



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
DOUTORADO EM CIÊNCIA ANIMAL

MANUELLA DE OLIVEIRA CABRAL ROCHA LINHARES

**DETECÇÃO DE FRAUDES EM QUEIJO DE MANTEIGA E EM MANTEIGA DE
GARRAFA DO RIO GRANDE DO NORTE**

MOSSORÓ-RN

2020

MANUELLA DE OLIVEIRA CABRAL ROCHA LINHARES

**DETECÇÃO DE FRAUDES EM QUEIJO DE MANTEIGA E EM MANTEIGA DE
GARRAFA DO RIO GRANDE DO NORTE**

Tese apresentada ao Doutorado em Ciência Animal do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Inspeção de Produtos de Origem Animal.

Orientador: Prof. Dr. Jean Berg Ales da Silva.

Coorientador: Prof. Dr. Francisco Felipe Maia da Silva.

MOSSORÓ-RN

2020

©Todos os direitos estão reservados à Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996, e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata, exceto as pesquisas que estejam vinculadas ao processo de patenteamento. Esta investigação será base literária para novas pesquisas, desde que a obra e sua respectiva autora seja devidamente citada e mencionada os seus créditos bibliográficos.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central Orlando Teixeira (BCOT)
Setor de Informação e Referência (SIR)

Ld Linhares, Manuella de Oliveira Cabral Rocha.
DETECÇÃO DE FRAUDES EM QUEIJO DE MANTEIGA E EM
MANTEIGA DE GARRAFA DO RIO GRANDE DO NORTE /
Manuella de Oliveira Cabral Rocha Linhares. -
2020.
69 f. : il.

Orientador: Jean Berg Alves da Silva.
Coorientador: Francisco Felipe Maia da Silva.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural
do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
Ciência Animal, 2020.

1. óleo vegetal. 2. queijo artesanal. 3.
gordura suína. 4. adulteração. 5. manteiga da
terra. I. Alves da Silva, Jean Berg, orient. II.
Maia da Silva, Francisco Felipe, co-orient. III.
Título.

Bibliotecário-Documentalista
Nome do profissional, Bib. Me. (CRB-15/10.000)

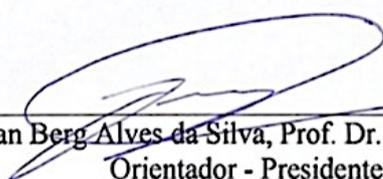
MANUELLA DE OLIVEIRA CABRAL ROCHA LINHARES

**DETECÇÃO DE FRAUDES EM QUEIJO DE MANTEIGA E EM MANTEIGA DE
GARRAFA DO RIO GRANDE DO NORTE**

Tese apresentada ao Doutorado em Ciência Animal do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Inspeção de Produtos de Origem Animal.

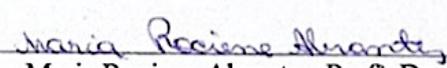
Defendida em: 27 / 02 / 2020



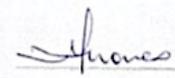
Jean Berg Alves da Silva, Prof. Dr. (UFERSA)
Orientador - Presidente



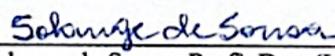
Patrícia da Cunha Sousa, Prof^a. Dra. (UNAMA)
Membro examinador externo (videoconferência)



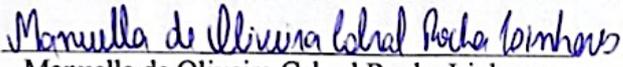
Maria Rociene Abrantes, Prof^a. Dra. (CISNE)
Membro examinador externo



Moacir Franco de Oliveira, Prof. Dr. (UFERSA)
Membro examinador interno



Solange de Sousa, Prof^a. Dra. (UFPB)
Membro examinador externo



Manuella de Oliveira Cabral Rocha Linhares
Discente

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

MANUELLA DE OLIVEIRA CABRAL ROCHA LINHARES, nasceu no município de Mossoró- RN, no dia 29 de outubro de 1987, filha de Manoel Dantas Ferreira da Rocha Neto e Francisca Lirete de Oliveira Dantas Rocha. Concluiu o ensino fundamental no Colégio Sagrado Coração de Maria em Mossoró-RN, e o ensino médio no Colégio Farias Brito em Fortaleza-CE. Graduou-se em Medicina Veterinária pela Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) no ano de 2010, onde foi bolsista de iniciação científica. Em 2011 ingressou no mestrado no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal pela mesma instituição, e em 2013 o concluiu. Em 2012 iniciou o trabalho como professora substituta da Universidade Estadual do Ceará no curso de Ciências Biológicas, onde permaneceu até 2016. Em 2016 iniciou o doutorado na UFERSA, no mesmo programa do mestrado, sob orientação do professor Dr. Jean Berg Alves da Silva e o Coorientador professor Dr. Francisco Felipe Maia da Silva do Instituto Federal do Rio Grande do Norte (IFRN), Campus Apodi.

*A minha família por todo
amor e por sempre estar
comigo em qualquer
situação da minha vida.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me dar forças para continuar e ter fé de que o caminho da honestidade sempre valerá a pena.

Agradeço aos meus pais Rocha e Lirete pela luta incessante em me fazer feliz, apoiar meus projetos, sonhar comigo e estar sempre presente em minha vida em qualquer circunstância. Vocês são meus exemplos a serem seguidos. Amo vocês.

Agradeço ao meu esposo Victor por ter entrado em minha vida, trazendo leveza e amor para meus dias. Você foi fundamental para eu ter conseguido me concentrar, terminar minha tese e me fazer querer ir além. Teve sabedoria para entender e principalmente apoiar esse projeto. Amo você.

Agradeço ao meu Orientador Jean Berg que desde minha graduação acreditou em meu trabalho e fizemos uma parceria cheia de harmonia, respeito, aprendizado e admiração ao longo desses 13 anos. Você é um professor e pesquisador bastante humano e capaz de entender o que queremos para nossas vidas, eu não poderia ter um orientador melhor que você.

Agradeço ao meu Coorientador Felipe Maia, por toda paciência para me ajudar a entender e desenvolver esse trabalho, além da disposição em me ajudar nos mínimos detalhes.

Agradeço a Banca Examinadora e aos membros suplentes pela presença e poder compartilhar com suas sugestões para melhoria do trabalho.

Agradeço as minhas amigas (Adriene, Patrícia e Wanessa) que mesmo estando distantes estão sempre presentes compartilhando o dia a dia.

Agradeço a equipe LIPOA (Rociene, Keliane, Andrezza, Jovilma, Carol, Carla, Gabi e Lara) por me ajudar a desenvolver esse projeto ao longo desses quatro anos. Nossa equipe sempre harmoniosa e cheia das boas risadas essenciais para tornar o trabalho mais leve.

Agradeço a CAPES pelo financiamento desse projeto junto a UFERSA e ao IFRN.

Muito obrigada!

