). Este alimento possui estrutura interna compacta, granulosa e de consistência dura, sendo a crosta lisa com 4 a 8 mm de espessura e coloração amarelo palha. Possui sensação bucal levemente picante, gosto salgado e seu odor é suave e agradável (Barros *et al.*, 2011). Segundo a Portaria nº 353 de 4 de setembro de 1997, o queijo parmesão “deverá ser maturado pelo tempo necessário para a obtenção das suas características específicas, sendo de pelo menos 6 meses para queijos de 4 kg a 10 kg de peso; 8 meses para queijos de peso compreendido entre 10 kg e 20 kg e; 12 meses para os queijos de mais de 20 kg” (Brasil, 1997a, p. 3).

O queijo Minas meia cura é definido como um queijo semigordo de média umidade obtido por coagulação do leite pasteurizado, por meio de coalho, outras enzimas coagulantes apropriadas, ou ambos, complementada pela ação de bactérias láticas isoladas ou em combinação. É um queijo maturado de massa semicozida, prensada e salgada, podendo ser defumado ou não. O teor de umidade pode variar de 36,0% a 45,9% e o teor de gordura no extrato seco pode variar de 42,0% a 59,9% (Brasil, 2020). A Instrução Normativa nº 74, de 24 de julho de 2020, indica que “o queijo Minas meia cura deve sofrer maturação por um período mínimo de 10 (dez)

dias em temperatura superior a 10 ºC (dez graus Celsius) e inferior a 16 ºC (dezesseis graus Celsius)” (Brasil, 2020, p. 2).

### 3.1.1 Processo de fabricação do queijo ralado

O processo de fabricação do queijo ralado pode iniciar com a produção da matéria-prima, seja o queijo Parmesão ou o Minas meia cura, ou somente a partir do processo de ralagem de matéria prima adquirida de terceiros, posteriormente passando pelos processos de secagem e embalagem do produto final.

O processo de fabricação do queijo Minas meia cura, ocorre por meio da coagulação enzimática do leite com o coalho, podendo conter outras enzimas coagulantes ou não neste processo. A produção do queijo é complementada com a adição de fermento láctico específico para o queijo (Oliveira *et al.*, 2020). O processo inicia-se com a padronização da gordura e, posteriormente, é adicionado o fermento lácteo composto por *Lactococcus lactis* ssp*. lactis* (95%) e *Lactococcus lactis* ssp*. cremoris* (5%) e a temperatura é elevada até 35 °C por até 50 min, para que ocorra a coagulação do leite. Após a coagulação, a massa é cortada e homogeneizada. Após, a massa é prensada em formas, virada periodicamente e é então é levada à salmoura. Em seguida, é levada à maturação, a qual fica em temperatura de no máximo 12 °C, sendo virada frequentemente. O período mínimo de maturação é de 10 dias. No final deste processo cada peça de queijo deve ser lavada com água (Martins, 2006).

O processo de fabricação do queijo ralado, quando a matéria prima é adquirida de terceiros inicia-se no recebimento da matéria-prima, sendo esta analisada e liberada para o processo produtivo. A peça de queijo é então ralada, apresentando como finalidade a redução de tamanho, a fim de obter filetes, facilitando o processo de desidratação, o que confere a característica de produto ralado. Após a ralagem, o queijo é levado para o setor responsável pelo processo de desidratação, até que atinja um teor de umidade desejado, dentro do padrão legal vigente. Uma vez desidratado, o queijo ralado é homogeneizado e adicionado de aditivos, podendo estes serem celulose microcristalina ou dióxido de silício, os quais atuam como antiaglutinante e ácido sórbico, ou seus sais de potássio, cálcio e nitratos os quais atuam como conservantes, e por fim, é embalado e distribuído (Brasil, 1997b; Guinee e Kilcawley, 2004).

## 3.2 VIDA DE PRATELEIRA

A vida de prateleira (*shelf-life)* ou prazo de validade de um alimento é, por definição, o tempo em que o produto é seguro e aceitável para o consumo, cumpre com a informação nutricional declarada no rótulo e mantém suas características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais estáveis, se acondicionado em condições adequadas a seu tipo (Giménez; Ares; Ares, 2012).

A vida de prateleira é tanto um conceito importante quanto uma propriedade importante para os alimentos nos dias de hoje, a indicação de durabilidade, além de uma exigência legal, transmite ao consumidor informações importantes sobre o produto para manter a segurança do alimento (Man, 2004; Martins, 2009).

A determinação do período de validade é importante pois há um aumento significativo na preocupação com a segurança, frescor e qualidade do alimento. Portanto, a data impressa no rótulo do produto é o principal fator de aceitação do produto pelos consumidores, uma vez que uma data de validade muito ampla é associada com a adição de aditivos prejudiciais à saúde (Aschemann-Witzel; Giménes; Ares, 2018). Por outro lado, prazos de validade maiores beneficiam tanto consumidores quanto indústrias, pois oferecem conveniência e vantagens econômicas reduzindo a necessidade de compras recorrentes, o que é economicamente favorável. Para as indústrias, validades mais longas otimizam a logística de distribuição, mantendo as características sensoriais e segurança do alimento estáveis por períodos mais longos (Nicosia *et al.*, 2021).

Uma das regras obrigatórias de rotulagem, descrita pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), na Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 727 de 2022, é a declaração da data de validade do produto no seu rótulo, exceto para alguns poucos produtos que são dispensados desta obrigatoriedade. Além disso, o Código de Defesa do Consumidor (Lei n° 8.078 de 1990), determina que “a oferta e apresentação de produtos devem assegurar informações corretas, claras e precisas, ostensivas e em língua portuguesa sobre os prazos de validade”; ou seja, a obrigatoriedade da apresentação da data de validade no rótulo do alimento está assegurada, e embora não exista uma diretriz legal de como a mesma deve ser determinada, as indústrias de alimentos têm a responsabilidade de estabelecer este Os alimentos, como defende o Código de Defesa do Consumidor (Brasil, 1990), devem permanecer seguros para o consumo, durante o seu tempo de validade, não

devendo causar infecções e intoxicações alimentares devido a presença de microrganismos patogênicos ou a produção de toxinas durante o seu armazenamento. Além disso, é essencial que suas características se mantenham estáveis, não apresentando perdas significativas de nenhum de seus componentes e nutrientes.

Os órgãos reguladores, como ANVISA (Ministério da Saúde) e Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) embora exijam que os rótulos dos alimentos forneçam a informação sobre o prazo de validade dos produtos, não estabelecem regras e procedimentos para a sua determinação. A ANVISA fornece apenas algumas diretrizes no Guia para determinação de prazos de validade de alimentos (Brasil, 2024), o qual foi recentemente atualizado (julho de 2024).

A determinação da vida de prateleira de um produto é, muitas vezes, desafiadora, pois depende de resultados muito precisos e muita informação legal e científica sobre o produto. Um estudo de vida de prateleira deve levar em consideração as principais reações de deterioração para o alimento, a forma e a taxa com que os microrganismos se multiplicam e afetam as características organolépticas do produto (Moura *et al.*, 2007).

Segundo Pinto (2015), a vida de prateleira de um alimento sofre alterações devido a dois fatores, sendo um deles inerente ao alimento e o outro externo ao alimento. São os chamados fatores intrínsecos e extrínsecos, respectivamente.

### 3.2.1 Fatores que afetam a vida de prateleira de alimentos

Fatores intrínsecos e extrínsecos são determinantes cruciais quando se trata da vida de prateleira de um alimento. Os fatores intrínsecos são características diretamente relacionadas ao próprio alimento, estas incluem propriedades físico-químicas como atividade de água, acidez e teor de gordura. Desempenham um papel fundamental na estabilidade do produto ao longo do tempo, e afetam diretamente sua qualidade e segurança. Por outro lado, os fatores extrínsecos não são inerentes ao alimento, mas exercem uma influência significativa em sua durabilidade e qualidade. Esses fatores, como temperatura de armazenamento, umidade do ambiente e qualidade da embalagem, são externos ao produto, mas desempenham um papel vital na proteção do alimento contra influências externas, como luz, oxigênio e umidade. Eles também afetam a proliferação de microrganismos e reações químicas que podem levar à deterioração do alimento (Pinto, 2015; Brasil, 2024).

Assim, a compreensão e gestão eficaz desses fatores intrínsecos e extrínsecos são essenciais para garantir a segurança do alimento, manter a qualidade dos produtos ao longo do tempo e satisfazer as expectativas dos consumidores por alimentos frescos e saborosos. Uma análise criteriosa desses fatores não apenas assegura a qualidade e a segurança dos alimentos, mas também permite que os fabricantes ajam proativamente para evitar potenciais problemas. Ao adotar práticas rigorosas de controle de qualidade, monitoramento constante e ajustes precisos nos processos, a indústria alimentícia pode garantir a consistência e a confiabilidade de seus produtos, atendendo às expectativas dos consumidores e mantendo uma sólida reputação no mercado (Yoon; Tran, 2011).

#### 3.2.1.1 Fatores intrínsecos

Os fatores intrínsecos desempenham um papel importante na vida de prateleira do produto. Segundo a ANVISA no Guia para Determinação de Prazos de Validade de Alimentos (versão 2) estes fatores são: a natureza e qualidade da matéria-prima; a formulação do produto; a estrutura do produto; seu potencial redox; atividade de água e pH (Brasil, 2024). Compreender esses fatores é relevante para garantir que os alimentos permaneçam frescos e seguros para consumo durante a vida de prateleira, evitando assim o desperdício e assegurando a satisfação do consumidor (Ito, 2021).

##### *3.2.1.1.1 Natureza e qualidade da matéria-prima*

A utilização de matérias-primas de qualidade, com baixa contagem microbiana e homogeneidade entre os lotes, é fundamental na preservação da estabilidade dos produtos fabricados, contribuindo para uma vida de prateleira mais longa. No entanto, quando lidamos com matérias-primas de qualidade inferior, é necessário recorrer a métodos de conservação, geralmente através da adição de aditivos alimentares (Amit *et al*., 2017). Se faz importante considerar também as variações de qualidade entre os lotes da mesma matéria-prima ou entre diferentes fornecedores. Essas variações também podem incluir diferentes contagens microbianas, teores de umidade, gordura, entre outros parâmetros de qualidade (Brasil, 2024). Portanto, no processo de produção, é essencial adotar abordagens específicas para cada caso, ajustando a

formulação e padronizando a adição de aditivos alimentares, visando assegurar o não desenvolvimento microbiano, garantindo uma vida de prateleira adequada e desta forma, proporcionando aos consumidores produtos seguros e confiáveis ao longo do tempo (Archer; Connerton; Mackenzie, 2008).

*3.2.1.1.2 Formulação do produto*

Torrieri (2016) afirma que a formulação do produto desempenha um papel essencial, não apenas na definição de suas características sensoriais, mas também na promoção da segurança de alimentos. A presença de microrganismos, como fungos e bactérias, pode ser inibida por meio da adição de conservantes. Além disso, a redução do teor de umidade e da atividade de água é uma prática que contribui significativamente para esse controle. Essas medidas não apenas asseguram a qualidade do produto, mas também garantem sua integridade e segurança para os consumidores, sendo essenciais para o processo de fabricação de alimentos. Além disso, qualquer modificação que não seja devidamente estudada e planejada na composição, formulação, processo de fabricação ou embalagem pode resultar em uma menor estabilidade do alimento, tornando-o mais propenso à deterioração e à multiplicação de microrganismos patogênicos e deteriorantes nos alimentos. Portanto, é imperativo realizar uma avaliação minuciosa das mudanças nos processos, ingredientes e embalagens, a fim de compreender os impactos que essas alterações podem ter no produto (Brasil, 2024).

*3.2.1.1.3 Disponibilidade de oxigênio e potencial redox*

A presença de oxigênio, diretamente ligada ao alimento, exerce um impacto significativo nos tipos de microrganismos que podem se proliferar no produto. Fungos, em particular, dependem do oxigênio para seu desenvolvimento e são frequentemente encontrados em superfícies e fendas dos alimentos (Carvalho, 2011). Além disso, o oxigênio disponível no alimento desempenha um papel crucial nas reações de oxidação-redução, que são conhecidas por desencadear processos de rancificação. Estas reações não apenas resultam em perda de vitaminas, mas também conferem ao alimento um sabor e odor característicos de deterioração. Especialmente em alimentos com alto teor de gordura, uma grande disponibilidade de oxigênio favorece

as reações de auto-oxidação, que serão detalhadas no item adiante. Além disso, a presença do oxigênio contribui no aumento do potencial redox de um alimento, portanto, controlar adequadamente a exposição ao oxigênio é essencial para manter as características sensoriais do alimento, prevenindo assim a deterioração prematura e proporcionando aos consumidores produtos seguros e saborosos (Brasil, 2024). O potencial redox é a medida que define o quão fácil é de uma substância ganhar ou perder elétrons em reações químicas que envolvem a transferência destas partículas entre moléculas e oxigênio. A oxidação de gorduras é um exemplo desta reação, o qual o oxigênio se liga a algum ácido graxo insaturado, formando uma molécula de peróxido (Eschwege; Conradie, 2011). Os microrganismos apresentam diferentes comportamentos de multiplicação em relação ao potencial redox do meio em que se encontram. Os anaeróbios multiplicam-se em condições de baixo potencial redox, caracterizadas pela ausência de oxigênio. Os facultativos possuem a capacidade de se desenvolver tanto em ambientes com baixo quanto com alto potencial redox, ou seja, com ou sem a presença de oxigênio. Por fim, os aeróbios necessitam de um ambiente com alto potencial redox, dependendo exclusivamente da presença de oxigênio para sua multiplicação e sobrevivência (Brasil, 2024; Hoffmann, 2001).

*3.2.1.1.4 Atividade de Água (aw)*

A atividade de água é a relação entre a pressão do vapor de água presente no alimento e a pressão do vapor de água pura à mesma temperatura, sendo o parâmetro que mede a água livre para reações químicas e ações microbianas nos alimentos. Este parâmetro permite avaliar o risco de degradação dos alimentos, onde altos índices, acima de 0,80, de aw favorecem a multiplicação de microrganismos e reações químicas, uma vez que fornece substrato para tal. Em alimentos com alta concentração de lipídios, a alta atividade de água também favorece a rancificação oxidativa (Fernandes, 2020; Brasil, 2024).

*3.2.1.1.5 Potencial Hidrogeniônico (pH)*

A acidez de um alimento é um dos fatores associados à vida útil dos alimentos. Ele interfere na degradação de diversos componentes, como vitaminas que são sensíveis ao nível de acidez do alimento. Além disso, o pH também interfere na microbiota

presente no alimento e pode impactar a estabilidade de ingredientes e aditivos, como corantes. Grande parte das bactérias de interesse, para alimentos, cresce em pH neutro, em torno de 6,5 a 7,5, no entanto, ao longo do tempo, podem ocorrer variações no pH do alimento devido ao desenvolvimento microbiano ou reações de rancificação (Brasil, 2024).

#### 3.2.1.2 Fatores extrínsecos

Os fatores extrínsecos, assim como os intrínsecos, causam impactos na vida de prateleira do alimento, uma vez que estes se referem ao processamento, temperatura, umidade relativa, exposição à luz e barreiras proporcionadas pelas embalagens (Brasil, 2024).

##### *3.2.1.2.1 Processamento do alimento*

A durabilidade de um alimento processado é influenciada por diversos aspectos, incluindo a qualidade dos ingredientes usados, ou seja, se há contaminação na matéria-prima, os métodos de processamento empregados na sua produção, observando se as Boas Práticas de Fabricação (BPF) são empregadas satisfatoriamente e as condições sob as quais o produto é armazenado e distribuído (Jalilzadeh; Tancturk; Hesari, 2015).

O processamento é uma etapa importante não somente para o preparo do alimento a ser comercializado, mas também para aplicação das medidas essenciais de conservação do alimento, ou seja, os quais são aplicados processos, aditivos e coadjuvantes essenciais para manter a vida de prateleira do alimento (Varzakas; Tsarouhas, 2021).

É importante que as decisões envolvidas no processo produtivo sejam tomadas visando o pior cenário aceitável, ou seja, pensando que há contaminação na matéria-prima, dentro do aceitável, modificando a vida de prateleira do produto, possibilitando padronizar os processos e aditivos, visando a melhor forma de inibir a multiplicação microbiana (Brasil, 2024).

##### *3.2.1.2.2 Tipos de embalagens e suas barreiras*

Marcondes (2011) destaca que a importância das embalagens na indústria vai muito além do simples armazenamento de produtos. Elas servem como um escudo protetor, garantindo que os alimentos permaneçam frescos e seguros, enquanto prolongam sua vida útil nas prateleiras dos supermercados e lojas. A variedade de materiais disponíveis para fabricação de embalagens é vasta, mas são os polímeros plásticos que se destacam como uma escolha versátil e eficaz.

Os polímeros plásticos, em suas diversas formas e tipos, representam uma inovação para a indústria de embalagens. Desde filmes plásticos até embalagens rígidas capazes de suportar condições extremas, esses materiais oferecem soluções adaptáveis e confiáveis. Além disso, proporcionam barreiras essenciais contra gases, umidade e microrganismos, assegurando que os alimentos mantenham o frescor e sabor até chegarem às mãos dos consumidores (Jorge, 2013).