Superação

Sendo eu, um aprendiz
A vida já me ensinou que besta
É quem vive triste
Lembrando o que faltou

Magoando a cicatriz
E esquece de ser feliz
Por tudo que conquistou

Afinal, nem toda lágrima é dor
Nem toda graça é sorriso
Nem toda curva da vida
Tem uma placa de aviso
E nem sempre o que você perde
É de fato um prejuízo

O meu ou o seu caminho
Não são muito diferentes
Tem espinho, pedra, buraco
Pra não atrasar a gente

Mas não desanime por nada
Pois até uma topada
Empurra você pra frente

Tantas vezes parece que é o fim
Mas no fundo, é só um recomeço
Afinal, pra poder se levantar
É preciso sofrer algum tropeço

É a vida insistindo em nos cobrar
Uma conta difícil de pagar
Quase sempre, por ter um alto preço

Acredite no poder da palavra desistir
Tire o D, coloque o R
Que você tem Resistir

Uma pequena mudança
Às vezes traz esperança
E faz a gente seguir

Continue sendo forte
Tenha fé no Criador
Fé também em você mesmo
Não tenha medo da dor

Siga em frente a caminhada
E saiba que a cruz mais pesada
O filho de Deus carregou

Bráulio Bessa

DETECÇÃO DE FRAUDES EM QUEIJO DE MANTEIGA E EM MANTEIGA DE GARRAFA DO RIO GRANDE DO NORTE

RESUMO

O queijo de manteiga e a manteiga de garrafa são produtos tradicionais e muito consumidos no Nordeste do Brasil. Além disso, têm muita relevância para o crescimento socioeconômico da região. A maioria desses produtos são fabricados artesanalmente, por pequenos produtores, que podem realizar práticas inadequadas de higiene e adição de ingredientes não permitidos pela legislação. Assim, objetivou-se avaliar a qualidade microbiológica, físico-química e detecção de possíveis fraudes em queijos de manteiga e em manteigas de garrafa comercializados no Rio Grande do Norte. Para isso, foram adquiridas 30 amostras de queijos de manteiga e 30 de manteigas de garrafa em supermercados, queijeiras, padarias, feiras livres e em rodovias do Rio Grande do Norte. As amostras foram submetidas as análises microbiológicas (Coliformes a 35 e 45 °C, Estafilococos coagulase positiva e *Salmonella* spp.), físico-químicas (umidade, gordura, pH, cloretos, acidez), teste do Lugol (só para queijos) e o perfil dos ácidos graxos em cromatografia gasosa. Observou-se que 87% e 33% das amostras de queijo e manteiga de garrafa, respectivamente, apresentaram contagens elevadas para Estafilococos coagulase positiva. Apenas uma amostra de queijo apresentou presença para *Salmonella* spp. Nos queijos foram obtidos resultados médios para umidade de 43,79%, gordura 26,70%, pH 4,81, cloretos 8,07% e acidez 1,53%. Para as manteigas foram obtidos resultados médios para umidade de 0,28%, gordura 98,38%, sólidos não gordurosos 1,34%, pH 4,65, cloretos 0,05%, sólidos totais 99,70% e acidez 0,26%. Foram detectadas a presença do amido em 6 (20%) das amostras de queijos. Para o perfil dos ácidos graxos observou-se que 83% dos queijos e 50% das manteigas apresentaram percentual de ácido linoleico acima de 3% que é a média encontrada no leite. Assim, conclui-se que os queijos de manteiga e as manteigas de garrafa apresentaram qualidade microbiológica indesejável, bem como a detecção de fraudes por adição de amido e por substituição de gordura animal láctea por óleo vegetal, considerando a elevada porcentagem de ácido linoleico encontrada nas amostras.

Palavras-chave: Adulteração, óleo vegetal, queijo artesanal, gordura suína, amido, manteiga da terra, cromatografia gasosa.

FRAUD DETECTION IN BUTTER CHEESE AND BOTTLE BUTTER FROM RIO GRANDE DO NORTE

ABSTRACT

Butter cheese and bottle butter are traditional products and widely consumed in Northeast Brazil. In addition, they have great relevance to the socioeconomic growth of the region. Most of these products are handcrafted by small producers in which inadequate hygiene practices and the addition of ingredients not permitted by law can be carried out. Thus, the objective was to evaluate the microbiological physico-chemical quality and the detection of possible fraud in butter cheeses and bottle butters sold in Rio Grande do Norte. For that, 30 samples of butter cheeses and 30 of bottle butters were acquired in cheese supermarkets, bakeries, street markets and on highways in Rio Grande do Norte. The samples were subjected to microbiological analyzes (Coliforms at 35 and 45 °C Staphylococcus coagulase positive and Salmonella spp.) Physical-chemical (moisture fat pH chlorides acidity) Lugol test (only for cheese) and the fatty acid profile in gas chromatography. It was observed that 87% and 33% of the cheese and bottle butter samples, respectively, presented high counts for positive coagulase Staphylococcus. Only one cheese sample was present for Salmonella spp. In cheeses, average results were obtained for moisture of 43.79% fat 26.70% pH 4.81 chlorides 8.07% and acidity 1.53%. For butter, average results were obtained for moisture of 0.28% fat 98.38% non-greasy solids 1.34% pH 4.65 chlorides 0.05% total solids 99.70% and acidity 0.26%. The presence of starch was detected in 6 (20%) of the cheese samples. For the fatty acid profile, it was observed that 83% of the cheeses and 50% of the butters had a percentage of linoleic acid above 3%, which is the average found in milk. Thus, it can be concluded that butter cheeses and bottle butters showed undesirable microbiological quality as well as the detection of fraud by adding starch and replacing milk animal fat with vegetable oil considering the high percentage of linoleic acid found in the samples.

Keywords: Adulteration. vegetable oil. artisanal cheese. Swine. Starch. earth butter. gas chromatography.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	–	Fluxograma do processamento da manteiga de garrafa.....	55
----------	---	---	----

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II- ANÁLISE DO PERFIL MICROBIOLÓGICO, FÍSICO-QUÍMICO E DOS ÁCIDOS GRAXOS EM QUEIJOS DE MANTEIGA

Tabela 1	– Resultados microbiológicos de queijos de manteiga comercializados no Rio Grande do Norte, Brasil, 2019.....	38
Tabela 2	– Análises físico-químicas dos queijos de manteiga pesquisados no Rio Grande do Norte. Resultados expressos em frequências absolutas, relativas e em médias.....	41
Tabela 3	– Perfil dos ácidos graxos (em % de área) de queijo de manteiga: valores percentuais mínimo, máximo e média.....	44

CAPÍTULO III- QUALIDADE MICROBIOLÓGICA, FÍSICO-QUÍMICA E PERFIL DOS ÁCIDOS GRAXOS EM MANTEIGAS DE GARRAFA

Tabela 1	– Perfil microbiológico de manteigas de garrafa comercializadas no Rio Grande do Norte.....	57
Tabela 2	– Análises físico-químicas das manteigas de garrafa pesquisadas no Rio Grande do Norte. Resultados expressos em frequências absolutas, relativas e em médias.....	59
Tabela 3	– Perfil dos ácidos graxos (em % de área) da manteiga de garrafa pura comparada com as amostras de manteigas de garrafa comercializadas no Rio Grande do Norte, Brasil, 2019.....	62
Tabela 4	– Perfil de ácidos graxos insaturados (em % de área) das amostras de manteiga de garrafa pesquisadas.....	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG	Ácido graxo
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
C:	Carbono
Dr	Doutor
g	Gramas
GC	Gás chromatography
IN	Instrução Normativa
L	Litro
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
MG	Minas Gerais
mg	Miligrama
min	Minutos
mm	Milímetro
mL	Mililitro
n°	Número
pH	Potencial hidrogeniônico
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
seg	Segundos
UFC/g	Unidade Formadora de Colônia/ gramas
UFC/ml	Unidade Formadora de Colônia/ mililitros
µm	Microlitro