Os polietilenos, em particular, desempenham um importante papel no mundo das embalagens. Sua versatilidade é notável, com variações que incluem polietileno de baixa densidade (PEBD), alta densidade (PEAD), linear de baixa densidade (PELDB) e resinas metalocênicas. Cada uma dessas formas tem aplicações específicas, desde filmes flexíveis até embalagens rígidas. O polietileno de baixa densidade, por exemplo, é amplamente empregado na produção de filmes para embalagens de alimentos, graças às suas propriedades de transparência, resistência ao impacto e alta flexibilidade. Além disso, sua eficácia como barreira contra a água é crucial para manter a umidade dos alimentos estável, preservando sua qualidade ao longo do tempo (Delassus, 1997; Marcondes, 2011).

O politereftalato de etileno (PET), é um termoplástico de poliéster também amplamente utilizado na indústria de embalagens. Sua flexibilidade, resistência a pressões internas e excelente barreira contra gases o tornam ideal para bebidas carbonatadas e uma variedade de outros produtos. Quando combinado com polietileno, o PET resulta em filmes que oferecem barreiras eficazes contra umidade e gases, garantindo que os alimentos embalados permaneçam frescos e seguros para consumo (Jorge, 2013).

*3.2.1.2.3 Condições de armazenamento e distribuição*

A maneira como os alimentos são armazenados tem um impacto direto na sua vida útil. Condições inadequadas, como locais sujos, impróprios e úmidos, não apenas

comprometem a integridade da embalagem, mas também podem resultar em contaminação química e microbiológica dos alimentos. Uma embalagem sem uma barreira adequada pode permitir que essa contaminação se infiltre, prejudicando a segurança e a qualidade do produto final. Além disso, armazenar alimentos diretamente no piso é outra prática que contribui significativamente para a contaminação (Leite *et al.*, 2020).

É crucial ressaltar que os alimentos devem ser armazenados de acordo com as instruções fornecidas pelo fabricante, uma vez que as condições de estocagem foram estudadas e definidas conforme as características do produto, ou seja, deve se manter os alimentos nas temperaturas, níveis de luminosidade e umidade adequados, informados no rótulo. Alimentos secos, quando armazenados em temperaturas baixas, correm o risco de absorver umidade do ambiente. Isso pode levar a condições microbiológicas indesejadas, como a multiplicação de fungos, além de alterações sensoriais, como mudanças na textura e no sabor. Portanto, é fundamental garantir que os produtos sejam armazenados de forma adequada não apenas após o processamento na indústria, mas também nos estoques dos pontos de venda (Coradello, 2015).

A conscientização sobre as práticas adequadas de armazenamento é essencial para garantir a qualidade dos alimentos e, o que é mais importante, a saúde dos consumidores. Isso não apenas protege os produtos da contaminação, mas também preserva suas características sensoriais. Portanto, é responsabilidade tanto da indústria quanto dos varejistas assegurar que os alimentos sejam armazenados e manuseados corretamente em todas as etapas, desde a produção até o ponto de venda. A colaboração nesse sentido não apenas atende às normas regulatórias, mas também promove a confiança dos consumidores nos produtos que consomem, criando assim uma cadeia alimentar mais segura e saudável para todos (Phimolsiripol; Suppakul, 2016).

*3.2.1.2.4 Temperatura, umidade e exposição à luz*

A ANVISA afirma que o armazenamento adequado dos alimentos continua sendo essencial mesmo depois de chegarem às prateleiras dos consumidores. Fatores como temperatura, umidade e exposição à luz desempenham papéis

importantes para garantir que os alimentos mantenham sua qualidade ao longo do tempo (Brasil, 2024).

A temperatura certa é fundamental para evitar a multiplicação de microrganismos em alimentos perecíveis, enquanto também previne danos em produtos sensíveis ao frio. A umidade adequada preserva a textura dos alimentos, evitando o ressecamento ou o desenvolvimento de fungos por excesso de umidade, uma vez que este excesso eleva a atividade de água do alimento. Além disso, a exposição à luz pode deteriorar nutrientes e alterar o sabor e a cor dos alimentos, especialmente em produtos com alto teor de lipídios. Portanto, ao seguir instruções simples de armazenamento, os consumidores desempenham um papel vital na manutenção do frescor e segurança dos alimentos, assegurando uma experiência alimentar agradável e nutritiva (Coradello, 2015; Brasil, 2024).

### 3.2.2. Fatores que causam alterações nos alimentos e a Vida de Prateleira

Segundo o Guia para determinação de prazos de validade de alimentos (Brasil 2024) o prazo de validade é o intervalo de tempo no qual o alimento permanece seguro e adequado para consumo, ou seja, que o mesmo se mantém seguro para o consumo (sem causar infecções e intoxicações alimentares devido a microrganismos patogênicos ou à produção de toxinas bacterianas ou fúngicas durante o armazenamento) e também preserva as suas características de composição e qualidade, o que significa, não apresentar degradação significativa de nenhum nutriente ou constituinte, considerando os requisitos estabelecidos nos regulamentos técnicos e as regras de rotulagem vigentes. Portanto todos os fatores que afetam a segurança do alimento, que causam a sua deterioração e/ou que afetam a sua composição ou qualidade nutricional influenciam na vida de prateleira deste alimento.

#### 3.2.2.1 Fatores que afetam a segurança do alimento

A Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) indica que um dos principais fatores que afetam a segurança dos alimentos é a presença de microrganismos potencialmente patogênicos ou patogênicos, os quais são encontrados em alimentos quando um ou mais de seus constituintes estão contaminados (Dubugras e Pérez-Gutiérrez, 2008). A ANVISA, corroborando com a OPAS, afirma que as

contaminações ocorrem, majoritariamente, por fontes animais, como moscas, roedores e por práticas humanas não-higiênicas. A contaminação em alimentos, causadas por humanos, tem como principais meios de contaminação as mãos não higienizadas corretamente, os atos de tossir, espirrar e/ou cuspir em áreas de produção e armazenamento os quais os componentes do alimento estão expostos (Brasil, 2024).

Os principais microrganismos encontrados em alimentos que indicam contaminação são os coliformes termotolerantes, sendo estes fortes indicadores de higiene. Sua presença sugere baixa qualidade na higiene pessoal dos manipuladores, já que esses microrganismos são encontrados nos intestinos de seres vivos (Coelho; Andrade; Moura, 2021; Dubugras e Pérez-Gutiérrez, 2008).

Segundo Apha (2001), a contagem de microrganismos aeróbios mesófilos é um método utilizado para avaliar a população microbiana geral em alimentos. Embora não forneça evidências de patógenos ou toxinas, essa análise é útil para monitorar a higiene de processos de produção, aplicação de boas práticas de fabricação e qualidade sanitária. Além disso, uma elevada contagem pode indicar problemas no processamento ou armazenamento dos alimentos (Ghafir *et al*., 2008).

Os coliformes totais são um grupo de bactérias Gram-negativas que fermentam lactose produzindo gás, podendo ser eliminados durante o processo de fabricação do queijo ralado, no momento da desidratação, uma vez que neste processo são atingidas temperaturas superiores às temperaturas de persistência para os microrganismos. *Escherichia coli*, principal representante dos coliformes termotolerantes, é um indicador específico de contaminação fecal e possível presença de microrganismos patogênicos. Essa bactéria fermenta a lactose, produzindo gás carbônico, a cerca de 44,5 °C, no entanto, não sendo resistente às temperaturas mais elevadas utilizadas na desidratação do queijo ralado, que atingem 55 ºC por cerca de 30 min (López-Pinto *et al*., 2021). Portanto, a presença desta bactéria no produto, já embalado, indica que a parte final do processamento do alimento não foi adequada apresentando pontos de contaminação, podendo ser devido à falta ou deficiência na higiene de colaboradores, presença de algum vetor ou equipamento contaminado durante o processo de produção (Torres *et al*., 2020; Blount, 2015; Candinho, 2023).

*Staphylococcus aureus*, uma bactéria Gram-positiva também, pode contaminar os alimentos devido a falhas na higiene pessoal ou a adoção de procedimentos operacionais inadequados. A presença desta bactéria no alimento, quando há

produção de toxina termoestável, pode causar intoxicação alimentar (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2023).

Além desses microrganismos, no queijo ralado também podem ser encontradas bactérias como a S*almonella* spp. que é um bacilo Gram-negativo não esporulado que fermenta glicose, é resistente a temperaturas mais elevadas e é uma causa comum de infecção alimentar transmitida por produtos lácteos (Ávila; Gallo, 1996; Pieta, 2010).

O gênero *Listeria* spp. é formado por microrganismos Gram-positivos em forma de bacilos curtos, anaeróbios facultativos, possuindo catalase positiva e oxidase negativos, não produtores de esporos, com mobilidade. Apenas *Listeria monocytogenes* e *Listeria ivanovii* são consideradas patogênicas. Esse microrganismo é frequentemente encontrado em alimentos como leite e seus derivados, carne e seus derivados e vegetais crus não lavados corretamente (Tao *et al*., 2017).

3.2.2.2 Fatores que causam a deterioração do alimento

Compreende-se por fatores de deterioração de alimentos tudo aquilo que pode oferecer meios para alterar as propriedades sensoriais do alimento, ou seja, proliferação microbiana, conteúdo de umidade, presença de oxigênio e de agentes de oxidação e redução, incidência de luz, hidrólise química e interações químicas (Brasil, 2024).

*3.2.2.2.1 Multiplicação de microrganismos*

A multiplicação de microrganismos em alimentos pode ocorrer em decorrência da contaminação microbiana já presente na matéria-prima ou através de contaminações cruzadas durante o processo de fabricação por manipuladores, esporos suspensos dentro do ambiente fabril, equipamentos mal higienizados e até mesmo embalagens em desconformidade com as regulamentações de alimentos (Marmentini; Ronqui; Alvarenga, 2015).

Entre os microrganismos que promovem a degradação em queijos, os fungos filamentosos são especialmente problemáticos. Estes microrganismos, tem a capacidade de persistir e multiplicam em pH mais baixos, podem sintetizar

micotoxinas e alterar da acidez do alimento, além disso, os fungos podem quebrar as gorduras em ácidos graxos através de um processo enzimático, podendo, através da interação com o oxigênio, acarretar a rancidez do alimento (Jahn; Garcia; Copetti, 2017). A alteração na acidez do produto pode inibir o desenvolvimento de bactérias patogênicas. No entanto, como mostrado por Guan e Liu (2020) os fungos têm a capacidade de se adaptar às mudanças do pH, podendo persistir no alimento, desenvolvendo-se e levando às doenças veiculadas por alimentos, em decorrência da produção de toxinas ou infecções.

Para controlar a multiplicação de alguns desses microrganismos, em especial os fungos filamentosos e leveduras, é permitido o uso de agentes conservantes em queijos ralados, como natamicina e ácido sórbico, com limites de concentração de 5 mg/kg e 1000 mg/kg, respectivamente (Brasil, 2023).

*3.2.2.2.2 Presença de oxigênio*

A ANVISA, em seu Guia para Determinação de Vida de Prateleira de Alimentos, indica que a presença de oxigênio, especialmente em alimentos com alto teor de gordura e vitaminas, como o ácido ascórbico, desempenha a oxidação e rancificação desses produtos (Brasil, 2024).

Carvalho (2011) ressalta que a presença de oxigênio pode promover a auto-oxidação de lipídios, tal fenômeno afeta a qualidade sensorial e nutricional dos alimentos, podendo aumentar a toxicidade de alguns produtos, como óleos, devido à formação de radicais livres e produtos indesejáveis. O processo de auto-oxidação pode ser dividido em três etapas: iniciação, propagação e terminação. Na fase de iniciação, ocorre a formação de radicais livres quando ácidos graxos poli-insaturados têm um átomo de hidrogênio removido, gerando um radical carbono estabilizado. Na etapa de propagação, o radical alquila formado na iniciação combina-se com oxigênio, gerando o radical peroxila. Esse radical pode retirar um hidrogênio alílico de outro ácido graxo, promovendo uma reação em cadeia.

A reação do radical peroxila com o átomo de hidrogênio gera um hidroperóxido lipídico. Além disso, peróxidos cíclicos podem se formar quando o radical peroxila reage com duplas ligações na mesma cadeia de ácido graxo, propagando a oxidação. Na etapa de terminação, os radicais peroxila combinam-se para formar produtos não radicais. Esses radicais podem sofrer clivagem ou rearranjo, gerando aldeídos ou

produtos secundários de oxidação. Esses produtos também são suscetíveis à oxidação, transformando-se em ácidos que constituem os produtos terciários de oxidação. Os peróxidos e hidroperóxidos resultantes da auto-oxidação podem formar moléculas aromáticas com o odor e sabor característico da rancidez, comprometendo não apenas o sensorial do alimento, mas também a qualidade nutricional dos produtos, visto que o oxigênio pode reagir com vitaminas mais instáveis, ocasionando perda significativa na quantidade desta no alimento (Carvalho, 2011).

Na etapa de propagação da auto-oxidação, ocorre a interação do radical peroxila com os ácidos graxos poli-insaturados levando a formação de aldeídos insaturados que promovem o sabor e odor rançosos e a alteração de cor, pois são especialmente propensos às reações de oxidação. No entanto, devido ao seu baixo potencial redox, estas reações ocorrem com menos intensidade em queijos (Collins; Mcsweeney; Wilkinson, 2003).

*3.2.2.2.3 Rancificação*

A deterioração dos lipídios é um fator crítico a ser considerado, pois, durante o processo de fabricação e armazenamento, a gordura pode sofrer alterações que levam à rancidez hidrolítica e/ou oxidativa, resultando em mudanças indesejadas na cor e no sabor (Sobral *et al.*, 2017).

A rancidez pode ocorrer de duas maneiras distintas na indústria de alimentos. Primeiramente, temos a rancidez oxidativa, que é desencadeada pela oxidação dos ácidos graxos insaturados presentes nos triglicerídeos, devido à exposição ao oxigênio atmosférico. Em segundo lugar, existe a rancidez hidrolítica, que ocorre devido à hidrólise da ligação éster por enzimas, como lipases, ou agentes químicos na presença de umidade (Coltro; Buratin, 2004).

O processo mais comum que resulta na deterioração oxidativa dos lipídios é a auto-oxidação, que ocorre quando o oxigênio atmosférico reage espontaneamente com esses compostos. Os ácidos graxos poli-insaturados são particularmente vulneráveis a essa decomposição, quer estejam na forma de ácidos graxos livres ou como parte dos triglicerídeos, diglicerídeos, monoglicerídeos ou fosfolipídios. Em presença de luz e agentes de sensibilização o oxigênio se torna singlete, e desempenha um papel importante no processo de deterioração oxidativa, ao produzir hidroperóxidos por agir diretamente nas duplas ligações presentes nos ácidos graxos.

A presença de metais, como ferro ou cobre, ou mesmo a ação da enzima lipoxigenase, pode iniciar o processo de deterioração oxidativa (Collins; Mcsweeney; Wilkinson, 2003; Coltro; Buratin, 2004).

Na fase inicial da auto-oxidação são formados hidroperóxidos, que não possuem odor, mas são relativamente instáveis e podem se decompor espontaneamente ou catalisar reações para gerar compostos aromáticos voláteis, resultando em odores indesejáveis. Além do desenvolvimento de aromas rançosos, a deterioração oxidativa dos lipídios pode ocasionar a descoloração dos alimentos devido à reação com pigmentos, especialmente os carotenoides, por meio da formação de radicais livres (Martins, 2018).

Vários fatores influenciam a ocorrência e o controle dessas reações em alimentos. Isso inclui a quantidade de oxigênio presente, uma vez que a rancidez oxidativa não ocorre na ausência de oxigênio. A composição da gordura, incluindo o tipo de ácido graxo insaturado e o grau de saturação, apresenta um impacto significativo na oxidação (os ácidos linoléico e linolênico, por exemplo, que oxidam 64 e 100 vezes mais rápido do que o ácido oleico, respectivamente). A exposição à luz acelera as reações de oxidação, portanto, deve ser minimizada em alimentos suscetíveis. A temperatura de armazenamento também desempenha um papel importante, uma vez que temperaturas mais elevadas aceleram a taxa de oxidação. Um aumento de 10 °C na temperatura dobra a taxa de oxidação dos ácidos graxos insaturados. Para mitigar esse efeito, é recomendado armazenar alimentos em temperaturas mais baixas, como a refrigeração ou o congelamento. Outros fatores que afetam a oxidação dos lipídios incluem a presença de catalisadores pró-oxidantes, como metais, e a atividade de água ($a_w$) nos alimentos. A presença de água livre aumenta a atividade catalítica de metais, o que aumenta o risco de oxidação (Martins, 2018).

Na indústria de alimentos, além de controlar os fatores físicos, como temperatura, luz e oxigênio, é comum adicionar antioxidantes aos alimentos para inibir as reações de oxidação e retardar a formação de compostos indesejáveis (Del Ré; Jorge, 2012).

A rancidez hidrolítica, por outro lado, ocorre principalmente em gorduras destinadas à fritura e é causada pela ação de enzimas, como lipases e lipoxigenases, e/ou por agentes químicos que quebram a ligação éster dos lipídios, liberando ácidos

graxos livres, tanto saturados quanto insaturados. A presença de água é o principal fator desse tipo de rancificação (Carvalho, 2011).

*3.2.2.2.4 Acidez*

A acidez de um produto desempenha um papel importante no prazo de validade dos alimentos, uma vez que ambientes mais ácidos podem inibir o desenvolvimento de bactérias patogênicas, podendo estender o tempo de validade do produto. Além disso, a alteração na acidez pode indicar a ocorrência de rancificação das moléculas lipídicas do alimento, o que afeta tanto seu gosto quanto sua qualidade nutricional, pois a presença de ácidos graxos livres ou peróxidos, tendem a alterar a acidez do alimento (Sofos; Busta, 1993; Salvessa, 2009).

Discrepâncias significativas na acidez entre diferentes amostras do mesmo alimento podem apontar para uma disformidade na matéria-prima. Isso significa que existem variações entre lotes ou até mesmo dentro de um único lote de matéria-prima. Esse desequilíbrio na composição pode afetar a consistência e a qualidade do produto final. Conforme destacado por Yoon e Tran (2011), a falta de homogeneidade ao longo do tempo prejudica não apenas a produção, mas também a percepção do consumidor em relação ao produto.

O controle rigoroso da acidez, aliado à busca constante pela homogeneidade na matéria-prima, não apenas prolonga a vida útil dos alimentos nas prateleiras, mas também garante uma experiência consistente e confiável para os consumidores. (Sofos; Busta, 1993; Salvessa, 2009).

*3.2.2.2.5 Incidência de luz*

A incidência de luz afeta a estabilidade dos alimentos, desempenhando diversos papéis no processo de deterioração dos produtos. Um dos efeitos mais significativos da exposição à luz é a redução da atividade de vitaminas essenciais, como riboflavina e vitamina A, ao longo do armazenamento (Brasil, 2024).

Em alimentos ricos em lipídios, exposição excessiva à luz leva à ocorrência da foto-oxidação, um fenômeno amplamente reconhecido como um dos principais agentes que promovem tanto a auto-oxidação quanto os processos de rancificação. A foto-oxidação ocorre quando os lipídios são expostos à luz, resultando na formação

de radicais livres que, por sua vez, desencadeiam reações em cadeia prejudiciais aos alimentos. Essas reações não apenas comprometem o sabor e a textura dos produtos, mas também levam à perda do valor nutricional, tornando-os menos saudáveis para o consumo (Carvalho, 2011).

Portanto, a proteção contra a luz é uma estratégia fundamental na preservação da qualidade e segurança dos alimentos, como destaca Marcondes (2011). Embalagens opacas e armazenamento em locais escuros são práticas essenciais, especialmente para produtos sensíveis à luz. A compreensão desses processos é fundamental para a indústria alimentícia, pois permite a implementação de medidas preventivas eficazes. Ao evitar a exposição excessiva à luz, os fabricantes não apenas prolongam a vida útil dos alimentos, mas também garantem que eles mantenham suas características sensoriais, assegurando que os produtos tenham o sabor e aroma pretendido, entregando maior qualidade sensorial (Jorge, 2013).

*3.2.2.2.6 Umidade*

A umidade desempenha um papel fundamental nos processos de deterioração dos alimentos, exercendo influência tanto em sua qualidade física quanto química. Variações excessivas no teor de umidade podem levar a alterações significativas nos alimentos. Especificamente, em produtos com alto teor de gordura, um nível elevado de umidade atua como precursor para a oxidação hidrolítica, um processo que pode comprometer a integridade do alimento ao longo do tempo. Portanto, é essencial controlar adequadamente os níveis de umidade para preservar o frescor e a segurança dos produtos alimentícios (Monteiro, 2021).

Na indústria alimentícia, o controle e a padronização de processos são cruciais para cumprir não somente as regulamentações, mas também garantir a eficiência e rendimento de fabricação. A análise do teor de umidade desempenha um papel importante pois permite avaliar a eficácia desses controles. Além disso, compreender o teor de umidade do produto fabricado proporciona uma estimativa da vida útil do produto, ou seja, permite uma previsão da degradação das proteínas pela ação da hidrólise, uma vez que este fenômeno pode afetar significativamente a qualidade dos alimentos (Castanheira, 2012).

A proteólise, ou hidrólise proteica, é um processo enzimático que decompõe proteínas em peptídeos e aminoácidos, sendo favorecido em ambientes com alta

umidade. Além disso, a ação bacteriana também pode induzir a hidrólise proteica (Rocha; Carneiro; Franco, 2010). Em indústrias alimentícias, se profissionais possuem conhecimento sobre o teor de umidade e a relação com os processos de deterioração dos alimentos, pode haver medidas proativas para garantir a qualidade e a segurança dos produtos (Castanheira, 2012).

3.2.2.3 Fatores que afetam a composição ou qualidade nutricional dos alimentos

É possível que aconteça a redução de alguns nutrientes ou componentes de um alimento ao longo do tempo, o que pode variar de acordo com a natureza e estabilidade do constituinte na formulação do produto (Ottaway, 2008). A oxidação é um dos fatores que afetam a composição do alimento, pois, se tratando de um alimento com alto teor de lipídios, em algum momento, ocorrerá a rancidez oxidativa. Outro exemplo, que se pode dar são as reações de escurecimento enzimático que utilizam o oxigênio como agentes na reação e a oxidação do ácido ascórbico, reduzindo a quantidade de vitamina C no alimento (Martins, 2018).

A variação de temperatura é outro fator que influencia negativamente na composição e na qualidade nutricional dos alimentos, uma vez que a temperatura ligeiramente elevada provoca uma acentuação na cinética das reações químicas do alimento, ou seja, as reações de rancificação hidrolítica e oxidativa acontecem com maior velocidade, assim como as reações de oxidação de vitaminas também são acentuadas, reduzindo o valor nutricional do alimento e afetando negativamente a vida de prateleira do alimento (Gillespie, 2007).

### 3.2.3 Determinação da vida de prateleira

Segundo a ANVISA, a determinação da vida de prateleira de um alimento deve ser relacionada a critérios técnicos e científicos sólidos, levando em consideração fatores essenciais, como qualidade nutricional, segurança do alimento e deterioração do produto (Brasil, 2024).

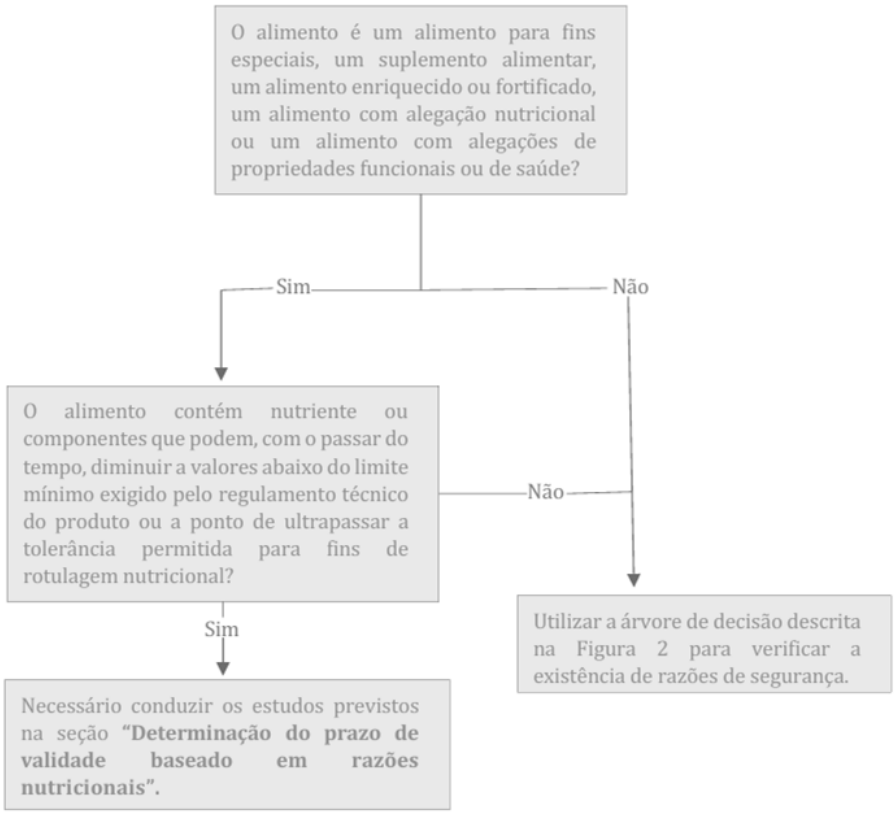
Em relação à qualidade nutricional, é crucial assegurar que as características nutricionais e a composição do alimento permaneçam inalteradas até o final de seu prazo de validade. Isso implica na identificação dos nutrientes e componentes instáveis, bem como na determinação de quanto tempo esses elementos

permanecem presentes no alimento, de acordo com as informações declaradas no rótulo. Portanto, o término da vida de prateleira é determinado quando esses nutrientes não estão mais presentes, nos valores de tolerância estabelecidos pela legislação, no alimento (Brasil, 2024).

No que diz respeito à segurança do alimento, é fundamental identificar quais microrganismos patogênicos podem estar presentes ou se multiplicar no produto, bem como prever por quanto tempo os alimentos podem ser considerados seguros para o consumo, levando em consideração a possibilidade de produção de toxinas (Brasil, 2024).

Quando não há preocupações relacionadas à segurança ou qualidade nutricional, a definição do prazo de validade pode ser justificada pelo tempo necessário para que o alimento comece a se deteriorar, ou seja, quando ocorrem alterações indesejadas em suas propriedades sensoriais (Brasil, 2024).

Figura 1 – Árvore decisória para determinação do prazo de validade por razões nutricionais, de acordo com o Guia para Determinação de Prazos de Validade de Alimentos da ANVISA.

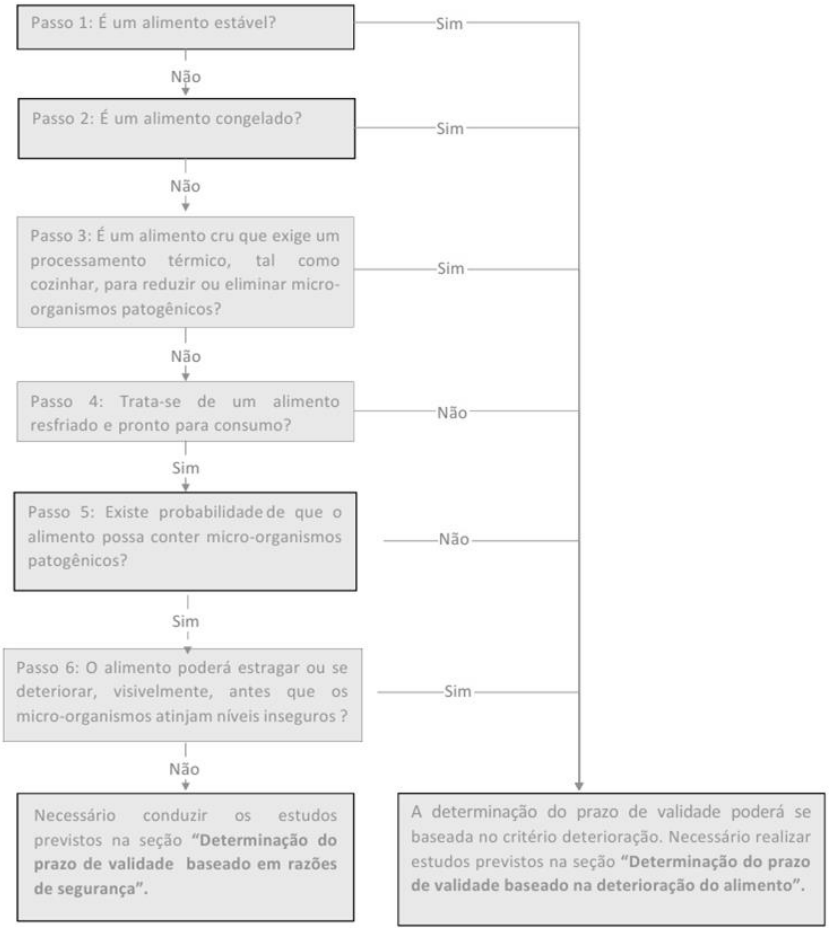



Fonte: Brasil (2024)

A atribuição do prazo de validade varia de acordo com as características e propósitos do alimento, sendo a definição do período de validade guiada por uma das três situações: determinação de validade por razões nutricionais, por razões de segurança ou por deterioração do alimento. Para auxiliar nesse processo, a ANVISA fornece um conjunto de árvores decisórias com perguntas a serem consideradas ao determinar o prazo de validade.

De acordo com o Guia para Determinação de Prazos de Validade de Alimentos da ANVISA (Brasil, 2024), no processo de estabelecimento do prazo de validade, o primeiro passo consiste em identificar os fatores nutricionais pertinentes. A Figura 1 apresenta a árvore decisória para esses fatores.

Figura 2 – Árvore decisória para determinação do prazo de validade por razões de segurança, de acordo com o Guia para Determinação de Prazos de Validade de Alimentos da ANVISA.




Fonte: Brasil (2024)

Se as razões nutricionais não são relevantes, a determinação da validade pode ser feita por razões de segurança, como apresentado na Figura 2, que mostra a árvore de decisões, considerando as características microbiológicas, de acordo com o Guia da ANVISA (Brasil, 2024).

Por outro lado, os métodos indiretos, representam uma alternativa menos demorada e dispendiosa em comparação com os métodos diretos. Nestes métodos, são conduzidos estudos acelerados, utilizando de variáveis como temperatura e umidade em modelos preditivos para antecipar a estabilidade da vida de prateleira do alimento (Hough; Garitta; Gómez, 2006). Esses dados são então comparados com observações contínuas do comportamento do produto no mercado, juntamente com as reclamações dos clientes. Segundo Man (2004), os métodos acelerados são aplicáveis em qualquer processo em que ocorra deterioração, desde que tenha um modelo cinético válido, podendo este processo ser bioquímico, químico, microbiológico ou físico.

Nas indústrias alimentícias, segundo Hough, Garitta e Gómez (2006), os testes acelerados envolvem uma única condição, assumindo, então, que se um produto tem vida útil de 1 mês estocado a 40 °C, esse mesmo alimento terá uma vida de prateleira de 4 meses estocado a uma temperatura ambiente (20 °C), indicando que o fator de aceleração de 20 °C para 40 °C é de 4. Esse valor é comumente acatado na indústria.

Outras propostas de fatores de aceleração têm sido estudadas, como os testes acelerados, realizados a uma temperatura 10 °C acima da indicada no rótulo de armazenamento, os quais promovem a aceleração na velocidade de reação, uma vez que a taxa de reação química dobra com esse aumento de temperatura. Essa abordagem proporciona uma visão abrangente do comportamento do alimento sob diferentes condições de temperatura, avaliando a durabilidade e prevendo maior estabilidade em temperaturas ambientes (Woodroof; Luh, 1986; Schneider et al., 2018).

#### 3.2.3.1 Determinação da vida de prateleira baseada na deterioração do alimento

Para o queijo ralado, considerando as suas características, os testes para determinação da vida de prateleira indicados são os baseados na deterioração do alimento, utilizando a abordagem de estudos em tempo real (métodos diretos), que

oferecem uma compreensão mais aprofundada da deterioração dos alimentos ao expô-los às mesmas condições enfrentadas nos lotes comerciais. Esse método não apenas produz informações mais consistentes e precisas, mas também reflete com precisão as situações reais. Para garantir a eficácia desses estudos, é fundamental prestar atenção às condições ambientais. As variações de temperatura e umidade devem ser controladas, às vezes exigindo instalações especializadas, como estufas, câmaras climáticas ou salas controladas (Brasil, 2024).

O processo para determinar a vida útil de um produto, como sugere o Ministério para Indústrias Primárias da Nova Zelândia, em seu guia para determinação da vida de prateleira de alimentos, começa com uma configuração cuidadosa do estudo, identificar quais tipos de deterioração e perda de qualidade são mais comuns para o alimento em questão é crucial (MPI, 2016). A complexidade surge quando múltiplos tipos de deterioração ocorrem simultaneamente, requerendo uma análise detalhada para entender quais mudanças são mais proeminentes e em que ordem elas acontecem (Brasil, 2024).

Para garantir um acompanhamento rigoroso das análises, um protocolo de estudo detalhado é essencial. Esse documento deve delinear claramente as avaliações e testes a serem realizados. Embora o foco do presente trabalho tenha sido em testes físico-químicos e microbiológicos, é importante mencionar a possibilidade de incluir testes sensoriais, desde que seja assegurado que o alimento permaneça seguro para o consumo mesmo após o prazo de validade (Coradello, 2015).

Durante o estudo, como afirma a ANVISA, é possível adotar três tipos diferentes de condições de armazenamento. As condições otimizadas replicam exatamente as especificações de armazenamento do rótulo. Por outro lado, as condições realistas simulam as flutuações de temperatura e umidade encontradas no ambiente comercial. E, por fim, as condições de pior cenário introduzem flutuações de temperatura e umidade de forma irregular e intensa (Brasil, 2024).

Adicionalmente, ao determinar a vida útil do produto baseando-se na deterioração usando métodos diretos, é crucial coletar amostras em quantidade suficiente para cobrir todo o período de teste. Isso requer uma cuidadosa análise para calcular a quantidade de amostras necessárias para cada teste específico, além de estabelecer a frequência das análises e avaliações de antemão. Essa abordagem minuciosa e bem planejada é essencial para extrair resultados significativos sobre a

durabilidade dos alimentos, garantindo assim a segurança e a qualidade para os consumidores (Brasil, 2024; Coradello, 2015).