LISTA DE SÍMBOLOS

@	Arroba
®	Marca registrada
%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
~	Aproximado
<	Menor
>	Maior
μ	Micro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 OBJETIVOS	18
2.1 OBJETIVO GERAL.....	18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3 CAPÍTULO I - REFERENCIAL TEÓRICO	19
3.1 QUEIJO DE MANTEIGA.....	19
3.2 MANTEIGA DE GARRAFA	20
3.3 PRINCIPAIS FRAUDES ENCONTRADAS NO QUEIJO DE MANTEIGA E NA MANTEIGA DE GARRAFA.....	22
3.4 ÁCIDOS GRAXOS.....	24
3.5 CROMATOGRAFIA GASOSA	26
REFERÊNCIAS	27
4 CAPÍTULO II - ANÁLISE DO PERFIL MICROBIOLÓGICO, FÍSICO-QUÍMICO E DOS ÁCIDOS GRAXOS EM QUEIJOS DE MANTEIGA	33
4.1 INTRODUÇÃO.....	33
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	34
4.2.1 Amostragem	34
4.2.2 Análises microbiológicas	35
4.2.3 Análises físico-químicas	35
4.2.4 Extração da gordura e dos ésteres metílicos, identificação e quantificação dos ácidos graxos no queijo de manteiga	35
4.2.5 Análise de dados	36
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
4.3.1 Microbiológico	36
4.3.2 Físico-químico	39
4.3.3 Perfil dos ácidos graxos	42
4.4 CONCLUSÃO.....	45
REFERÊNCIAS	45
5 CAPÍTULO III - QUALIDADE MICROBIOLÓGICA, FÍSICO-QUÍMICA E PERFIL DOS ÁCIDOS GRAXOS EM MANTEIGAS DE GARRAFA	52
5.1 INTRODUÇÃO.....	52
5.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	53
5.2.1 Amostragem	53

5.2.2	Produção da manteiga de garrafa	54
5.2.3	Análises microbiológicas	54
5.2.4	Análises físico-químicas.....	55
5.2.5	Identificação e quantificação dos ácidos graxos na manteiga de garrafa.....	55
5.2.6	Análise de dados.....	56
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
5.3.1	Microbiológico.....	56
5.3.2	Físico-químico	58
5.3.3	Perfil dos ácidos graxos	60
5.4	CONCLUSÃO.....	65
REFERÊNCIAS	65

1 INTRODUÇÃO

O queijo de manteiga e a manteiga de garrafa são produtos típicos da região Nordeste do Brasil. São alimentos que possuem aceitação regional considerável sendo comercializados em queijeiras, feiras livres, supermercados, padarias e as margens de rodovias. São produtos que além de dar maior aproveitamento ao leite, contribuem fortemente para o crescimento do agronegócio do Rio Grande do Norte gerando emprego e renda para o estado (AMBRÓSIO et al., 2001; VAZ, 2015).

Com o aumento da produção desses produtos e sua comercialização ultrapassando as fronteiras entre os estados, o Governo do Estado do Rio Grande do Norte implantou a Lei nº 10.230/2017 (Lei Nivardo Mello) que dispõe sobre a produção e a comercialização de queijos e manteiga artesanais do Rio Grande do Norte (RIO GRANDE DO NORTE, 2017), porém é necessária a intensificação da fiscalização e da transmissão do conhecimento sobre os riscos de contaminação alimentar e possíveis fraudes nesses produtos, pois além de existir falhas de higiene durante fases do processo de fabricação, também podem ser observadas adulterações por adição ou substituição de ingredientes indesejáveis ao produto.

O queijo de manteiga é o derivado lácteo produzido em maior volume no estado e sua fabricação normalmente ocorre de forma artesanal, a partir da manteiga de garrafa, por isso apresenta dificuldade em sua caracterização. Essa falta de padronização do processo de fabricação, o qual é na maioria das vezes, passado de forma empírica às gerações, em que vão modificando técnicas e incorporando ingredientes, os quais, em geral não são adequados ao produto, podendo então causar sua descaracterização (AMBRÓSIO et al., 2001; VAZ, 2015; LEITE, 2018).

A descaracterização do produto facilita ações de fraudes que começam desde a manteiga de garrafa adulterada utilizada para fabricação do queijo até a adição de ingredientes, como o amido usado para aumentar o volume e espessamento do leite (EVANGELISTA, 1989).

Atualmente, os consumidores estão cada vez mais preocupados com o consumo consciente e estão procurando alimentos que atendam não somente aos requisitos do ponto de vista higiênico sanitário e de sabor, mas também o seu valor nutritivo e sua legitimidade (LEITE, 2018).

Diante disso, para determinar a legitimidade da manteiga de garrafa e do queijo de manteiga, o objetivou-se determinar o perfil de ácidos graxos para a caracterização química dos óleos e gorduras presentes nesses produtos através do uso da cromatografia gasosa.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Detectar fraudes em queijo de manteiga e em manteiga de garrafa comercializados no Rio Grande do Norte, por meio da análise do perfil de ácidos graxos por cromatografia gasosa.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a qualidade microbiológica do queijo de manteiga e da manteiga de garrafa;
- Analisar os parâmetros físico-químicos do queijo de manteiga e da manteiga de garrafa;
- Identificar fraude por adição de amido no queijo de manteiga;
- Analisar o perfil de ácidos graxos do queijo de manteiga e da manteiga de garrafa através de cromatografia gasosa com espectrometria de massa visando identificar a ocorrência de fraude pela substituição de gordura animal de origem láctea por óleo vegetal.

3 CAPÍTULO I - REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 QUEIJO DE MANTEIGA

O queijo é um derivado lácteo concentrado, gorduroso, proteico e de elevado valor nutritivo. É constituído de quantidade elevada de proteínas, cálcio, fósforo e vitaminas A e D, sendo um derivado do leite mais antigo que se conhece (LAVASANI et al., 2011). Não se sabe ao certo a origem do queijo, porém na literatura especula-se que tenha sido desde a mitologia grega e dali em diante houve aprimoramento na fabricação desse produto (MARTINS, 2018).

A fabricação do queijo de manteiga surgiu no período da colonização dos sertões, quando se viu a necessidade de conservar o leite excedente. Embora tenha sofrido influências de outras culturas, pode-se considerar como sendo um produto genuinamente brasileiro, mais especificamente da região Nordeste do Brasil (VENTURA, 1987; LEITE, 2018).

Segundo Silva (2008), o queijo de manteiga é o principal produto fabricado na região do Seridó no estado do Rio Grande do Norte, seguido pelo queijo de coalho. A fabricação e a comercialização desses produtos são muito importantes para o crescimento da economia da região, apesar das dificuldades e limitações encontradas pelos produtores, pois representa uma importante fonte de renda, além de inculcar tradição e fama à região (AZEVEDO, 2005).

Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo de Manteiga, entende-se por queijo de manteiga, o produto obtido mediante coagulação do leite com emprego de ácidos orgânicos de grau alimentício, cuja massa é submetida à dessoragem, lavagem e fusão, com acréscimo exclusivamente de manteiga de garrafa ou manteiga da terra ou manteiga do sertão (BRASIL, 2001). Sua peculiaridade principal é o fato de que, em sua tecnologia de fabricação, fundem-se a proteína e a gordura por meio do calor, quando se destroem por completo a estrutura original do coágulo, classificando-o como um queijo de massa fundida (VAN DENDER, 2006).

Apresenta como características sensoriais, consistência macia, tendendo à untuosidade, textura fechada, semifriável, podendo conter gotículas de gordura líquida no seu interior. A cor normalmente é amarelo-palha, proveniente da manteiga de garrafa, podendo ser influenciada pelos processos tecnológicos, estação do ano, teor de gordura no leite entre outros. O sabor é pouco acentuado, lembrando a manteiga de garrafa, levemente ácido, podendo ser salgado ou não e de crosta fina, sem trincas. Contém um teor de gordura nos sólidos totais variando entre

25% e 55%, devendo apresentar um teor máximo de umidade de 54,9% (BRASIL, 2001; FAMELART et al., 2002).

De acordo com o teor de gordura no extrato seco, o queijo de manteiga pode ser classificado como “semigordo” a “gordo”, e de acordo com o teor de umidade, de “média” a “alta”, seguindo a classificação para queijos (BRASIL, 1996).

Em relação as características físico-químicas do queijo de manteiga, a falta de padronização no processamento desse produto, ocasiona grande variação nos percentuais da composição química, principalmente para umidade, gordura, gordura em base seca (GBS) e proteína. Variações atribuídas a quantidade de manteiga de garrafa adicionada no processamento desse queijo devem ser consideradas também. Quanto ao teor de sal adicionado, pH e acidez titulável, podem atingir até a 2,0%, 6,0 e 0,3%, respectivamente (JASSEN-ESCUADERO; RODRIGUEZ-AMAYA, 1981; NASSU et al., 2003).

O queijo de manteiga é produzido originalmente com leite cru, no geral, sendo fundamental uma boa qualidade microbiológica dessa matéria prima para evitar contaminação com bactérias dos gêneros *Clostridium* e *Bacillus*, que são microrganismos anaeróbios esporulados, cujos esporos não são destruídos pelo aquecimento (KOSIKOWSKI, 1951). No entanto, mesmo utilizando leite cru, o queijo de manteiga normalmente apresenta uma carga microbiana reduzida, devido à eficiência da cocção e as altas temperaturas envolvidas no seu processo de fabricação (EVANGELISTA-BARRETO et al., 2016). Porém, divergências na literatura comprovam que mesmo com a elevada temperatura que a massa do queijo é submetida, falhas de higiene durante etapas de produção possibilitam o crescimento de microrganismos patogênicos (NASSU et al., 2001).

3.2 MANTEIGA DE GARRAFA

A manteiga de garrafa é um produto típico do Nordeste brasileiro e das regiões Norte e Nordeste de Minas Gerais, sendo sua comercialização feita à temperatura ambiente em feiras livres, supermercados, padarias e as margens de estradas (AMBRÓSIO et al., 2001). É também o principal ingrediente da fabricação do queijo de manteiga, a qual é incorporada diretamente à massa láctea durante a produção do queijo, conferindo-lhe características próprias (VAZ 2015).

De acordo com Instrução Normativa nº 30 de 26 de junho de 2001, manteiga de garrafa, também conhecida como manteiga da terra ou do sertão, é um produto gorduroso, podendo apresentar-se no estado líquido ou pastoso à temperatura ambiente, obtido a partir do creme de leite (nata) mediante processo tecnológico adequado, cujo teor de lipídio deve ser de no mínimo

98,5%, no máximo 0,3% de umidade, 1% de sólidos não gordurosos e 2% de acidez (BRASIL, 2001).

A produção da manteiga é proveniente do batimento do creme do leite, gerando a manteiga, que é submetida à fusão no tacho (100 a 130 °C) até eliminação quase integral da água, formando uma “borra” ou precipitado (resíduo denso, opaco e de coloração parda que se forma com a precipitação dos sólidos não gordurosos presentes na nata). Após a filtração do precipitado o produto final é armazenado em garrafas (AMBRÓSIO et al., 2001).

O processo de fabricação desse produto continua predominantemente artesanal, mesmo havendo legislação específica, ocorrendo ausência do controle das etapas do processamento, inclusive do tempo e da temperatura utilizados para adequada fusão do produto, justificando a falta de uniformidade da manteiga de garrafa. Essas técnicas de produção persistem até hoje com pequenas variações dependendo da localidade (NASSU; LIMA, 2004).

Em relação as características sensoriais, a manteiga de garrafa apresenta coloração amarela na fase líquida, podendo apresentar coloração amarelo-esbranquiçada na fase sólida. O sabor e odor próprios, diferentes das características da manteiga tradicional, e não devem ser rançosos, nem estranhos ou desagradáveis (BRASIL, 2001). Porém, em virtude do alto teor de gordura, ausência de refrigeração na comercialização e estarem expostas à venda em embalagens de vidro ou plástico transparentes, as manteigas de garrafa são sensíveis à luz tanto natural como artificial, sendo muito vulneráveis a ocorrência de rancificação oxidativa, o que diminui a vida de prateleira e o valor nutritivo do produto. Além desses fatores, também contribuem para a o processo de rancificação oxidativa na manteiga de garrafa, o baixo teor de umidade e a presença de ácidos graxos insaturados (SILVA, et al., 1999; AMBRÓSIO et al., 2003; CLEMENTE et al., 2009).

A deterioração da manteiga pode ser de origem microbiana ou não. As alterações não microbianas se dão principalmente quando a manteiga de garrafa é exposta a luz natural ou artificial, ocorrendo alterações em suas características físico-químicas, que levam a perdas na aceitabilidade do produto (COLTRO; BURATIN, 2004).

Com relação a deterioração microbiana, a manteiga de garrafa enquadra-se nos produtos desfavoráveis ao crescimento de microrganismos, devido à constituição lipídica elevada e a baixa atividade de água. (AMBRÓSIO, 2001). Porém, a produção artesanal de alimentos muitas vezes é acompanhada da ausência de boas práticas de fabricação, necessárias para que se tenha o mínimo de contaminantes no produto final. Essa contaminação leva ao aumento no número de microrganismos presentes no alimento, podendo inclusive introduzir novas espécies. Muitas são as causas dessa contaminação como: a água de lavagem de utensílios, mãos de

manipuladores ou equipamentos. Quando esses microrganismos encontram condições favoráveis para seu crescimento, há proliferação e deterioração do alimento (CAMARGO et al., 1984).

3.3 PRINCIPAIS FRAUDES ENCONTRADAS NO QUEIJO DE MANTEIGA E NA MANTEIGA DE GARRAFA

O queijo de manteiga é o derivado lácteo que mais apresenta dificuldades em sua caracterização. Isso ocorre devido a falta de padronização do processo de fabricação, que na maioria das vezes é passado de geração em geração, em que técnicas são modificadas e incorporados novos ingredientes, os quais, em geral não são adequados ao produto, podendo então causar sua descaracterização (LEITE, 2018).