A ANVISA aponta algumas recomendações que devem ser observadas durante a realização de testes de vida de prateleira, as quais foram resumidas no Quadro 1.

Quadro 1: Recomendações gerais para estudos de vida de prateleira de acordo com o Guia para Determinação de Prazos de Validade da ANVISA.

| **Assuntos** | **Recomendações** |
|---|---|
| Planejamento | • Os estudos devem ser bem projetados antes do seu início e devem ser personalizados para atender às necessidades específicas da matriz e do conteúdo do produto. |
| Embalagens | • Os estudos devem ser realizados na embalagem final proposta. Sempre que possível, o processamento e a embalagem das amostras de teste devem simular as condições reais da produção comercial do produto em termos de volume interno, barreira, propriedades de migração e integridade da selagem;<br>• Quando os produtos possuírem mais de um tamanho de embalagem, a menor e a maior embalagem devem ser testadas, ou deve ser adotada outra abordagem cientificamente justificada. Isso é necessário, pois as embalagens maiores podem ter um maior espaço vazio relativo. |
| Amostras e Lotes | • Antes de prosseguir com a seleção de amostras para um estudo de estabilidade, o produto deve primeiro ser verificado para confirmar que os lotes atendem às especificações esperadas;<br>• As amostras de produtos selecionadas para um estudo de estabilidade devem ser retiradas do(s) lote(s) que são considerados equivalentes daqueles vendidos comercialmente;<br>• Os lotes não devem ser seletivamente escolhidos com base em parâmetros específicos;<br>• As amostras também devem ser verificadas para garantir a distribuição homogênea dos ingredientes na formulação;<br>• Idealmente, as análises devem ser feitas em amostras de três lotes. A repetição das análises em lotes distintos minimiza o impacto que a variabilidade entre lotes e a variabilidade analítica dos métodos aplicados ensejam sobre os resultados, as quais são importantes variáveis a serem consideradas principalmente em alimentos constituídos de matrizes complexas. A realização do estudo de estabilidade em apenas um lote pode gerar incertezas e não refletir o real comportamento dos nutrientes, podendo ser estatisticamente insuficiente, sugerindo uma conclusão não adequada para o estabelecimento do prazo de validade do produto. |
| Seleção dos Testes e dos Métodos | • As propriedades e os parâmetros selecionados para testes durante um estudo de estabilidade devem incluir as características que podem estar sujeitas a alterações durante o armazenamento e que podem afetar o teor declarado na rotulagem, a qualidade do produto, a segurança e/ou a eficácia;<br>• Se o produto contiver probióticos em sua composição, o estudo de estabilidade deverá avaliar a quantidade do microrganismo no produto e a viabilidade do probiótico durante o prazo de validade nas condições de uso determinadas.<br>• Nos casos de produtos que contenham enzimas, os estudos de estabilidades deverão avaliar a quantidade e a atividade da enzima no produto;<br>• Após a seleção dos parâmetros de teste, é essencial garantir que os métodos analíticos sejam apropriados para a matriz do produto em particular. Os métodos devem ser verificados nas condições do laboratório;<br>• É importante que todos os procedimentos analíticos sejam revisados criticamente no contexto da composição do produto, para garantir que |

| | |
|---|---|
| | nenhum dos ingredientes tenha potencial para interferir nos resultados, que a variabilidade do método seja aceitável e que o método seja adequadamente implementado no laboratório responsável pela análise;<br>• Nem todos os métodos de análise para os componentes em alimentos aplicam-se sem modificação em todas as matrizes de produtos. O uso de um método analítico inapropriado pode invalidar os resultados de um estudo;<br>• Em estudos de estabilidade de produtos contendo diversos ingredientes, é aconselhável um maior número de frequência de ensaios em virtude da complexidade da matriz alimentar. |
| Cuidados Gerais | • É recomendada a análise de amostras em tempos regulares, tais como 0, 3, 6, 9, 12, 18 e 24 meses, no caso de estudos de longa duração;<br>• Deve-se prever quantidades adicionais de amostras do produto (amostras de reserva) de forma a possibilitar o reteste futuro no caso de eventuais desvios nos resultados obtidos. Estas amostras devem ser armazenadas em condições que mantenham suas características inalteradas;<br>• As condições de temperatura e umidade às quais as amostras testadas são submetidas correspondem à zona climática para a qual o produto é destinado. No caso do Brasil, sugere-se de forma padronizada internacionalmente, a zona climática IVb (30°C ± 2°C e 75%UR ± 5%UR);<br>• Devem ser desenvolvidos procedimentos para lidar com episódios inesperados, como falhas nos equipamentos ou falhas de energia, devendo-se estabelecer um tempo máximo permitido para uma falha. Todos esses episódios devem ser descritos no relatório do estudo e deve ser avaliado seu efeito potencial sobre o resultado do estudo. |

Zona Climática IVb = valores representativos de umidade e temperatura específicos do Brasil
UR = Umidade Relativa

Fonte: Adaptado de Brasil (2024)

# 4 MATERIAIS E MÉTODOS

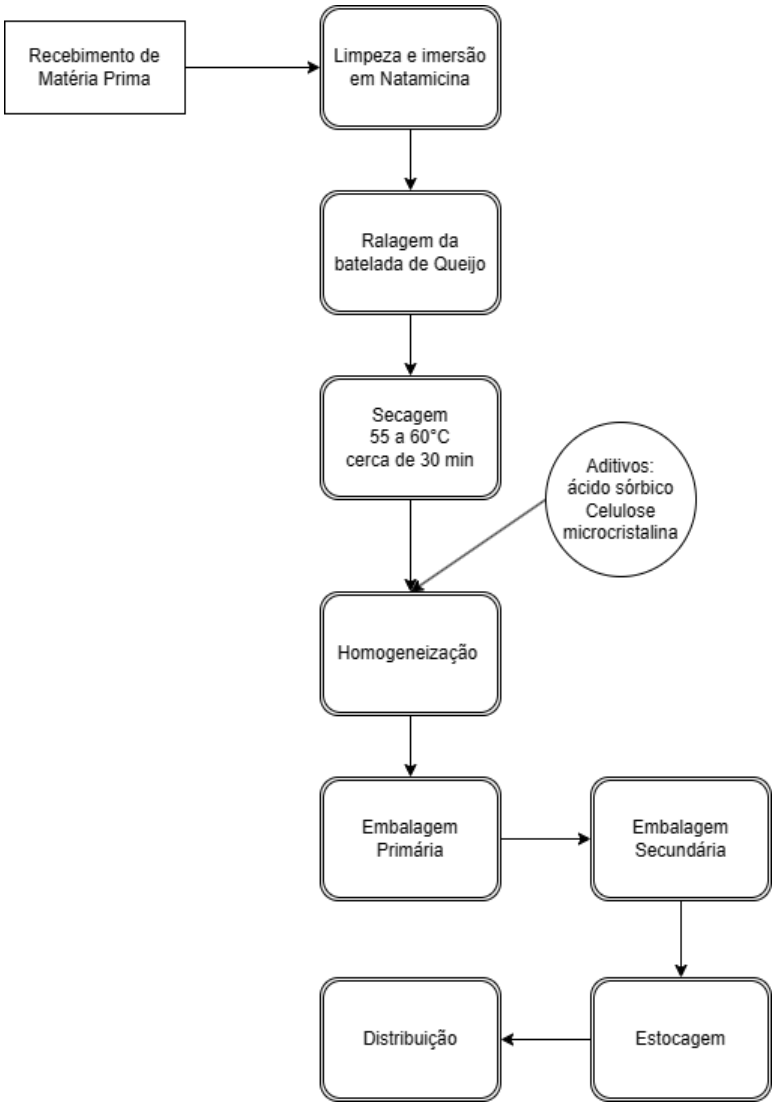
## 4.1 PRODUTO ALIMENTÍCIO SELECIONADO

O produto alimentício deste estudo foi o queijo ralado, fabricado a partir de queijo Minas meia cura, produzido por uma Fábrica de Laticínios localizada no estado do Rio Grande do Sul. O produto é comercializado em uma embalagem composta por uma combinação de filmes de polietileno de baixa densidade e PET, contendo 40 g de produto e possuindo quatro meses de validade. Para este estudo específico, optou-se por condições realistas de armazenamento para imitar fielmente o ambiente de estocagem em estabelecimentos comerciais regionais.

O processo de produção do queijo ralado, detalhadamente descrito nos Procedimentos Operacionais Padrões da indústria estudada, é ilustrado no fluxograma apresentado na Figura 3. Inicialmente, os blocos de queijo Minas meia cura são recebidos e armazenados em uma câmara fria, mantida a uma temperatura de 5 °C ± 2 °C. As bateladas de 90 kg, constituídas de peças de queijo de 5 kg, são pesadas em caixas devidamente higienizadas e são submersas em Natamicina (Vogler, Brasil), por 15 min. Posteriormente, as peças de queijo são transportadas por esteiras para o setor de ralagem. Cada peça passa pelo equipamento responsável por ralar o queijo, que consiste em um ralador de porte industrial (Lemaqui, Brasil), possuindo um disco de ralagem com diâmetro de 1 m com capacidade para ralar 20 kg de queijo por batelada. Em seguida, a batelada de queijo já ralada é levada aos silos de secagem de leito fluidizado (Lemaqui, Brasil), que possui capacidade de 300 Kg de queijo, mas opera a 90 Kg de queijo, onde é exposta a ar aquecido, mantido a uma temperatura de cerca de 50 °C, por 30 min.

Uma vez desidratada, a batelada é direcionada para um misturador, projetado pela própria indústria, com capacidade para 100 Kg de queijo ralado, com velocidade de rotação de 60 rpm. Este processo garante a homogeneização do queijo com os aditivos: 0,1% (m/m) ácido sórbico (Vogler, Brasil) e 2% (m/m) celulose microcristalina (Vogler, Brasil), sendo realizado por 30 min. Em seguida, o produto é transferido para tanques vibratórios que alimentam as balanças e embaladoras automatizadas Masipack Ultra vs250 (Masipack, Brasil).

Figura 3 – Fluxograma de processo do queijo ralado adotado na indústria fabricante do alimento analisado neste trabalho.




Fonte: O autor (2024).

O material utilizado para a embalagem do produto é uma combinação de filmes de polietileno de baixa densidade e PET, possuindo 65,36 µm de espessura e 69,10 g/m² de gramatura.

Após a embalagem o produto é encaminhado ao setor de encaixotamento, através de esteiras transportadoras, onde colaboradores encaixotam as quantidades pré-determinadas nas embalagens secundárias, sendo elas caixas feitas em papelão ondulado, com empilhamento em *pallets*, posteriormente envolto em filme *Strech* (polietileno de baixa densidade). Em seguida os *pallets* prontos são encaminhados

para a expedição onde aguardam seu envio ao cliente, conforme demanda e programação de expedição. A distribuição é realizada através de transportadoras terceirizadas em caminhões não refrigerados e que atendem aos requisitos higiênico-sanitários.

## 4.2 AMOSTRAS E AMOSTRAGEM

Foram consideradas como amostras os pacotes de 40 g de queijo ralado, lacrados, conforme são destinados à comercialização. Os pacotes foram coletados em 14 de junho de 2023 ao final da linha de embalagem primária. A amostragem foi realizada selecionando 3 pacotes, em horários distintos, contemplando o início, o meio e o final do período de produção, conforme descrito na Figura 4. Este procedimento foi realizado visando simular da melhor forma, os diferentes lotes produzidos no dia, considerando que existe homogeneidade nos lotes de matéria prima, pois esta é oriunda de um mesmo fornecedor e que a empresa adota rigorosos procedimentos de qualificação dos seus fornecedores.

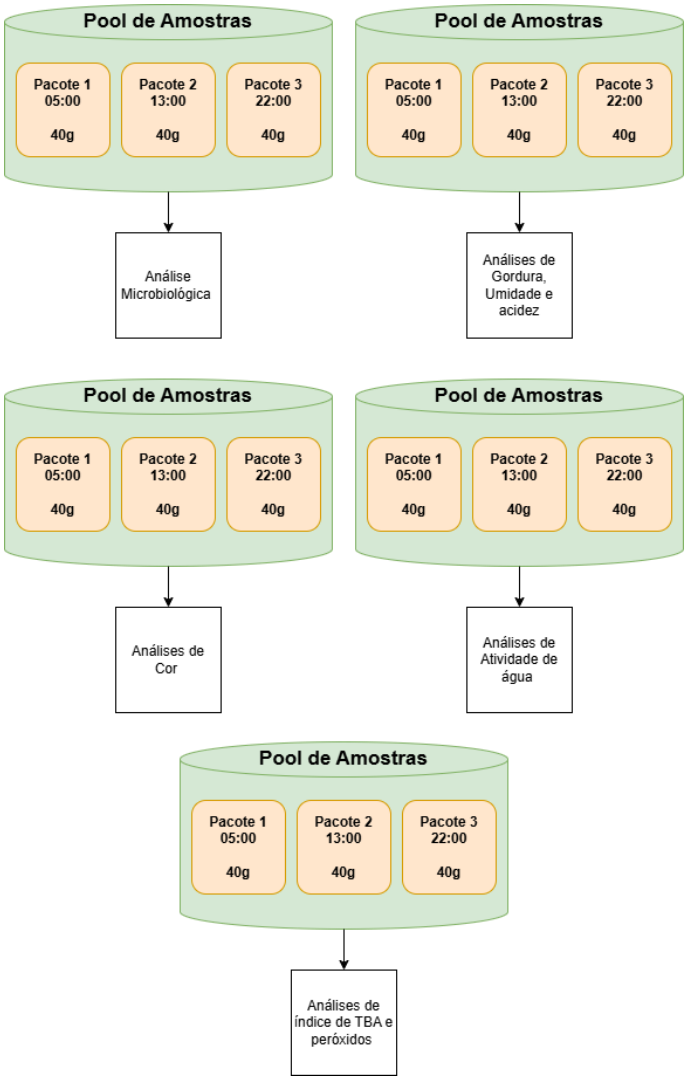
Os conjuntos de pacotes (de 3 diferentes lotes/horários) foram armazenados em caixas térmicas na fábrica e foram transportados para os locais das análises. Para a realização das análises, foi realizado um *pool* das amostras, ou seja, foram misturados os pacotes de amostra, totalizando 120 g de produto dos três diferentes horários/lotes de produção. Foram coletadas amostras suficientes para formar os *pools* necessários para cada análise realizada mensalmente, durante quatro meses. Os *pools* foram feitos homogeneizando o conteúdo (40 gramas) de três pacotes pouco antes da realização de cada análise, de forma a preservar o produto na embalagem original durante todo o período em que ficou armazenado até a realização dos testes.

## 4.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As análises realizadas foram selecionadas através de um estudo da legislação buscando integrar as análises obrigatórias para o produto e as análises julgadas necessárias para avaliar a vida de prateleira do produto. Foram selecionadas as análises físico-químicas de umidade, gordura, gordura no extrato seco (GES), acidez titulável, coloração, atividade de água ($a_w$), índice de ácido tiobarbitúrico (TBA) e índice de peróxido. A análise de atividade de água foi realizada no Laboratório de

Microbiologia e Controle de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) - Campus do Vale; foram enviadas amostras para a realização das análises de Índice de TBA e de Índice de Peróxidos no Laboratório de Análises e Pesquisas em Alimentos da Universidade de Caxias do Sul (UCS) e a análise de cor foi realizada no Complexo de Alimentos da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA). As demais análises (umidade, gordura, gordura no extrato seco e acidez titulável) foram realizadas no Laboratório de Análises Físico-químicas da indústria onde o queijo foi produzido, totalizando 75 amostras de queijo ralado analisadas.

Figura 4 – Fluxograma representando a amostragem utilizada para as análises microbiológicas e físico-químicas, realizadas mensalmente durante 4 meses de avaliação da vida de prateleira do queijo ralado.




Fonte: O autor (2024)

### 4.3.1 Umidade

A análise de umidade é importante porque influencia diretamente na qualidade e segurança dos alimentos. Além disso, é um fator crítico na deterioração dos alimentos, afetando a textura, o sabor e a aparência (Raschen *et al.,* 2014).

Uma balança analisadora de umidade por infravermelho, fabricada por Ohaus, modelo MB25 (Ohaus, Brasil) foi utilizada para determinar o teor de umidade. No procedimento, foram realizadas análises em triplicatas, selecionando uma alíquota representativa do *pool* de amostra de 5 g, que foi cuidadosamente pesada em um prato de alumínio projetado para o aparelho. A pesagem ocorre diretamente no aparelho, por ser um sistema de balança de precisão e aquecimento. Uma vez que a amostra foi devidamente posicionada na balança o equipamento realizou, automaticamente, a medição da umidade presente na amostra.

### 4.3.2 Gordura

A análise de gordura foi realizada utilizando o método butirométrico de Van Gulik, que se baseia em um procedimento específico para separar a gordura presente na amostra. Este método butirométrico de Van Gulik é amplamente utilizado na análise de gordura devido à sua eficácia e confiabilidade. Ele fornece resultados quantitativos que são essenciais em diversos setores, como indústrias de alimentos, laboratórios de pesquisa e controle de qualidade (Castanheira, 2012).