A legislação preconiza que somente o leite deverá ser utilizado como matéria prima para fabricação do queijo e da manteiga de garrafa. Portanto, a única gordura que esses produtos devem conter é a gordura do leite (BRASIL, 2001; DANKOWSKA et al., 2015). Contudo, o elevado valor da gordura do leite aliado a descaracterização do produto, facilitam ações de fraudes que começam desde a manteiga de garrafa adulterada utilizada na fabricação do queijo até a adição de ingredientes, como o amido utilizado para aumentar o volume e espessamento do leite (EVANGELISTA, 1989).

Em estudo realizado por Nassu et al. (2003) foram avaliadas as condições de processamento do queijo de manteiga no estado do Rio Grande do Norte e constataram que em alguns casos, a manteiga de garrafa era substituída por óleo de soja. Além disso, também foram encontrados queijos de manteiga adulterados com adição de amido de milho. Esse tipo de fraude por adição de espessantes é relativamente comum no queijo de manteiga, o que pode comprometer a originalidade desse produto lácteo que leva a marca Seridó, descaracterizando-o e afetando sua qualidade final (CARVALHO et al., 2011; ADESE, 2011).

Nesse contexto, entende-se por fraude ou falsificação a adição ou subtração parcial ou total de qualquer substância na composição de um produto. Sendo assim, as fraudes em alimentos se dão por alterações, adulterações e falsificações realizadas com a finalidade de obtenção de maiores lucros (TEIXEIRA et al., 2014).

A fraude por substituição da gordura láctea por gordura vegetal na manteiga de garrafa é a mais comum nesse produto. O queijo de manteiga também é afetado, pois tem como principal ingrediente a manteiga de garrafa, obtida da gordura do leite, o que encarece muito este produto (LEITE, 2018). E como este alto valor da manteiga muitas vezes não pode ser

transferido para o preço do queijo, recorre-se a fraude econômica com substituição desta por gorduras inferiores como a dos óleos vegetais e até mesmo gordura suína, já que suas características sensoriais são bem próximas.

No queijo, a adulteração sempre foi um sério problema, pois muitos produtores substituem a gordura do leite por gorduras vegetais como óleo de palma, coco, milho, soja e algodão, que muitas vezes possuem características sensoriais próximas a manteiga, porém com valor nutritivo e comercial inferiores, lesando o consumidor, o qual precisa ser protegido (VENTURA, 1987; ALMEIDA, 2008; SILVA, 2008; ALEJEWICZ et al., 2011; CARVALHO et al., 2011; VAZ, 2015; LEITE, 2018).

As gorduras do grupo de ácidos graxos oleico-linoleico são de origem vegetal e apresentam um teor menor que 20% de ácidos graxos saturados (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007). Em estudo realizado por Fonseca e Gutierrez (1974), foram verificados os percentuais do ácido graxo insaturado linoleico (18:2) presentes no óleo de soja, em gordura suína e comparados ao encontrado na manteiga. O ácido linoleico no óleo de soja se apresenta com percentual de 50,60%, para a gordura suína 12,43% e para a manteiga se apresenta em 3,0%, tornando esses percentuais importantes para detecção de fraude em queijo de manteiga e em manteiga de garrafa.

Além da fraude por substituição da gordura, o queijo de manteiga também é atingido pela adulteração por adição de amido, principalmente no estado do Rio Grande do Norte, pois é onde se encontram os maiores produtores desse queijo. A legislação determina que a adição do amido caracteriza como sendo uma fraude intencional com a finalidade de aumentar o peso ou volume do queijo visando a obtenção de lucro pelo produtor, e que além de afetar as características sensoriais e nutritivas do produto, também expõe os consumidores a um produto de qualidade inferior e duvidosa (BRASIL, 1990a; BRASIL, 2001; REISSIG, 2009; TEIXEIRA et al., 2014; MARQUES et al., 2016).

O amido é o principal tipo de reserva vegetal, além de ser considerado importante carboidrato da dieta humana, é composto de amilose e amilopectina, sendo encontrado em cereais e raízes, como o arroz, milho, trigo, batata e mandioca e em frutas (PETKOWICS, 2007). O amido não é doce, não é solúvel em água fria, e representa de 70 a 80% das calorias ingeridas na dieta humana. Eles apresentam baixo custo, grande disponibilidade e facilidade de armazenamento e manipulação. Apesar desse produto não prejudicar a saúde humana, a sua presença no queijo de manteiga representa um ato fraudulento, pois objetiva a obtenção do lucro através do aumento do peso do produto (REISSIG, 2009).

Ainda, é importante salientar que, o processo de fraude além de expor a saúde dos consumidores, constitui crime contra as relações de consumo, nos termos do artigo 7, inciso III da Lei nº 8.137/1990, segundo o qual: misturar gêneros e mercadorias de espécies diferentes, para vendê-los ou expô-los à venda como puros; misturar gêneros e mercadorias de qualidades desiguais para vendê-los ou expô-los à venda por preço estabelecido para os demais mais alto custo (BRASIL, 1990b).

Dessa forma, analisando o perfil dos ácidos graxos é possível observar a legitimidade dos produtos através dos ácidos graxos mais comuns na manteiga de garrafa pura. Clemente et al. (2009), realizaram estudo em dez diferentes marcas de manteigas de garrafa na região de Salinas-MG, em que os principais AG encontrados foram os ácidos mirístico (C14:0), palmítico (C16:0), esteárico (C18:0) e oleico (C18:1). Ambrósio et al. (2003), analisaram duas amostras de manteigas de garrafa em Recife e encontraram majoritariamente os ácidos palmítico (C16:0), oleico (C18:1), esteárico (C18:0) e mirístico (C14:0). Esse perfil de ácidos graxos da manteiga, também servem para a o queijo de manteiga, pois esses ácidos graxos são incorporados ao queijo durante sua fabricação com a utilização da manteiga de garrafa (MESQUITA, 2012).

3.4 ÁCIDOS GRAXOS

Os ácidos graxos (AG), também conhecidos como gorduras, são ácidos monocarboxílicos alifáticos, que fazem parte das moléculas de lipídios. Os lipídios são componentes importantes encontrados na maioria dos sistemas biológicos, animais, vegetais ou microbianos, exercendo função na composição e características das membranas celulares. Exercem função nutricional importante, pois são os principais fornecedores de energia na alimentação, além de serem veículos de vitaminas lipossolúveis, (A, D, E e K) e suprirem a demanda de ácidos graxos essenciais, como o ácido linoleico conjugado (C18:2, n-6), presente na gordura de ruminantes, tanto na carne como no leite e em seus derivados (GUNSTONE, 2004; ORDÓÑEZ, 2005; RIBEIRO, SERAVALLI, 2007; SHAHIDI, ZHONG, 2010). Porém, quando consumidos em excesso, especialmente as gorduras saturadas e as *trans*, têm sido associadas a inúmeras doenças e condições de saúde, como obesidade, hipertensão, doenças cardiovasculares e câncer (SHAHIDI, ZHONG, 2010).

Os lipídios podem ser classificados em lipídios compostos, formados basicamente por moléculas de glicerol e de ácidos graxos (ligados ou não a aminoálcoois) ou lipídios simples, que não produzem ácidos graxos após o processo de hidrólise (NASCIUTTI, et al., 2015). A esterificação do ácido graxo com glicerol pode dar origem a monoglicerídeos, quando formado

por apenas uma molécula de glicerol; diglicerídeos, quando formado por duas moléculas de glicerol; ou ainda triglicerídeos, quando formado por três moléculas. Os triglicerídeos são os mais abundantes em óleos e gorduras (VAZ, 2015).

Os óleos são ésteres formados a partir de AG e que se apresentam sob a forma líquida e as gorduras são ésteres formados a partir de AG e que se apresentam sob a forma sólida em temperatura ambiente (CURI et al., 2008).

Os AG compõem as moléculas de lipídios e influenciam diretamente nas suas propriedades físico-químicas e fisiológicas. Os AG saturados são encontrados na maioria dos óleos e gorduras, seja animal ou vegetal. Os AG insaturados, predominam nas plantas superiores e em animais que vivem a baixas temperaturas a exemplo dos peixes (RIBEIRO, SERAVALLI, 2007; SHAHIDI, ZHONG, 2010).

Os AG são classificados de acordo com sua forma molecular, podendo ser saturados (ausência de ligação dupla), monoinsaturados (uma ligação dupla) ou poli-insaturados (mais de uma ligação dupla) na molécula. Eles diferem em comprimento, bem como, em sua maioria possui um número par de carbonos que vão de 4-28 átomos. A cadeia é considerada curta quando contém de dois a quatro átomos de carbono; média de seis a dez átomos de carbono; longa acima de doze átomos de carbono. Os AG não ramificados são aqueles que não possuem ramificações na cadeia carbônica e representam a grande maioria das estruturas (BEERMAN et al., 2003; CURI et al., 2008; MOTTA, 2011).

Os ácidos graxos saturados são considerados como indutores do aumento dos níveis de triglicerídeos e colesterol. Já os ácidos monoinsaturados e poli-insaturados, causam diminuição desses níveis. Nutricionalmente falando, a gordura do leite ideal deveria conter 10% de ácidos graxos poli-insaturados, 8% de ácidos graxos saturados e 82% de ácidos graxos monoinsaturados. Porém, a gordura normalmente encontrada no leite apresenta 5% de ácidos graxos poli-insaturados, 70% de ácidos graxos saturados e 25% de ácidos graxos monoinsaturados (GRUMMER, 1991; MAZIER; JONES, 1997).

Além disso, a gordura do leite de ruminantes apresenta-se como exceção à grande maioria dos alimentos, pois apresenta, além dos AG de cadeia carbônica par e não ramificada, AG com cadeia carbônica com números ímpares de átomos de carbono, como o ácido pentadecanoico (C15:0) e ácido margárico (C17:0) (JENSEN, 2002).

Por isso, é importante verificar a caracterização química dos óleos e gorduras comestíveis e a legitimidade do queijo de manteiga e da manteiga de garrafa através da determinação por cromatografia a gasosa do perfil de ácidos graxos desses produtos.

3.5 CROMATOGRAFIA GASOSA

A cromatografia é uma técnica na qual os componentes de uma mistura são separados com base nas diferenças de velocidade, e são transportados através de uma fase fixa estacionária, por uma fase móvel que pode ser um líquido, um gás ou um fluido supercrítico. A fase estacionária é imobilizada em uma coluna ou sobre uma superfície plana. A fase móvel movimenta-se através da fase estacionária transportando a mistura dos analitos (SKOOG et al., 2009).

Na cromatografia gasosa, os componentes de uma amostra vaporizada são separados em consequência de sua partição entre uma fase móvel gasosa e uma fase estacionária líquida ou sólida contida dentro da coluna. A amostra é vaporizada e injetada na cabeça da coluna cromatográfica. A eluição é feita por um fluxo de fase móvel gasosa inerte, normalmente o hidrogênio. A fase móvel não interage com as moléculas do analito, ou seja, sua única função é transportar o analito através da coluna (SKOOG et al., 2009).

Dois tipos de cromatografia gasosa são encontrados: cromatografia gás-líquido (CGL) e cromatografia gás-sólido (CGS). A CGL é baseada na absorção seletiva dos analitos entre a fase móvel gasosa e uma fase líquida imobilizada (fase estacionária) na superfície de um material sólido inerte de recheio ou nas paredes de um tubo capilar. Como este tipo é amplamente utilizado em diversas áreas da ciência, seu nome é geralmente abreviado para cromatografia a gás (do inglês, *Gas Chromatography* – GC). A CGS é baseada em uma fase estacionária sólida na qual a retenção dos analitos ocorre por adsorção (SKOOG et al., 2009).

Os métodos cromatográficos a gás incluem a cromatografia acoplada a um detector de ionização em chama (do inglês, *Gas Chromatography with Flame Ionization Detector* – GC-FID) (AOCS, 1996) e a cromatografia a gás acoplada a um detector de massas (do inglês, *Gas Chromatography Mass Spectrometry* – GC-MS), que foi o tipo utilizado neste trabalho (HUANG et al., 2006).

A cromatografia gasosa é o método oficial para quantificação dos ácidos graxos na manteiga de garrafa, é utilizada para a separação da fase lipídica da amostra e derivatização de ácidos graxos em ésteres metílicos (BAILEY-HALL et al., 2008; VOLKMANN et al., 2017).

A análise de ácidos graxos por cromatografia em fase gasosa permite identificar, com bastante segurança, ácidos graxos saturados e insaturados, de cadeia curta e longa, presentes em óleos e gorduras (FONSECA; GUITIERREZ, 1974). A determinação desses ácidos ocorre através da extração dos ésteres dos ácidos graxos que são solúveis em solventes orgânicos e

geralmente insolúveis em água, daí então são analisados e determinados os picos pelo cromatógrafo gasoso (VOLKMANN et al., 2017).

A identificação dos picos dos ácidos graxos é realizada por comparação com os tempos de retenção de uma mistura de padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos. O valor percentual de cada ácido graxo é calculado com base na soma total das áreas de todos os picos identificados (HÁ; LINDSAY, 1990).

Um dos grandes diferenciais da cromatografia frente às outras técnicas analíticas é que o limite de detecção obtido pela cromatografia pode ser cerca de 100 a 1000 vezes menor do que aquele obtido por outros métodos de separação (PENTEADO et al., 2008). O limite de detecção é a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas (BRASIL, 2003).

Dessa forma, a cromatografia gasosa dos ácidos graxos da manteiga de garrafa é imprescindível ao estabelecimento da identidade dos lipídios dos produtos lácteos. As vantagens apresentadas pelo CG para a análise de AG são maior sensibilidade da técnica e um perfil mais amplo dos AG, incluindo os de cadeia curta, média e longa em um único método (AMBRÓSIO et al., 2001; CLEMENTE et al., 2009). A desvantagem é que técnica requer preparação de amostras e utilização de produtos químicos.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL DO SERIDÓ-ADESE. Diagnóstico da bacia leiteira do território Seridó. Caicó-RN: ADESE, 2011. Disponível em: <<https://drive.google.com/file/d/0B7kaCuopA-ZraXE4eFZjWkx3Sjg/view>>. Acesso em: 12 fev. 2020.