Esse método envolveu o tratamento ácido da amostra utilizando 10 mL de ácido sulfúrico (Synth, Brasil), o qual desempenhou um papel fundamental na extração da gordura por meio da ação de 1mL de álcool isoamílico (Cap-Lab, Brasil). Durante o procedimento, o ácido sulfúrico promoveu a degradação das proteínas presentes na amostra, liberando a gordura que estava ligada a essas estruturas. Para auxiliar nessa reação, 5mL de água destilada quente foram utilizados como um coadjuvante, preparando a amostra para a ação do ácido sulfúrico e do calor durante o banho-maria. A temperatura elevada manteve a gordura em estado líquido facilitando a sua extração pelo álcool isoamílico (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

Após o tratamento adequado da amostra, a leitura dos resultados foi realizada na escala graduada presente na própria vidraria, após a centrifugação, realizada na centrífuga 8 BTF (Cap-lab, Brasil). Esse processo de centrifugação auxiliou na

separação das fases presentes na amostra e permitiu a visualização da quantidade de gordura presente.

### 4.3.3 Acidez titulável

A análise de acidez titulável é importante pois ao detectar a alteração na acidez podemos verificar uma possível ação microbiana (Jahn; Garcia; Copetti, 2017).

A análise de acidez titulável foi realizada utilizando o método titulométrico ácido-base, onde o procedimento para preparo da amostra consistiu em transferir uma amostra de 10 g para um béquer e acrescentar 50mL de água destilada isenta de gás carbônico e agitar com bastão de vidro. Após, foi transferido o resultado da homogeneização para um balão volumétrico, que posteriormente foi resfriado em água corrente e teve o volume completado para 100mL com água destilada. Após, foi transferido uma alíquota de 50mL para um *Erlenmeyer* e gotejado 10 gotas de solução de fenolftaleína (Cap-Lab, Brasil) a 1% (m/v), titulado com hidróxido de sódio (Cap-Lab, Brasil) 0,1 molar. O resultado foi obtido através de uma equação que considera o volume em mL gasto de hidróxido de sódio para neutralizar a solução, resultando em porcentagem de ácido lático na solução (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

### 4.3.4 Atividade de água ($a_w$)

A atividade de água indica o teor de água livre disponível para reações de rancificação hidrolítica e atividade microbiana. Sendo assim, quanto maior a atividade de água, maior serão as chances de acontecer alterações indesejadas no alimento (Picanço *et al.*, 2018).

A análise se baseou no ponto de orvalho, ou seja, ao acondicionar um alimento em uma câmara, após a pressão da água se igualar à pressão atmosférica dentro da câmara, gotículas de água começam a se formar. O aparelho detecta automaticamente a formação das gotículas de água em sua lâmina de vidro e calcula a atividade de água do alimento (Machado, 1997).

O aparelho utilizado para a medição da atividade de água foi o Aqualab PRE Dewpoint (Meter Group, Brasil), que utiliza o método primário por ponto de orvalho e possui sensor infravermelho para manter a temperatura em 25 ºC (Meter Group, 2023).

### 4.3.5 Índice de ácido tiobarbitúrico (TBA)

O índice de ácido tiobarbitúrico (TBA) revela a ocorrência de algum processo de rancificação na amostra, sem a necessidade de um painel sensorial para determinar se o produto apresenta características de produto rançoso. Ou seja, é um método físico-químico que indica o nível de rancidez de uma amostra (Wenjiao *et al.*, 2014). Foi realizada a análise de ácido tiobarbitúrico para quantificar o nível de rancidez das amostras através da avaliação laboratorial, fazendo a substituição de uma análise sensorial para avaliar a rancificação da amostra.

A análise do índice de ácido tiobarbitúrico (TBA) é baseada na determinação espectrofotométrica do complexo róseo formado após a reação de uma molécula de malonaldeído com duas moléculas de ácido 2-tiobarbitúrico (Kirk; Sawyer, 1991). A amostra foi homogeneizada na solução de ácido tiobarbitúrico (Merck, Alemanha) e aquecida por 10 minutos em banho-maria a 95 °C (Cap-Lab, Brasil). Após o resfriamento em água corrente, foi medida a absorbância a 530 nm da amostra (As) e de um branco (Ab). A análise foi realizada no espectrofotômetro da marca Thermo Electron Corporation, modelo Genesys 10-S (Thermo Electron Corporation, USA). O valor de TBA (mg de malonaldeído por kg de amostra) foi obtido através do cálculo da Equação 1: $TBA = 50 \cdot (As - Ab)/200$ (Kirk; Sawyer, 1991).

### 4.3.6 Índice de peróxido

Os peróxidos indicam a manifestação de rancificação oxidativa nos alimentos, uma vez que estes compostos são os primeiros formados quando uma gordura é deteriorada, ou seja, toda gordura que foi oxidada dará resultado positivo para o teste. (Instituto Adolfo Lutz, 2008; Sacramento *et al.*, 2023). O índice de peróxido foi analisado juntamente com o índice de ácido tiobarbitúrico para avaliar físico-quimicamente a rancificação do produto.

O índice de peróxido foi analisado através da presença de substâncias, em termos de miliequivalentes de peróxido por 1000 g de amostra, que oxidam o iodeto de potássio nas condições do teste. Estas substâncias são geralmente consideradas como peróxidos ou outros produtos similares resultantes da oxidação da gordura. A

análise se baseia em uma titulação do iodo liberado (Instituto Adolfo Lutz, 2008; Sacramento *et al*., 2023).

Foram pesados 5 g de amostras e 5 g de sulfato anidro (Synth, Brasil) em Erlenmeyer de 250mL, em seguida foram adicionados 50mL de clorofórmio (Neon, Brasil) e homogeneizado. A solução foi filtrada com papel filtro Qualy 12,5 Ø (Prolab, Brasil) e 25mL deste filtrado foi transferido para um Erlenmeyer. Foram adicionados 37mL de ácido acético (Cap-Lab, Brasil), 1mL de solução saturada de iodeto de potássio (Cap-Lab, Brasil), após 1 min no escuro, foram adicionados 30mL de água destilada e 0,5mL de solução de amido 1% (m/v) (Cap-Lab, Brasil). A solução foi titulada com tiossulfato de sódio 0,01 N (Cap-Lab, Brasil) sob agitação constante. A análise foi realizada em duplicata e foi determinado também o branco. O resultado foi obtido através de uma equação que considera o volume gasto, em mL, de solução de tiossulfato de sódio 0,1N na reação, resultando em miliquivalentes de peróxido em 1000g de amostra.

### 4.3.7 Análise de cor

A análise de cor é um parâmetro importante, pois, através da alteração da cor em um alimento podem ser detectadas processos de deterioração, como a rancificação que pode alterar a cor de muitos alimentos, principalmente os ricos em lipídios, como é o caso do queijo (Ferrari, 1998). A análise foi realizada para quantificar a mudança de cor através de um método físico-químico, substituindo a análise sensorial para avaliar a alteração de cor.

A análise de cor consiste em medir, no sistema CIELAB, definido pela *Commission Internationale de L'éclairage,* em 1976, as coordenadas L*, a* e b* através de um colorímetro. A luminosidade é medida em uma escala de 0 (preto) a 100 (branco) e é representada por L*. As tonalidades de amarelo e azul são determinadas por b*, onde valores positivos representam o amarelo e valores negativos o azul. Para as tonalidades de vermelho e verde o parâmetro que define é o a*, onde valores positivos indicam a tonalidade no vermelho e valores negativos no verde (Yam; Papadakis, 2004).

A análise foi realizada utilizando o equipamento colorímetro, fabricado pela DeltaColor, modelo Colorium7 (DeltaColor, Brasil), utilizando o *software* i7,

desenvolvido pela mesma empresa. A amostra (3 g) foi adicionada ao recipiente próprio do equipamento, acoplado no suporte onde o colorímetro é encaixado. O equipamento realiza a leitura automaticamente, e o software interpreta os resultados, apresentando-os como valores representativos dos parâmetros L*, a* e b* em uma planilha digital. Esses valores podem ser positivos ou negativos, indicando o deslocamento da cor em seus respectivos parâmetros.

## 4.4 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

As análises microbiológicas são importantes, uma vez que podem ser detectadas a presença de microrganismos deteriorantes ou patogênicos que provocam a redução do tempo de vida de prateleira do produto. As análises microbiológicas foram necessárias para avaliar tanto a estabilidade microbiana quanto a sua relação com a acidez e a rancidez da amostra.

As análises microbiológicas selecionadas foram: contagem total de microrganismos mesófilos estritos e facultativos, contagem de *Staphylococcus aureus,* contagem de coliformes totais e coliformes termotolerantes, contagem de *Escherichia coli* e contagem de fungos filamentosos e leveduras.

As análises foram realizadas no laboratório da empresa fabricante do produto, seguindo as normas estabelecidas pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC) - *Official Method of Analysis* (OMA) 2003.08 e Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT): Norma Brasileira ISO 4833-1: Microbiologia da cadeia produtiva - Método horizontal para enumeração de microrganismos capazes de crescer e formar colônias em um meio sólido após incubação aeróbica a 30 °C (AOAC INTERNATIONAL, 2005; ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2015).

Para realizar as análises, primeiramente, foi realizada uma diluição da amostra em solução peptonada tamponada (Merck, Alemanha), e posteriormente foi realizada uma diluição seriada. As amostras foram inoculadas em placas rápidas da Petrifilm® (3M™, EUA) para fungos filamentosos e leveduras, coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus.* E para contagem total de bactérias aeróbias mesófilas foram utilizadas placas de Petri com o meio de cultura *Plate Count Agar* (PCA, Merck) (AOAC INTERNATIONAL, 2005; ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2015).

A metodologia para a inoculação e incubação cumpriu as orientações da AOAC OMA 2003.08 para as placas Petrifilm® e contagem de bactérias aeróbias mesófilas seguiu o método descrito pela ABNT NBR ISO 4833 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2015) para plaqueamento em profundidade.

As placas com PCA e as placas Petrifilm® para *Staphylococcus aureus (STX)* e coliformes totais e *E. coli* (REC) foram incubadas em estufa (Cap-Lab, Brasil) à 35 °C ± 1 °C por 24 h ± 2 h e a placa Petrifilm® para Bolores e Leveduras (RYM) foi incubada em estufa (Cap-Lab, Brasil) à 25 °C ± 1 °C por 48 h ± 2 h para o desenvolvimento de leveduras e 60 h ± 2 h para desenvolvimento de bolores (AOAC INTERNATIONAL, 2005; ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2015).

Após a incubação foram observadas as placas inoculadas em busca de possíveis crescimentos microbianos, e, quando necessário, foi realizada a contagem de unidades formadoras de colônias (UFC), utilizando um contador de colônias (Cap-Lab, Brasil).

## 4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foram realizados três testes independentes para cada análise, em cada tempo analisado, no qual o tempo 0 corresponde à análise realizada logo após o processamento do produto, e os tempos subsequentes correspondem aos meses após o processamento dele, ou seja, o tempo 1 corresponde ao primeiro mês após o processamento (30 dias) e o tempo 4 corresponde ao 4º mês (122 dias), após processamento. Cada análise gerou dados que foram tabulados e analisados estatisticamente utilizando o software Microsoft® Excel® versão 365 (Microsoft, 2023).

Os resultados obtidos para as análises microbiológicas e físico-químicas foram expressos em média ± desvio padrão das triplicatas realizadas para cada análise. Foi realizada a comparação entre os grupos utilizando a análise de variância (ANOVA, fator único) e posteriormente aplicado o teste de Tukey para verificar a significância das diferenças. Os resultados foram considerados significativos se $p \leq 0,05$.

Para a análise de cor, foram calculadas as médias e desvios padrões de cada componente cromático do sistema CIELAB (L*, a* e b*), em cada tempo. A aplicação das análises de variância (ANOVA, fator único) e Tukey foi realizada sobre cada parâmetro, para verificar se houve variação significativa entre os grupos analisados (Wibowo *et al.*, 2015; Carraro, 2020). As médias de cada tempo também foram

utilizadas para a plotagem dos valores obtidos no período analisado em um diagrama de cromaticidade sobre um círculo cromático do sistema CIELAB.

# 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 5.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), em sua Portaria n° 357, de 4 de setembro de 1997, que dispõe sobre os Padrões de Identidade e Qualidade para queijos ralados, indica que a umidade máxima para queijos ralados desidratados provenientes de queijos de média umidade é de 30 g.100 $g^{-1}$. Os resultados observados (TABELA 1) encontram-se dentro dos limites estabelecidos por legislação (Brasil, 1997b), não apresentando diferença significativa entre os tempos analisados ($p \leq 0,05$).

A determinação da umidade é importante, pois, a alta umidade favorece a multiplicação de fungos filamentosos, leveduras e outros microrganismos indesejáveis no alimento. Além disso, a quantidade de água presente pode auxiliar e acelerar o processo de rancificação hidrolítica (Oliveira *et al.*, 2012).

Tabela 1: Resultados das análises físico-químicas (umidade, atividade de água, teor de gordura e teor de gordura no extrato seco) realizadas no queijo ralado durante a sua vida de prateleira.

| | **Tempo 0 (0 dia)** | **Tempo 1 (30 dias)** | **Tempo 2 (60 dias)** | **Tempo 3 (90 dias)** | **Tempo 4 (122 dias)** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Umidade (g/100g)** | 19,85 ± 0,374 [a] | 20,47 ± 0,337 [a] | 19,71 ± 0,212 [a] | 20,13 ± 0,281 [a] | 20,8 ± 0,296 [a] |
| **Atividade de água** | 0,755 ± 0,00378 [b] | 0,747 ± 0,00173 [a] | 0,746 ± 0,00057 [a] | 0,748 ± 0,00057 [a] | 0,748 ± 0,00057 [a] |
| **Gordura (g/100g)** | 23,5 ± 0,87 [a] | 24,67 ± 1,26 [a] | 25,67 ± 1,44 [a] | 25,67 ± 0,76 [a] | 25,17 ± 0,577 [a] |
| **Gordura no extrato seco (g/100g)** | 29,89 ± 0,95 [a] | 30,79 ± 1,71 [a] | 33,02 ± 1,73 [a] | 31,91 ± 0,91 [a] | 32,25 ± 0,66 [a] |

Resultados expressos como média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p<0,05$) de acordo com o teste de Tukey

Fonte: O autor (2024).

De acordo com a Tabela 1, observa-se que a umidade não apresentou variação significativa ($p > 0,05$) entre os tempos das análises, variando de 20,47% nos primeiros 30 dias a 20,8% aos 122 dias. Portanto, verifica-se que há estabilidade em relação à umidade do queijo durante o armazenamento. Segundo Marcondes (2011),

é importante destacar que a embalagem, em seu papel crucial de proteger os alimentos, atua como uma barreira eficaz contra a umidade do ambiente externo. Esta eficácia é atribuída às propriedades dos polímeros que são selecionados e empregados na fabricação de embalagens para alimentos.

No queijo ralado avaliado neste estudo, são utilizados PET e PEBD, sendo o PET o polímero transparente, que confere a resistência e barreira a gases e vapor de água ao pacote e o PEBD é o polímero responsável por receber a impressão do rótulo e conferir barreira à umidade.

O PET, conforme destacado por Delassus (1997), possui nível de permeabilidade ao oxigênio de 6 a 8 nmol/ms, sendo uma barreira considerável às trocas gasosas envolvendo o oxigênio, além disso, possui alta resistência à tração. O polietileno de baixa densidade, conforme Soroka (1995), é um polímero de baixa resistência à tração, no entanto promove uma barreira eficiente contra os vapores de água, conforme destacado por Delassus (1997), sendo de 0,35 nmol/ms, indicando ser uma ótima barreira contra a umidade.

Justus *et al.* (2011), que realizou um estudo sobre a caracterização física e química de queijos Parmesão ralados, comercializados na região sul de Minas Gerais, constatou que os queijos analisados apresentaram valores dentro do permitido pela legislação (Brasil, 1997b), variando de 14,20% a 25,78% de umidade, corroborando com os resultados obtidos neste trabalho.

Além de ser um parâmetro utilizado para representar a estabilidade do alimento, a umidade da matéria-prima, é importante para determinar a qualidade das massas de queijos utilizadas como matérias-primas no processo de fabricação do queijo ralado, sendo um indicador do grau de maturação dos queijos (Fernandes *et al.*, 2013). Conforme os laudos de análise da matéria-prima (queijo Minas meia cura) utilizada nos lotes avaliados neste estudo, todas estavam dentro dos padrões exigidos legalmente (36,0% a 45,9%), apresentando entre 37,5% e 39,9% de umidade (Brasil, 1997b).

A atividade de água apresentou variação significativa ($p \leq 0,05$) entre os tempos analisados (TABELA 1). O tempo 0 apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparado com os outros tempos analisados, no entanto os tempos 1, 2, 3 e 4 não possuem variação significativa entre si ($p > 0,05$). Demonstrando, então, que a atividade de água no primeiro momento após a produção do alimento é ligeiramente maior que nos meses seguintes, em que apresenta estabilidade no parâmetro.

Maldonado *et al.* (2006) identificou valores superiores de atividade de água em suas análises de queijo parmesão ralado, assumindo ser níveis que permitiam a multiplicação microbiana. Atividades de água superiores a 0,80 favorecem a deterioração de alimentos, principalmente em alimentos ricos em lipídios, como é o caso do queijo ralado, devido a quantidade de água disponível para as reações de rancificação hidrolítica (Bof, 2019). Neste trabalho foram observados valores de atividade de água com níveis superiores a 0,7, portanto, o queijo ralado estava propenso a reações de rancificação hidrolítica.

Além de propiciar a rancificação hidrolítica em alimentos com maior quantidade de gordura em sua composição, a atividade de água que é a porção de água livre na estrutura molecular do alimento e é um aspecto importante para determinar o quão estável um alimento é em relação à atividade bacteriana e fúngica (Ditchfield, 2000).

Consoante com o baixo teor de umidade, todas as amostras mantiveram a atividade de água abaixo de 0,8, valor limite para multiplicação microbiana, segundo Franco e Landgraf (2004). Trombete, Fraga, Saldanha (2012) encontraram valores semelhantes nas amostras de queijo parmesão ralado analisadas por eles, no entanto, algumas de suas amostras ultrapassaram o valor de 0,8.

Segundo Fonseca *et al.* (2022) a maioria das bactérias, incluindo as patogênicas, necessitam de um valor mínimo de atividade de água de 0,92 para se multiplicarem. As leveduras, por outro lado, conseguem se multiplicar mesmo com valores de atividade de água mais baixos e os fungos filamentosos ainda menores. Para a maioria dos microrganismos, o limite para a multiplicação é de cerca de 0,83, portanto o valor limite de atividade de água para a ausência de multiplicação de microrganismos é de 0,8, acima deste valor o desenvolvimento de fungos deteriorantes começa a ser observado.

Ditchfield (2000) indica que a multiplicação de fungos inicia com atividade de água em 0,81 e a produção de micotoxinas inicia-se com atividade de água entre 0,83 e 0,86. Entretanto, bactérias como *Staphylococcus aureus* apresentam início de sua multiplicação com atividade de água em 0,86 com produção de toxinas em 0,87.

Os microrganismos não têm a tendência de se multiplicar em $a_w$ inferior a 0,83, como descrito por Fonseca *et al.* (2022) e Ditchfield (2000), no entanto podem vir a se multiplicar em situações em que as condições de multiplicação se tornem favoráveis, como o armazenamento inadequado.

As análises microbiológicas realizadas neste trabalho, demonstram que há uma tendência de estabilidade na multiplicação microbiana (Tabela 4) entre a data de fabricação (tempo 0) e o quarto mês da data de validade (tempo 4), possivelmente devido à baixa atividade de água.

Na análise de gordura, foi observado que não houve variação significativa ($p > 0,05$,) nos teores das amostras, durante os tempos avaliados. A gordura no extrato seco também foi identificada sem variações significativas nos tempos analisados. O teor médio de gordura no extrato seco presente nas amostras variou de 29,89 g.100 $g^{-1}$ a 32,25 g.100 $g^{-1}$ ao longo dos tempos analisados.

Conforme a Portaria nº 357 de 4 de setembro de 1997, “a matéria gorda no extrato seco do queijo ralado deve corresponder à média ponderada dos valores da matéria gorda no extrato seco estabelecidos para as variedades nas proporções utilizadas”, ou seja, o teor de gordura no extrato seco do queijo ralado deve ser igual ao teor de gordura no extrato seco da sua matéria prima (Brasil, 1997b).

Segundo a Instrução Normativa nº 74 de 24 de julho de 2020, o teor de gordura no extrato seco para queijos semigordos, como é o caso do Minas meia cura, utilizado na produção do queijo ralado analisado, possui limite máximo de 59,9 g.100 $g^{-1}$ e mínimo de 42,0 g.100 $g^{-1}$. Evidenciando desta forma, uma falha no controle da qualidade da matéria-prima dos lotes utilizados na fabricação dos queijos avaliados.

Schroeder et al. (2004) destaca que os lipídios são os constituintes do leite mais afetados pelos agentes modificadores de composição deste alimento, sendo o principal a alimentação das vacas produtoras de leite, afetando diretamente na quantidade de lipídios encontrados nos queijos produzidos a partir dele. Entretanto, segundo a Portaria nº 357 de 1997 (Brasil, 1997) que regulamenta as características de identidade e qualidade de queijo ralado, as amostras analisadas estão todas abaixo dos padrões para teor de gordura no extrato seco estabelecidos pela legislação brasileira. Justus et al. (2011) encontrou valores condizentes com a legislação nas amostras de queijo parmesão ralado analisadas por ele, em que todos os teores de gordura estavam dentro dos padrões da categoria de queijos semigordos, diferenciando-se dos resultados obtidos neste trabalho.

Analisar o teor de gordura se fez importante, pois quanto mais alto o teor de gordura, maior são as chances de ocorrer os processos de rancificação e com maior intensidade. Desta forma, o teor de gordura está relacionado, com a alteração da coloração, odor, sabor e textura da amostra (Ferrari, 1998).

A Tabela 2 demonstra os resultados obtidos nos parâmetros utilizados para avaliar a rancificação (acidez titulável, índice de peróxido e índice de ácido tiobarbitúrico) do queijo ralado.

Os valores de acidez titulável (TABELA 2) variaram significativamente ($p < 0,05$) ao longo do tempo, sendo que nos primeiros 90 dias houve um aumento da acidez, mas depois nos 122 dias foi significativamente igual ao tempo 0 ($p = 0,05$). Podemos atribuir o aumento da acidez nos primeiros 30 dias à produção de ácido pelas bactérias aeróbias mesófilas detectadas nas análises microbiológicas (TABELA 4). Após os primeiros 30 dias, pode também ter ocorrido a rancificação hidrolítica, em que a água disponível no alimento reage com os lipídios, tendo como precursor uma alteração química, provocada pelas ações microbianas que podem ter ocorrido nos primeiros 30 dias.

Tabela 2: Resultados das análises de acidez titulável, índice de peróxido e índice de ácido tiobarbitúrico, realizadas no queijo ralado durante a sua vida de prateleira.

| | **Tempo 0 (0 dia)** | **Tempo 1 (30 dias)** | **Tempo 2 (60 dias)** | **Tempo 3 (90 dias)** | **Tempo 4 (122 dias)** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Índice de acidez titulável (g/100g)** | 0,1999 ± 0,0102 [a] | 0,2471 ± 0,0001 [c] | 0,2282 ± 0,0045 [b] | 0,2226 ± 0,0071 [b] | 0,1863 ± 0,0104 [a] |
| **Índice de peróxido (meq $O_2$/kg)** | 0,8 ± 0,5657 [a] | 1,3 ± 0,2828 [c] | 0,7 ± 0,1414 [a] | 1,00 ± 0,00 [b] | 1,05 ± 0,0707 [c] |
| **Índice de ácido tiobarbitúrico (TBA) (mg de malonaldeído/kg)** | 1,57 ± 0,0283 [a] | 1,6375 ± 0,0389 [bc] | 1,6355 ± 0,0092 [b] | 1,695 ± 0,0099 [c] | 1,694 ± 0,0085 [c] |

Resultados expressos como média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p<0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

Fonte: O autor (2024).

Trombete (2012), em seu estudo utilizando queijo parmesão ralado, encontrou valores superiores de acidez em relação a este estudo, no entanto, observou grandes variações entre as amostras, assim como as encontradas neste trabalho. O autor atribui a elevação na acidez à ação microbiana, diferindo deste trabalho, que além da ação microbiana que ocorreu nos primeiros 30 dias houve, possivelmente, também a hidrólise lipídica.

De acordo com Trombete, Fraga, Saldanha (2012), a acidez titulável deve ser semelhante à acidez da matéria-prima, que segundo os laudos da matéria-prima utilizadas para produção do queijo avaliado neste trabalho, apresentaram valores de acidez semelhantes (0,15 a 0,3 g/100g). Soares *et al*. (2012) indica que a rancidez hidrolítica pode ser observada quando os níveis de acidez titulável do alimento são modificados com o passar do tempo. Menegol *et al*. (2020) afirma que a rancidez hidrolítica é avaliada através do índice de acidez do alimento. Conforme observado na Tabela 2, a acidez apresenta variações significativas, dando indícios de rancidez hidrolítica após os primeiros 30 dias de fabricação do queijo ralado.

O aumento da acidez nas amostras após 30 dias de fabricação pode também estar relacionado com a presença de bactérias aeróbias mesófilas, que transformam a lactose em ácido lático. Wolfschoon-Pombo e Lima (1989) e Sangaletti *et al*. (2009) também observaram a multiplicação de bactérias aeróbias mesófilas e o aumento da acidez das amostras nos primeiros 30 dias depois da produção dos queijos Parmesão avaliados por eles.

Os valores do índice de peróxido apresentaram significativa variabilidade ($p > 0,05$) entre os tempos analisados, indicando que não se manteve estável durante o período avaliado. Esse comportamento sugere a formação de metabólitos de oxidação da gordura do alimento. De acordo com Barros (2012), os peróxidos lipídicos são os primeiros metabólitos formados durante a oxidação dos lipídios, sendo compostos instáveis que se decompõem em produtos secundários, como aldeídos, cetonas e dienos. Esses produtos secundários podem ser detectados sensorialmente e através do índice de TBA, conforme descrito por Terra, Cichoski e Freitas (2006).

Ribeiro *et al.* (2012), em seu estudo sobre qualidade físico-química e microbiológica do queijo parmesão ralado comercializado em Ponta Grossa, Paraná, encontrou valores superiores de índice de peróxido, em todos os queijos analisados, em comparação com os resultados encontrados no final da vida de prateleira do queijo ralado analisado neste trabalho, sendo o menor valor 3,9 ± 0,05 meq $O_2$/Kg e o maior 451,41 ± 5,77 meq $O_2$/Kg. As amostras utilizadas por Ribeiro *et al. (2012)* foram coletadas de forma aleatória, estando disponíveis no comércio local, sem controle de temperatura e condições gerais de armazenamento e exposição à luz. Observando os resultados obtidos, verifica-se que apesar de haver evidências de rancificação, esta não ocorre com tanta intensidade quanto o ocorrido nas marcas de queijo ralado analisadas por Ribeiro *et al. (2012)*.

Em seu estudo sobre o efeito do pH na qualidade do queijo de manteiga, Almeida (2008) observou que, após 35 dias de armazenamento refrigerado, a amostra apresentou um aumento significativo no índice de peróxido, com valores máximos de 5,6 meq $O_2$/Kg. Esses resultados superaram os valores encontrados neste trabalho, possivelmente por se tratar de um produto não desidratado.

O índice de ácido tiobarbitúrico (TBA) apresentou variação significativa ($p < 0,05$) nas amostras analisadas. Observa-se que houve diferenças significativas entre os tempos 0 e 1, indicando que houve a rancificação oxidativa da amostra a partir do primeiro mês após a fabricação do produto. Nos tempos 2 e 4 houve diferença significativa ($p < 0,05$), indicando que a rancificação oxidativa continuou ocorrendo até o final do período analisado.

Wenjiao *et al*. (2014) observaram, em seu estudo sobre modelos preditivos de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em linguiças suínas armazenadas em diferentes temperaturas, que houve um significativo aumento ($p < 0,05$) nos teores do índice de TBA do produto estudado, corroborando com os resultados obtidos no presente estudo, no qual para o queijo ralado, foi observado aumento dos níveis de TBA até sua estabilização, a partir do tempo 3, indicando que houve reações de oxidação nas amostras. As reações de oxidação podem ter acontecido devido à presença de oxigênio e água, na etapa de acondicionamento do produto, que pode ter sido precursor para a reação, uma vez que o produto é embalado sem atmosfera modificada.

Menegol *et al*. (2020) encontrou valores de TBA inferiores (entre 0,011 e 0,907 mg de malonaldeído/kg) aos valores encontrados neste trabalho, em que os valores encontrados foram superiores a 1,5 mg/kg após 30 dias de fabricação, indicando que o queijo ralado analisado neste trabalho pode oferecer risco à saúde humana, uma vez que há formação de moléculas tóxicas, conforme descrito por Torres e Okani (1997), causado pela degradação dos ácidos graxos insaturados em radicais livres, os quais podem oferecer riscos à saúde humana. Não há limite de tais compostos descritos na legislação, no entanto, conforme Menegol *et al.* (2020), 1,5 mg/kg é o limite seguro para a ingestão destes compostos, assim como Terra *et al.* (2006) afirmou em sua pesquisa sobre valores de nitrito e TBARS em paleta suína curada, maturada e fermentada.

A percepção da oxidação dos lipídios pelo consumidor, usualmente passa despercebida, pois, o limiar de percepção do odor e sabor rançoso gerados pela

oxidação lipídica é alto, ou seja, é necessário que uma grande quantidade de compostos seja recebida nos órgãos sensoriais para que possam ser notadas as alterações sensoriais, ou seja pequenas quantidades destes compostos podem passar despercebidos por consumidores (Silva; Borges; Ferreira, 1998). Portanto, a análise sensorial, apesar das suas limitações e das dificuldades que envolvem a sua aplicação na rotina industrial, seria uma melhor alternativa para avaliar se as alterações observadas no queijo ralado durante a sua vida prateleira, decorrentes da rancificação trazem prejuízos perceptíveis pelos consumidores.

## 5.2 DETERMINAÇÃO DE COR

Na Tabela 3, observa-se que o parâmetro L*, que representa a luminosidade, não apresentou variação estatística significativa entre as amostras durante os meses analisados ($p > 0,05$). Os parâmetros a* e b* apresentaram variação significativa ($p < 0,05$). Os tempos 3 e 4 apresentaram variação significativa em relação aos tempos anteriores (0, 1 e 2). Nos primeiros 2 meses de fabricação tende, conforme mostra o parâmetro a*, ao verde, e nos meses finais há uma tendência para o vermelho. Analisando o parâmetro b*, evidencia-se que a tonalidade amarela se intensifica nos meses finais (90 e 122 dias). A mudança de cor, para uma tonalidade mais alaranjada, pode ser notada conforme o tempo avança em relação à validade da amostra.

Tabela 3: Parâmetros de cor observados para o queijo ralado durante a sua vida de prateleira.

| | **Tempo 0 (0 dia)** | **Tempo 1 (30 dias)** | **Tempo 2 (60 dias)** | **Tempo 3 (90 dias)** | **Tempo 4 (122 dias)** |
|---|---|---|---|---|---|
| **L* (luminosidade)** | 76,122 ± 2,8464 [a] | 78,938 ± 1,7495 [a] | 77,572 ± 2,545 [a] | 75,293 ± 1,708 [a] | 76,237 ± 1,724 [a] |
| **a* (verde-vermelho)** | -0,057 ± 0,4222 [a] | -0,608 ± 0,6560 [a] | -0,122 ± 0,8093 [a] | 0,592 ± 0,6190 [ab] | 1,633 ± 1,3165 [b] |
| **b* (azul-amarelo)** | 29,088 ± 2,8982 [a] | 28,51 ± 0,92 [a] | 28,636 ± 0,7320 [a] | 32,592 ± 1,1722 [b] | 32,777 ± 1,8708 [b] |

Resultados expressos como média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p<0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

Fonte: O autor (2024)

Laurindo (2017) constatou em seus estudos sobre teor de natamicina, caracterização físico-química, perfil de ácidos graxos e índices de qualidade lipídica em queijo azul e queijo tipo gorgonzola, que, ao longo do tempo, houve uma tendência

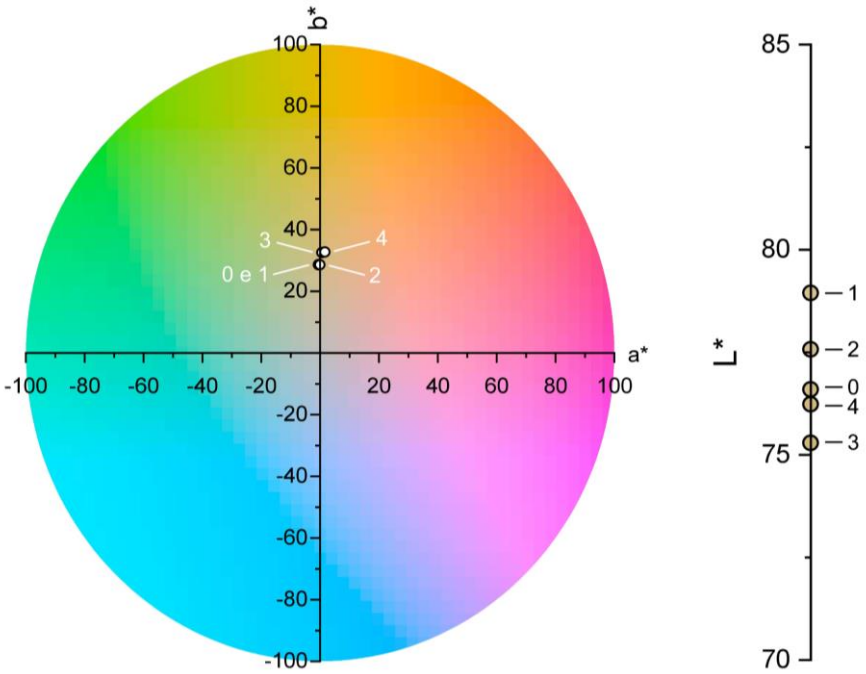
de os queijos se tornarem mais alaranjados. Porém, a presença do fungo de maturação interferiu nos resultados de cor, levando o parâmetro a* ao verde. A mudança de cor, conforme exposto por Ferrari (1998), é influenciada pela ação da oxidação lipídica, que no caso do queijo ralado avaliado neste trabalho foi observada durante o período analisado.