ALMEIDA, A. P. N. **Efeito do pH na qualidade do queijo de manteiga. Campinas. 2008.** 74 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/255793/1/Almeida_AnaPatriciaNogueira_M.pdf>. Acesso em: 31 jan. 2020.

ALEJEWICZ, M. et al. Cheese-like products analogs of processed and ripened cheeses. **Zywnosc-Nauka Technologia Jakosc**, v.78, n.5, p.16-25, 2011. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/266896434_Cheese-like_products_analogs_of_processed_and_ripened_cheeses>. Acesso em: 31 jan. 2020.

AMBRÓSIO, C. L. B. et al. Características de identidade, qualidade e estabilidade da manteiga de garrafa. Parte I - Características de identidade e qualidade¹. **Revista da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.21, n.3, p.314-320, dez. 2001.

Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612001000300011>. Acesso em: 31 jan. 2020.

AMBRÓSIO, C. L. B. et al. Características de identidade, qualidade e estabilidade da manteiga de garrafa. Parte II – Estabilidade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, n.3, p.351-354, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612003000300009&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 31 jan. 2020.

AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY. AOCS. Official Method Ce 1f-96 (Reapproved 1997 and revised 2002). Editor, AOCS Press, Champaign, IL., 1996. Disponível em: <<https://www.aocs.org/>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

AZEVEDO, F. F. de. **Seridó Potiguar: dinâmica socioespacial e organização do espaço agrário regional**. Uberlândia: Composer, 2005.

BAILEY-HALL, E. et al. Validação de uma medida rápida dos níveis de PUFA no sangue em humanos. **Lipids**, v.43, n.2, p.181-186, fev. 2008. Disponível em: <<https://aocs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1007/s11745-007-3140-7>>. Acesso em: 12 fev. 2020.

BEERMAN, C. et al. Efeitos a curto prazo de ácidos graxos dietéticos de cadeia média e ácidos graxos poliinsaturados n-3 de cadeia longa no metabolismo da gordura de voluntários saudáveis. **Lipids in Health and Disease**, v.2, n.10, p.1-10, 2003. Disponível em: <<https://lipidworld.biomedcentral.com/articles/10.1186/1476-511X-2-10>>. Acesso em: 12 fev. 2020.

BRASIL. Instrução Normativa nº 30 de 26 de junho de 2001. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade de manteiga da terra, queijo de coalho e queijo de manteiga. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 16 jul. 2001. Disponível em: <<https://wp.ufpel.edu.br/inspleite/files/2016/03/Instru%C3%A7%C3%A3o-normativa-n%C2%B0-30-de-26-de-junho-de-2001.pdf>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

BRASIL. Portaria nº 146, de 7 de março de 1996. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos. **Diário Oficial República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 11 mar. 1996. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1218>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

BRASILa. Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1990. Dispõe sobre a proteção do consumidor e dá outras providências. **Diário Oficial República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 11 set. 1990. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/18078.htm>. Acesso em: 31 jan. 2020.

BRASILb. CONGRESSO NACIONAL. Lei nº 8.137, de 27 de dezembro de 1990. Define crimes contra a ordem tributária, econômica e contra as relações de consumo, e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 1990b. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L8137.htm>. Acesso em: 31 jan. 2020.

BRASIL. Resolução – RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. **Diário Oficial República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 02 de

junho de 2003. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RE_899_2003_COMP.pdf/ff6fdc6b-3ad1-4d0f-9af2-3625422e6f4b>. Acesso em: 12 fev. 2020.

CAMARGO, R. et al. **Tecnologia dos produtos agropecuários**. São Paulo: Nobel, 1984. 307 p.

CARVALHO, J. N. et al. Análise microbiológica e pesquisa de amido em queijos de coalho e de manteiga comercializados em Recife-PE. **Revista Higiene Alimentar**, v. 25, n. 194-195, p.574-576, mar/abr. 2011. Disponível em: <<https://www.higienealimentar.com.br/wp-content/uploads/2019/07/REVISTA-194-195.pdf>>. Acesso em: 12 fev. 2020.

CLEMENTE, M. G. et al. Perfil dos ácidos graxos de “manteigas de garrafa” produzidas na região de Salinas – Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.33, n.6, p. 1615-1620, nov./dez. 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542009000600022&lng=en&nrm=iso&tlng=en>. Acesso em: 12 fev. 2020.

COLTRO, L.; BURATIN, A. E. P. Garrafas de PET para óleo comestível - avaliação da barreira à luz. **Polímeros**, v.14, n.3, p.206-211. 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-14282004000300018&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 12 fev. 2020.

NASCIUTTI, P. R. et al. Ácidos graxos e o sistema cardiovascular. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v.11, n.2, p.11-29, dez. 2015. Disponível em: <<https://repositorio.bc.ufg.br/xmlui/handle/ri/14246?show=full>>. Acesso em: 12 fev. 2020.

DANKOWSKA, A. et al. Detection of plant oil addition to cheese by synchronous fluorescence spectroscopy. **Dairy Science & Technology**, v.95, n.4, p. 413-424, jul. 2015. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s13594-015-0218-5>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

EVANGELISTA-BARRETO, N. S. et al. Queijos artesanais como veículo de contaminação de *Escherichia coli* e estafilococos coagulase positiva resistentes a antimicrobianos. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.10, n.1, p. 55-67, jan-mar, 2016. Disponível em: <<http://www.higieneanimal.ufc.br/seer/index.php/higieneanimal/article/view/301/1457>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

EVANGELISTA J. **Tecnologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu; 1989. 652 p.

FAMELART, M. et al. Évaluation des méthodes d’appréciation des propriétés fonctionnelles des fromages d’emmental de l’Ouest de la France. **Lait**, v.82, n.2, p.225-245, mar-abr. 2002. Disponível em: <<https://lait.dairy-journal.org/articles/lait/pdf/2002/02/06.pdf>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

FONSECA, H.; GUTIERREZ, L. E. Composição em ácidos graxos de óleos vegetais e gorduras animais. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, São Paulo, v.31, p. 485-490, jan. 1974. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0071-12761974000100038&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 31 jan. 2020.