O comportamento das amostras, com relação à cor, durante os tempos analisados pode ser observado no gráfico de posição cartesiana das amostras no sistema CIELAB, que está representado por um círculo cromático, apresentado na Figura 5. Nesta figura é apresentado um diagrama de cromaticidade, com o eixo horizontal correspondendo ao parâmetro a* (podendo assumir valores de -100 a 100) e o eixo vertical correspondendo ao parâmetro b* (podendo, também, assumir valores de -100 a 100), e em que o fundo é uma aproximação da cor correspondente à coordenada (em termos de a* e b*). À direita, há um gráfico de uma variável, apresentando o parâmetro L*. Os símbolos simbolizam cada tempo, explicitados pelo número que acompanha o símbolo (tempos 0, 1, 2, 3 e 4). Ao observar os tempos 0, 1 (30 dias) e 2 (60 dias), é possível notar que as cores se mantêm estáveis na mesma posição. O tempo 3 (90 dias) apresenta a cor levemente mais amarelada que os tempos anteriores e o tempo 4 (122 dias) possui coloração mais alaranjada.

A Figura 6 apresenta a relação entre a mudança de cor ao longo do tempo e o índice de TBA. Observa-se que a amostra se tornou mais alaranjada, possivelmente relacionada ao aumento do índice de TBA. Os dados foram analisados com uma luminosidade de L=77 (valor médio da luminosidade das amostras), para facilitar a comparação entre amostras e destacar as mudanças nos outros parâmetros (a* e b*).

O índice de ácido tiobarbitúrico é utilizado como indicador de rancificação oxidativa nas porções lipídicas dos alimentos. Quando esse parâmetro apresenta elevação sugere um aumento nos níveis de oxidação dos lipídios da amostra. Um dos fatores observados nas reações de oxidação de lipídios é a alteração indesejada da cor. Na Figura 6 podemos observar essa mudança de cor, que em queijo ralado a coloração desejada é amarelo claro, mas devido à oxidação lipídica, o queijo ralado apresentou coloração alaranjada. Laurindo (2017) também observou esse fenômeno em suas análises de queijo tipo Gorgonzola que obteve a coloração alaranjada devido a oxidação dos lipídios, que, no entanto, também teve a cor influenciada pelo fungo inoculado, resultando em uma coloração levemente puxada para o verde.

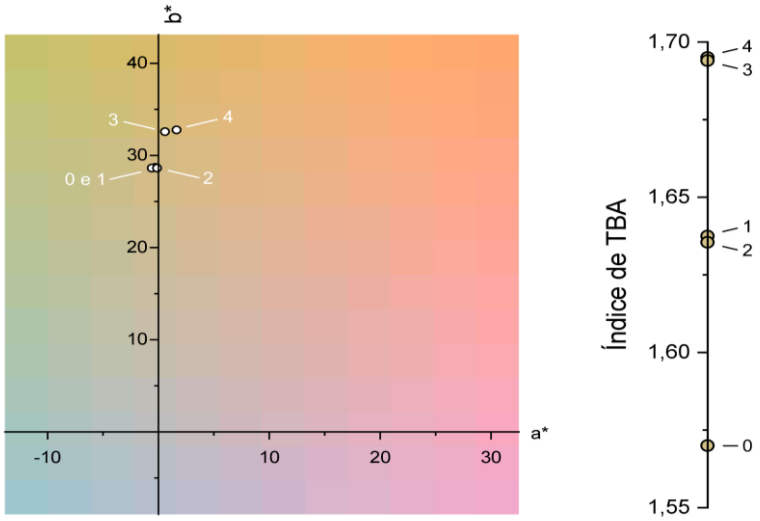
Figura 5: Posição cartesiana das amostras de queijo ralado no sistema CIELAB




L*: Luminosidade; a*: Parâmetro verde-vermelho; b*: Parâmetro azul-amarelo.
0 = dia 0; 1= 30º dia; 2 = 60º dia; 3= 90º dia e; 4= 122º dia.

Fonte: O autor (2024).

Figura 6: Gráfico que demonstra a relação entre os parâmetros de cor (a* e b*) e o índice de ácido tiobarbitúrico com L*=77, no queijo ralado durante a sua vida de prateleira.




L*: Luminosidade; a*: Parâmetro verde-vermelho; b*: Parâmetro azul-amarelo.
0 = dia 0; 1= 30º dia; 2 = 60º dia; 3= 90º dia e; 4= 122º dia.

Fonte: O autor (2024).

## 5.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Os resultados das análises microbiológicas (TABELA 4) demonstram que 100% das amostras analisadas não apresentaram contagem de coliformes totais, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e fungos filamentosos em todos os tempos analisados. Tal resultado era esperado devido à baixa atividade de água ($a_w$ < 0,8). Para Fonseca *et al.* (2022), a atividade microbiana começa a ser viável em atividade de água superior a 0,8, apresentando multiplicação de fungos, corroborando com o descrito por Ditchfield (2000), que mostra que muitas das bactérias são viáveis em atividade de água de 0,92 diferindo das leveduras e fungos filamentosos que conseguem se desenvolver em atividades de água acima de 0,8. Os resultados obtidos nestas análises corroboram com os resultados obtidos por Pimentel et al. (2002), que em suas análises também não detectaram a presença destes microrganismos em queijo ralado.

Observa-se, porém, a presença de bactérias aeróbias mesófilas e leveduras e que ocorreu uma redução nas contagens desses microrganismos ($p < 0,05$) ao longo dos 122 dias avaliados (TABELA 4).

Tabela 4: Contagens de leveduras e bactérias aeróbias mesófilas encontradas nas amostras de queijo ralado durante a sua vida de prateleira.

| | **Tempo 0 (0 dia)** | **Tempo 1 (30 dias)** | **Tempo 2 (60 dias)** | **Tempo 3 (90 dias)** | **Tempo 4 (122 dias)** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Leveduras (UFC/g)** | 2,5 ± 0,836 [b] | 0 ± 0 [a] | 0 ± 0[a] | 0 ± 0[a] | 0 ± 0 [a] |
| **Bactérias aeróbias mesófilas (UFC/g)** | 74,5 ± 23,27 [b] | 2,8± 1,602 [a] | 0 ± 0 [a] | 0 ± 0 [a] | 0 ± 0 [a] |

Resultados expressos como média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p<0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

Fonte: O autor (2024).

As bactérias aeróbias mesófilas se mantiveram viáveis durante o primeiro mês do período de validade, apresentando uma média de $7,45 \times 10^1$ UFC/g de amostra no tempo 0, decaindo para $2,8 \times 10^0$ UFC/g de amostra na análise realizada nos 30 dias após a fabricação, concordando com os resultados observados por Sangaletti *et al*. (2009) que verificou que, no decorrer dos 30 dias após o processamento do queijo Minas frescal, houve uma multiplicação significativa das bactérias aeróbias mesófilas.

No tempo 1 (30 dias), a população das bactérias reduziu para $2,8x10^0$ UFC/g de amostra, decaindo e mantendo-se constante em 0 UFC/g nos tempos seguintes, indicando que as condições para a sobrevivência delas se tornam inviáveis após o processamento do queijo.

O queijo Minas meia-cura passa por processo de maturação de 10 dias e segundo Sangaletti et al. (2009), a multiplicação mais acentuada das bactérias aeróbias mesófilas se dá nos primeiros 30 dias de maturação. A contagem, embora baixa, de bactérias aeróbias mesófilas no tempo 0, ocorre possivelmente devido à sobrevivência destes microrganismos durante o processo de secagem, mas que, no entanto, cessa devido às condições do alimento, onde é observada a redução de oxigênio disponível, a baixa atividade de água, a elevação da acidez e a presença dos conservantes (natamicina e ácido sórbico). Tais condições causam o decaimento das contagens observado entre os tempos 0 e 1 (30 dias) e posteriormente nos outros tempos analisados.

A acidez do queijo tende a aumentar conforme observado na Tabela 2. Isto ocorre por causa da multiplicação de microrganismos até os 30 dias de fabricação do produto, esse desenvolvimento acaba favorecendo a conservação do produto por inibir a microbiota patogênica, como Sangaletti et al. (2009) observaram em seu estudo sobre vida útil de queijo Minas. No entanto, como observado por Menegol et al. (2020), o aumento da acidez está relacionado com o início da rancidez hidrolítica no alimento, que primeiramente apresenta multiplicação microbiana, em seguida os microrganismos realizam a síntese de ácidos que desencadeiam a reação de rancificação.

## 6 CONCLUSÃO

Observando as variações nos teores de umidade, gordura, gordura no extrato seco e a leve redução na atividade de água durante a vida de prateleira, pode se dizer que o produto se manteve estável para estes parâmetros físico-químicos. No entanto, ao analisar os resultados de índice de TBA, índice de peróxidos e coloração, fica evidente as alterações ocorridas nos parâmetros relacionados à oxidação e cor. É importante ressaltar que análises sensoriais não foram realizadas, mas devem ser realizadas pela empresa para verificar se as alterações ocorridas (rancidez) no produto ao longo do prazo de validade são perceptíveis pelos consumidores.

O índice de acidez titulável apresentou variações que indicam uma possível ação bacteriana no início da vida de prateleira do queijo ralado que, possivelmente, atuou como precursor da rancificação hidrolítica. O índice de TBA demonstrou que a oxidação lipídica ocorreu, pois houve variações significativas ($p < 0,05$) entre o tempo 0 (0 dia) e o tempo 4 (122 dias).

A atual vida de prateleira do produto analisado é de 120 dias (4 meses). Todavia, o período em que a deterioração começou a ser observada foi a partir dos 90 dias, podendo ser indício da ação da oxidação lipídica do alimento, pois sendo um produto ralado, é observado maior área superficial em contato com o oxigênio e incidência de luz, indicando a necessidade de implementação de outras barreiras para melhorar a conservação do alimento, priorizando a redução da exposição à luz.

Considerando o queijo utilizado como matéria-prima, o teor de gordura apresentou resultados abaixo dos limites estabelecidos pela legislação, ou seja, apesar de não ser impróprio para o consumo, não atende aos padrões de identidade e qualidade estabelecidos. Esta questão pode ser facilmente corrigida através da substituição ou qualificação dos fornecedores e adequação dos controles adotados no recebimento de matéria-prima.

Esta pesquisa contribuiu para a avaliação de processos e insumos para melhorar a vida de prateleira do queijo ralado, uma vez que, a partir dela, podem ser estudadas, pela gestão da empresa, a aplicação de novas embalagens impermeáveis à luz, garantindo que a foto-oxidação não seja um fator de deterioração do alimento, e/ou a implementação de atmosfera modificada utilizando nitrogênio, bem como a alteração na embalagem para comportar tal tecnologia. Desta forma, a empresa poderá assumir uma vida de prateleira maior, como planeja, podendo atingir os almejados seis meses,

assegurando um produto seguro para o consumo sem o risco de oxidação lipídica precoce do alimento.

Entretanto, há a necessidade de complementar o estudo com a realização de análises sensoriais para garantir que a oxidação lipídica detectada a partir do 90º dia não é de fato percebida pelos consumidores.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


ALMEIDA, L. C**. Efeito do pH na qualidade do queijo de manteiga**. Revista de Laticínios, Campinas, v. 63, n. 3, p. 173-180, 2008.

AMIT, S. K.; UDDIN, M. M.; RAHMAN, R.; ISLAM, S. M. R.; KHAN, M. S. A review on mechanisms and commercial aspects of food preservation and processing. **Agriculture & Food Security**, v. 6, 2017.

AOAC INTERNATIONAL: Association of Official Analytical Chemists. **AOAC Official Method 2003.08**: Enumeration of Staphylococcus aureus in Selected Dairy Foods. AOAC International, 2005.

APHA. American Public Health Association**. Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington, 4th Edition, 2001.

ARCHER, D. B.; CONNERTON, I. F.; MACKENZIE, D. A. Filamentous Fungi for Production of Food Additives and Processing Aids. In: SCHEPER, T. et al. (Org.). **Food Biotechnology**. Springer, 2008. p. 99-147. (Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology, 111).

ASCHEMANN-WITZEL, J.; GIMÉNEZ, A.; ARES, G. Consumer in-store choice of suboptimal food to avoid food waste: The role of food category, communication and perception of quality dimensions. **Food Quality and Preference**, v. 68, p. 29-39, 2018.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR ISO 4833**: Microbiologia da cadeia produtiva de alimentos - Método horizontal para a enumeração de microrganismos. Rio de Janeiro: ABNT, 2015.

ÁVILA, C. R.; GALLO, C. R. Pesquisa de Salmonella spp. em leite cru, leite pasteurizado tipo C e queijo “Minas Frescal” comercializados no município de Piracicaba - SP. **Scientia Agricola**, v. 53, n. 1, p. 159- 163, jan/abr. 1996.

BARROS, J. J. C.; AZEVEDO, A. C.; FALEIROS JR., L. R.; TABOGA, S. R.; PENNA, A. L. B. Queijo parmesão: caracterização físico-química, microbiológica e microestrutura. **Ciência e Tecnologia em Alimentos**, Campinas, v. 31, n. 2, p. 285-294, jun. 2011.

BARROS, E. A. **Estudo de lipoxigenases em extrato hidrossolúvel de soja (Glycine max (L.) MERR.) submetido a diferentes tratamentos**. Orientador: Fernando Broetto. 2012. 75 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2012.

BERTONCELO, E. **Classe Social e Alimentação: Padrões de consumo alimentar no Brasil contemporâneo**. Revista Brasileira de Ciências Sociais, v. 34, n. 100, 2019.

BLOUNT, Z. D. The Natural History of Model Organisms: The unexhausted potential of *E. coli*. **eLife**, v. 4, 2015.

BOF, C. M. J. **Conservação de queijo ralado através da aplicação de ozônio durante a etapa de desidratação**. Orientador: Christian Oliveira Reinehr. 2019. 133 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Passo Fundo, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Passo Fundo, 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Portaria nº 353, de 4 de setembro de 1997**. Aprovar o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de Queijo Parmesão, Parmesano, Reggiano, Reggianito e Sbrinz. Brasília, DF: Diário oficial da União, 1997a.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Portaria nº 357, de 4 de setembro de 1997**. Estabelece os parâmetros para a potabilidade da água. Brasília, DF: Diário oficial da União, 1997b.

BRASIL. **Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1990**. Dispõe sobre a proteção do consumidor e dá outras providências. Brasília, DF: Diário Oficial da União, 12 set. 1990.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para Determinação de Prazos de Validade de Alimentos**, n. 16, v. 2, 3 jul. 2024.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 74 de 24 de julho de 2020**. Dispõe sobre a identidade e os requisitos de qualidade que deve apresentar o produto denominado queijo minas meia cura. Brasília, DF: Diário Oficial da União, 29 set. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Instrução Normativa nº 211, de 1º de março de 2023**. Estabelece as funções tecnológicas, os limites máximos e as condições de uso para os aditivos alimentares e os coadjuvantes de tecnologia autorizados para uso em alimentos. Brasília: Ministério da Saúde, 2023.

CANDINHO, P. O. **Pesquisa de coliformes totais, termotolerantes e *Listeria* spp. em queijo Minas artesanal produzido na microrregião do Triângulo Mineiro no período da seca**. Orientador: Guilherme Ramos Oliveira e Freitas. 2023. 50 p. Monografia (Bacharelado em Biotecnologia) - Universidade Federal de Uberlândia, Patos de Minas, 2023.

CARRARO, M. M. **Determinação do *shelf life* de um novo processo de fabricação de sidra após diferentes tratamentos de conservação.** Orientador: Alessandro Nogueira. 2022. 100 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Ponta Grossa, 2022.

CARVALHO, M. L. B. **Avaliação da estabilidade termo-oxidativa do óleo das sementes de quiabo**. 2011. 87 p. Orientador: Antonio Gouveia de Souza. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Paraíba, Programa de Pós-Graduação em Química, João Pessoa, 2011.

CASTANHEIRA, A. C. G. **Controle de Qualidade de Leite e Derivados**: Manual Básico. 2. ed. São Paulo: Cap-Lab, 2012. 368 p.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Staphylococcal (Staph) Food Poisoning**. CDC, 2023. Disponível em: https://www.cdc.gov/foodsafety/diseases/staphylococcal.html. Acesso em: 5 nov. 2023.

COELHO, R. H.; ANDRADE, V. O. A.; MOURA, G. S. Contaminação de alimentos e seus fatores predisponentes: uma revisão integrativa. **Brazilian Journal of Health Review**, Curitiba, v. 4, n. 3, p. 10071-10087, maio/jun. 2021.

COLTRO, L.; BURATIN, A. L. P. Garrafas de PET para Óleo Comestível: avaliação da barreira à luz. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, vol. 14, n. 3, p. 206-211, 2004.

CORADELLO, L. F. C. **Vida de prateleira de alimentos**. Brasília: Unyleya, 2015.

COLLINS Y. C.; MCSWEENEY, P. L. H.; WILKINSON, M. G. Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. **International Dairy Journal**, v. 13, p. 841-866, 2003

DELASSUS, P. “Barrier polymers”. In: YAM, K. L. (Org.) **The Wiley Encyclopedia of Packaging Technology**. Wiley, 1997.

DITCHFIELD, C. **Estudo dos métodos para a medida da atividade de água**. Orientador: Masazi Maeda. 2000. 146 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, Serviço de Pós-Graduação da Escola Politécnica da USP, São Paulo, 2000.

DUBUGRAS, M. T. B.; PÉREZ-GUTIÉRREZ, E. **Perspectiva sobre a análise de risco na segurança dos alimentos: curso de sensibilização**. Rio de Janeiro: Área de Vigilância Sanitária, Prevenção e Controle de Doenças - OPAS/OMS, 2008. 160 p.

EMBRAPA: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Anuário Leite 2023**. EMBRAPA: Brasília, 2023.

ESCHWEGE, K. G.; CONRADIE, J. Redox Potentials of Ligands and Complexes - a DFT Approach. **South African Journal of Chemistry**, Durban, v. 64, p. 203-209, 2011.

FERNANDES, R. V. B.; BOTREL, D. A.; ROCHA, V. V.; ROUZA, V. R.; CAMPOS, F. M.; MENDES, F. Q. Avaliação físico-química, microbiológica e microscópica do queijo artesanal comercializado em Rio Paranaíba-MG. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 66, n. 382, p. 21-26, 2013.

FERRARI, C. K. B. Oxidação lipídica em alimentos e sistemas biológicos: mecanismos gerais e implicações nutricionais e patológicas. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 11, n. 1, p. 3-14, jan./jun. 1998.

FONSECA, S. H. et al. **Fatores relacionados à maturação de queijos artesanais que apresentam efeitos deletérios sobre microrganismos patôgenicos – uma revisão**. Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, v. 77, n. 4, p. 227-238, 2022

FOOD INGREDIENTS Brasil. Rancidez Oxidativa: os tipos e os efeitos da rancidez oxidativa em alimentos. **Food Ingredients Brasil**, n. 29, p. 38-45, 2014.

FRANCO, B. D. G; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. Rio de Janeiro: Atheneu, 2004. 182 p.

GARCIA-TORCHELSEN, L. **Caracterização do Estoque de Anchoita (*Engraulis anchoita*) da Região Sul do Brasil e Utilização desta Matéria-prima na Elaboração de Produto de Alto Valor Agregado**. Orientadora: Maria Isabel Queiroz. 2011. 176 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Rio Grande, 2011.

GHAFIR, Y. *et al***. Hygiene Indicator Microorganisms for Selected Pathogens on Beef, Pork, and Poultry Meats in Belgium**. Journal of Food Protection, v. 71, n. 1, p. 35-45, 2008.

GILLESPIE, D. T. Stochastic Simulation of Chemical Kinetics. **Annual Review of Physical Chemistry**, n. 58, p. 35-55, 2007.

GIMÉNEZ, A.; ARES, F.; ARES, G. Sensory shelf-life estimation: A review of current methodological approaches. **Food Research International**, v. 12, n. 1, p. 311-325, 2012.

GUINEE, T. P.; KILCAWLEY, K. N. **Cheese as an ingredient**. In: Cheese: Chemistry, physics and microbiology. London: Elsevier/Academic Press, 2004. p. 395-428.

GUAN, N.; LIU, L. Microbial response to acid stress: mechanisms and applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 104, p. 51-65, 2020.

HOFFMANN, F. L. Fatores limitantes à proliferação de microorganismos em alimentos. **Brasil Alimentos**, n. 9, 2001.

HOUGH, G.; GARITTA, L.; GÓMEZ, G. Sensory shelf-life predictions by survival analysis accelerated storage models. **Food Quality and Preference**, v. 17, n. 6, p. 468-473, set. 2006.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. ZENEBON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. (Org.). São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

ITO, D. Conceitos básicos sobre embalagens com atmosfera modificada. Boletim de **Tecnologia e Desenvolvimento de Embalagens**, v. 33, n. 2, 2021

JAHN, R. C.; GARCIA, M. V.; COPETTI, M. V. Deterioração fúngica em indústria de queijo tipo tropical. **Brazilian Journal of Food Research**, Campo Mourão, v. 8, n. 1, p. 16-25, jan./mar. 2017.

JALILZADEH, A.; TUNCTURK, Y.; HESARI, J. Extension Shelf Life of Cheese: A Review. **International Journal of Dairy Science**, v. 10, n. 2, p. 44-60, 2015.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**, 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711p.

JORGE, N. **Embalagens para alimentos**. Cultura Acadêmica: São Paulo, 2013.

JUSTUS, A.; FERRARI, L. M. B.; RODRIGUES, L. R.; FERREIRA, M. L.; PINTO, S. M.; ABREU, L. R. Caracterização física e química de queijos parmesão ralados comercializados na Região Sul de Minas Gerais. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 66, n. 379, p. 16-24, 2011.

KIRK, R. S.; SAWYER, R. **Pearson's composition and analysis of foods**. 9. ed. Londres: Longman Scientific and Technical, 1991.

LAURINDO, J. **Teor de natamicina, caracterização físico-química, perfil de ácidos graxos e índices de qualidade lipídica em queijo azul e tipo gorgonzola**. 2017. 100 p. Orientador: Ivane Benedetti Tonial. Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Mestrado Profissional em Tecnologia de Alimentos, Londrina, 2017.

LEITE, J. N.; OLIVEIRA, T. S.; NARITA, I. M. P.; LANZARIN, M.; RITTER, D. O. Análise microbiológica de queijo curado ralado comercializado no mercado do porto no município de Cuiabá-MT. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n. 3, p. 10448-10460, 2020.

LÓPEZ-PINO, J. I. et al. Predicción de la resistencia térmica de *Escherichia coli* O157: H7 en carne molida de res en función de la temperatura y las concentraciones de carvacrol y grasa. **Biotecnia**, v. 23, n. 2, p. 47-54, 2021.

MACHADO, V. P. O. **Fatores que interferem no crescimento do número de microrganismos – Segurança Alimentar e Nutricional**. São Paulo: 1997.

MALDONADO, A. G.; MENICI, A. P.; BALIAN, S. C.; TELLES, E. O. Avaliação higiênico-sanitária de amostras de queijo parmesão ralado do município de São Paulo, SP. **Higiene Alimentar**, v. 20, n. 141, 2006.

MARCONDES, C. Polímeros e aplicações em embalagens. In: CAMILO, A. N. (Org). **Embalagens: Design, materiais, processos, máquinas e sustentabilidade**. Barueri: Instituto de Embalagens, 2011. p. 124-131.

MARMENTINI, R. P.; RONQUI, L.; ALVARENGA, V. A. A importância das boas práticas de manipulação para os estabelecimentos que manipulam alimentos. **Revista Facimed**, v. 40, n. 8, p. 263-273, 2015.

MARTINS, C. S. F. **Filme ativo com extrato de chá verde na preservação de alimentos suscetíveis à oxidação lipídica**. Orientador: Fernando Ramos. 2018. 142 p. Dissertação (Mestrado), Universidade de Coimbra, Faculdade de Farmácia, Coimbra, 2018.

MARTINS, G. A. S. **Determinação da vida-de-prateleira por testes acelerados de doce em massa de banana c.v. Prata**. Orientadora: Fabiana Queiroz Ferrua. 2009. 92 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

MARTINS, J.M. **Características físico-químicas e microbiológicas durante a maturação do queijo Minas artesanal da Região do Serro**. 2006. 158f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006

MAN, C. M. D. Shelf Life testing. *In:* STEELE, R. (Org.). **UNDERSTANDING and measuring the shelf-life of food**. Washington: Woodhead Publishing Limited, 2004. p. 340-354.

MENEGOL, M. V.; DORNELLES, S.; BAIRROS, F.; BRANCO, C. S.; FACCO, E. M. P. Rancidez hidrolítica e oxidativa em queijos da serra gaúcha e sua relação com parâmetros nutricionais e microbiológicos. **Disciplinarum Scientia**. Série: Ciências da Saúde, Santa Maria, v. 21, n. 1, p. 199-211, 2020.

METER GROUP. **Aqualab PRE Dewpoint**. 2023. Disponível em: https://metergroup.com.br/aqualab/produtos/aqualab-pre-dew/. Acesso em: 4 nov. 2023.

MICROSOFT. **Microsoft® Excel® para Microsoft 365 MSO**. Versão 2310 Build 16.0.16924.20124 64 bits. 31 out. 2023.

MONTEIRO, P. L. **Estudo de caso na indústria de queijos ralados**: avaliação de parâmetros de qualidade em matérias-primas e produto final. 2021. 46 p. Orientador: Alessandro de Oliveira Rios. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre, 2021.

MOURA, S. C. S. R.; BERBARI, S. A.; GERMER, S. P. M.; ALMEIDA, M. E. M.; FEFIM, D. A. Determinação da vida-de-prateleira de maçã-passa por testes acelerados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 141-148, 2007.

MPI. Ministério para Indústrias Primárias (Nova Zelândia). **How to determine the shelf life of food - guidance document**, p. 1-43, jun. 2016.

NICOSIA, C.; FAVA, P.; PULVIRENTI, A.; ANTONELLI, A.; LICCIARDELLO, F. Domestic Use Simulation and Secondary Shelf Life Assessment of Industrial *Pesto alla genovese*. **Foods**, v. 10, n. 8, aug. 2021.

OLIVEIRA, L. M. A.; ANJOS. L. M. J.; SOUZA, P. R. R.; BRUMANO, L. P.; BESSA, M. E.; PINTO, M. A. O. Avaliação da qualidade de queijos ralados para proteção à

saúde pública. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 67, n. 384, p. 41-47, 2012.

OLIVEIRA, S. P. P. et al. Queijo minas artesanal do Serro: maturação e segurança alimentar. In: BENEVENUTO, W. C. A. N. et al. (Org.). **Contribuições para a área de alimentos:** experiências do Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos, campus Rio Pomba. Vol. 2. Rio Pomba: IF Sudeste MG, 2020. p. 72-105.

OTTAWAY, P. B. The stability of vitamins in fortified foods and supplements. In: **Food Fortification and Supplementation**. OTTAWAY, P. B. (Org.). CRC Press, 2008. ISBN 9781420072013.

PHIMOLSIRIPOL, Y.; SUPPAKUL, P. **Techniques in Shelf Life Evaluation of Food Products**. Elsevier: Reference Module in Food Science, 2016

PICANÇO, Y. S.; OLIVEIRA, S. S.; ALMEIDA, M.; OTANI, F. S.; PEREIRA, E. J.; SANTOS, G. C. Análise de atividade de água e umidade na qualidade do mel produzido em comunidades da Reserva Extrativista Tapajós-Arapiuns, Santarém, Pará. **Agroecossistemas**, v. 10, n. 2, p. 1-10, 2018.

PIETA, L. **Investigação da presença de Listeria spp. e Listeria monocytogenes em equipamentos e utensílios de indústrias de laticínios**. Orientador: Eduardo Cesar Tondo. 2010. 35 p. Monografia (Graduação em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

PIMENTEL, E. F.; DIAS, R. S.; RIBEIRO-CUNHA, M.; GLÓRIA, M. B. A. Avaliação da rotulagem e da qualidade físico-química e microbiológica de queijo ralado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 3, p. 289-294, dez. 2002.

PINTO, J. V. **Elaboração de manual prático para determinação de vida-de-prateleira de produtos alimentícios**. Orientador: Patricia da Silva Malheiros. 2015. 66 p. Monografia (Graduação em Engenharia de Alimentos), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Curso de Engenharia de Alimentos, Porto Alegre, 2015.

RIBEIRO, J. C. B. et al. **Qualidade físico-química e microbiológica do queijo Parmesão ralado comercializado em Ponta Grossa, Paraná.** Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Jul/Ago, nº 387, pp. 21-29, 2012.

ROCHA, T. S.; CARNEIRO, A. P. A.; FRANCO, C. M. L. Effect of enzymatic hydrolysis on some physicochemical properties of root and tuber granular starches. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 30, n. 2, p. 544-551, abr./jun. 2010.

SACRAMENTO, V. M.; VELOSO, P. H. F.; ROYO, V. A.; ABREU, N. S.; SOUTO, K. S. F.; MELO JR., A. F.. **Métodos para determinação de capacidade antioxidante**. Ponta Grossa: Atena, 2023. 61 p. ISBN 9786525809076.

SALAVESSA, J. J. S. M. **Salsicharia tradicional da zona do Pinha**l: caracterização e melhoramento da tecnologia de fabrico dos Maranhos. Orientador: António

Salvador Ferreira Henriques Barreto. 2009. 299 p. Dissertação (Doutorado) - Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, 2009.

SANGALETTI, N.; PORTO, E.; BRAZACA, S. G. C.; YAGASAKI, C. A.; DALLA DEA, R. C.; SILVA, M, V. Estudo da vida útil de queijo Minas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 2, p. 262-269, 2009.

SCHNEIDER, D. et al. Determinação de vida-de-prateleira de produtos alimentícios. In: AGROTEC – Simpósio de Agronomia e Tecnologias, 5, 2018, Chapecó. **Anais [...]**, Chapecó, SC, 2018, 6 p.

SCHROEDER, G. F.; GAGLIOSTRO, G. A.; BARGO, F.; DELAHOY, J. E.; MULLER, L. D. Effects of fat supplementation on milk production and composition by dairy cows on pasture: a review. **Livestock Production Science**, Londres, v. 86, p. 1-18, 2004.

SOARES, D. J.; TAVARES, T. M.; Brasil, I. M.; FIGUEIREDO, R. W.; SOUSA, P. H. M. Processos oxidativos na fração lipídica de alimentos. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 30, n. 2, 2012.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 22, n. 1, 1999

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. Editora Blucher, 2017. 536 P. ISBN 9788521212263.

SOBRAL, D.; COSTA, R. G. B.; PAULA, J. C. J.; TEODORO, V. A. M.; MOREIRA, G. 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, 2017.

SOFOS, J.; BUSTA, F. Sorbic acid and sorbates. In: DAVIDSON, P.; SOFOS, J. N.; BRANEN, A. **Antimicrobials in foods**. Idaho: Marcel Dekker, 1993. p. 49-94.

SOROKA, W. **Fundamentals of Packaging Technology**. Institute of Packaging Professionals, 1995. p. 11-21.

TAO, T. et al. **Investigation on prevalence of Listeria spp. and Listeria monocytogenes in animal-derived foods by multiplex PCR assay targeting novel genes**. Food Control, [S.L.], v. 73, p. 704-711, mar. 2017.

TERRA, N. N.; CICHOSKI, A. J.; FREITAS, R. J. S. Valores de nitrito e TBARS durante o processamento e armazenamento da paleta suína curada, maturada e fermentada. **Revista Ciência Rural**, v. 36, n. 3, p. 965-970, 2006.

TORRES, F. P. S.; GONÇALVES, E. V.; LOPES, M. O.; GALVÃO, J. A. Análise microbiológica das mãos de manipuladores de alimentos em supermercados. **Revista Higiene Alimentar**, v. 34, n. 291, 2020.

TORRES, E. A. F. S.; OKANI, E. T. Teste de TBA: Ranço em alimentos. **Revista Nacional da Carne**, n. 243, p. 68-76, 1997.

TORRIERI, E. Storage Stability: Shelf Life Testing. In: CABALLERO, B.; FINGLAS, P. M.; TOLDRÁ, F. (Org.). **Encyclopedia of Food and Health**. p. 188-192. Elsevier Ltda, 2016.

TROMBETE, F. M. **Avaliação da qualidade e pesquisa de aflatoxina M1 em queijo parmesão ralado**. Orientador: Marcelo Elias Fraga. 2012. 46 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Seropédica, 2012.

TROMBETE, F. M.; FRAGA, M. E.; SALDANHA, T. Avaliação da qualidade química e microbiológica de queijo parmesão ralado comercializado no Rio de Janeiro. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 67, n. 385, p. 11-16, 2012.

VARZAKAS, T.; TSAROUHAS, P. Advances in Food Processing (Food Preservation, Food Safety, Quality and Manufacturing Processes. **Applied Sciences**, v. 11, n. 12, jun. 2021.

WENJIAO, F.; YONGKUI, Z.; YUNCHUAN, C.; JUNXIU, S.; YUWEN, Y. TBARS predictive models of pork sausages stored at different temperatures. **Meat Science**, n. 96, p. 1-4, 2014.

WIBOWO, S.; GRAUWET, T.; SANTIAGO, J. S.; TOMIC, J.; VERVOORT, L.; HENDRICKX, M.; VAN LOEY, A. Quality changes of pasteurized orange juice during storage: A kinetic study of specific parameters ant their relation to colour instability. Food Chemistry, v. 187, p. 140-151, 2015.

WOLFSCHOON-POMBO, A. L.; LIMA, A. Extensão e profundidade da proteólise em queijo minas frescal. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 44, n. 261-266, p. 50-52, 1989.

WOODROOF, J. G.; LUH, B. S. **Commercial Fruit Processing**. 2ª ed. Westport: AVI, 1986, 678 p.

YAM, K. L.; PAPADAKIS, S. E. A simple digital imaging method for measuring and analyzing color of food surfaces. **Journal of Food Engineering**, v. 61, n. 1, p. 137-142, 2004.

YOON, K.; TRAN, T. V. Revisiting the relationship between consumer loyalty and price sensitivity: the moderating role of deal-proneness. **The Journal of Marketing Theory and Practice**, v. 19, n. 3, p.293-306, dez. 2011.