- CURI, R. et al. **Entendendo a Gordura: Os ácidos graxos**. São Paulo: Manole, 2008. 598 p.
- GRUMMER, R. R. Effect of feed on the composition of milk fat. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.74, n.9, p.3244-3257, Sept. 1991. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002203029178510X>>. Acesso em 31 jan. 2020.
- GUNSTONE, F. D. **Chemistry of oils and fats – sources, composition, properties and uses**. Carlton South: Blackwell, 2004. 288 p.
- HA, J. K.; LINDSAY, R. C. Methods for the quantitative analysis of volatile free and total branched-chain fatty acids in cheese and milk fat. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.73, n.8, p.1988-1999, ago, 1990. Disponível em: <[https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(90\)78877-7/pdf](https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(90)78877-7/pdf)>. Acesso em 31 jan. 2020.
- HUANG, Z. et al. Um método simples para a análise de ácidos graxos trans com a coluna capilar GC-MS e ATTM -Silar-90. **Food Chemistry**, v.98, n.4, p.593-598. 2006. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814605003857>>. Acesso em: 31 jan. 2020.
- JASSEN-ESCUADERO, C.; RODRIGUEZ-AMÁYA, D.B. Composition of the Brazilian cheese “Requeijão do Norte”. **Journal of Food Science, Chicago**, v.46, n.3, p.917-919, ago, 1981. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/230151426_Composition_of_the_Brazilian_Cheese_Requeijbo_do_Norte>. Acesso em: 31 jan. 2020.
- JENSEN, R. G. A composição dos lipídeos do leite bovino: janeiro de 1995 a dezembro de 2000. **Journal of Dairy Science**. v.85, n.2, p.295-350, fev, 2002. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030202740794>>. Acesso em: 31 jan.2020.
- KOSIKOWSKI, F. V. The manufacture of mozzarella cheese from pasteurized milk. **Journal of Dairy Science**, v.34, p.641-643, julho, 1951. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030251917596>>. Acesso em: 31 jan. 2020.
- LAVASANI, A. R. S. et al. Changes in physicochemical and organoleptic properties of traditional Iranian cheese Lighvan during ripening. **International Journal of Dairy Technology**, v.65, n.1, p.64-70, out, 2011. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1471-0307.2011.00724.x>>. Acesso em: 31 jan. 2020.
- LEITE, A. I. N. **Autenticidade do queijo de manteiga do Seridó por espectroscopia no infravermelho**. 2018. 95 f. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Juiz de Fora, Programa de Pós-Graduação, Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, Juiz de Fora, 2018. Disponível em: <<http://www.ufjf.br/mestradoleite/files/2019/03/Disserta%C3%A7%C3%A3o-Final3.pdf>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

MARQUES, S. F. et al. Análise microbiológica e incidência de amido em queijos ralados. **Higiene Alimentar**, v.30, n.256/257, p.1-6, maio/junho, 2016. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Marcia_Alves13/publication/312937117_ANALISE_MICROBIOLOGICA_E_INCIDENCIA_DE_AMIDO_EM_QUEIJOS_RALADOS/links/5a5cb4ca0f7e9b4f78376de2/ANALISE-MICROBIOLOGICA-E-INCIDENCIA-DE-AMIDO-EM-QUEIJOS-RALADOS.pdf>. Acesso em: 31 jan. 2020.

MARTINS, A. L. Como montar uma fábrica de queijo artesanal (coalho e manteiga). Ideias de negócios. SEBRAE. Disponível em: <<https://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/ideias/como-montar-uma-fabrica-de-queijo-artesanal-coalho-e-manteiga,6b197a51b9105410VgnVCM1000003b74010aRCRD>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

MAZIER, P. M. J.; JONES, P. J. H. Diet fat saturation and feeding state modulate rates of cholesterol synthesis in normolipidemic men. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.127, n.2, p. 332-340, feb. 1997. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jn/article/127/2/332/4728771>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

MESQUITA, I. V. U. **Caracterização Química, Física e Sensorial do Queijo de Manteiga Produzido na Região do Seridó do Rio Grande do Norte**. 2012. 131 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), Recife, 2012.

MOTTA, V. T. **Bioquímica básica**. São Paulo: Medbook, 2011. 488 p.

NASSU, R. T. et al. Diagnóstico das Condições de Processamento e Caracterização Físico-Química de Queijos Regionais e Manteiga no Rio Grande do Norte. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE, 2003. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPAT-2010/9006/1/Bd-011.pdf>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

NASSU, R.T. et al. Diagnóstico das condições de processamento de queijo de coalho e manteiga da terra no estado do Ceará. **Higiene alimentar**, v.15, n.89, p.28-36, 2001. Disponível em: <<http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=BR20011425893>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

NASSU, T. R; LIMA, J. R. Estabilidade oxidativa da manteiga da terra acondicionada em diferentes embalagens. **Revista Ciência Agronômica**. v.35, n.1, p.110-115, 2004. Disponível em: <<https://docplayer.com.br/18750337-Estabilidade-oxidativa-de-manteiga-da-terra-acondicionada-em-diferentes-embalagens-1.html>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de alimentos: alimentos de origem animal**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 280 p.

PENTEADO, J. C. P. et al. Experimento didático sobre cromatografia gasosa: uma abordagem analítica e ambiental. **Química Nova**, v.31, n.8, p.2190-2193, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v31n8/47.pdf>>. Acesso em: 31 jan, 2020.

PETKOWICZ, C. L. O. **Bioquímica: aulas práticas**. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2007.

REISSIG, G. N. **Fraudes em alimentos: tipos e detecção**. 2009. 38 p. Monografia (Bacharelado em Química de Alimentos) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2009. Disponível em: <<https://www.passeidireto.com/arquivo/33511100/fraudes-em-alimentos>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Blucher, 2007.

RIO GRANDE DO NORTE (Estado). Lei nº 10.230, de 07 de agosto de 2017. Dispõe sobre a produção e a comercialização de queijos e manteiga artesanais do Rio Grande do Norte - Lei Nivardo Mello. **Diário Oficial do Estado do Rio Grande do Norte**, Natal: Assembleia Legislativa, 08 de agosto de 2017. Disponível em: <http://www.diariooficial.rn.gov.br/dei/dorn3/docview.aspx?id_jor=00000001&data=20180127&id_doc=598582>. Acesso em: 31 jan. 2020.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Lipid oxidation and improving the oxidative stability. **Chemical Society Reviews**, v.39, n.11, p.4067-4079, 2010. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2010/cs/b922183m/unauth#!divAbstract>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

SILVA, F. A. M. et al. Métodos para avaliação para o grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química nova**, v.22, n.1, p.94-103, 1999. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v22n1/1143.pdf>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

SILVA, D. L. M. **Fatores que afetam a competitividade do queijo artesanal: um estudo exploratório na região do Seridó/RN**. 2008. 107 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) - Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2008.

SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos da Química Analítica**, Thomson 6ª Edição, 2009.

TEIXEIRA, M.V. et al. Detecção da presença de amido em queijos do tipo prato e mozzarella. **Science in Health**. v.5, n.2, p.79-85, maio-ago, 2014. Disponível em: <http://arquivos.cruzeirodosuleducacional.edu.br/principal/new/revista_scienceinhealth/14_mai_ago_2014/Science_05_02_2014%20-%2079-85.pdf>. Acesso em: 31 jan. 2020.

VAN DENDER, A. G. F. Requeijão cremoso e outros queijos fundidos: tecnologia de fabricação, controle do processo e aspectos de mercado. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora, 2006. 391 p.

VAZ, L. P. **Caracterização físico-química e sensorial de manteiga da terra durante armazenamento controlado**. 2015. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2015.

VENTURA, R. F. Requeijões do Nordeste: tipos e fabricações. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.42, n.254, p.3-21, 1987.

VOLKMANN, G. C. M.; JENSKE, G.; KREMER, L. C. Determinação de ácidos graxos em alimentos por cromatografia. Universidade Regional de Blumenau, Blumenau – SC. 2017.

4 CAPÍTULO II - ANÁLISE DO PERFIL MICROBIOLÓGICO, FÍSICO-QUÍMICO E DOS ÁCIDOS GRAXOS EM QUEIJOS DE MANTEIGA

RESUMO

O queijo de manteiga apresenta alto valor nutritivo e tem relevância para o crescimento socioeconômico na região Nordeste do Brasil. Em alguns casos, durante sua fabricação são realizadas práticas inadequadas. Assim, objetivou-se avaliar neste trabalho a qualidade microbiológica, físico-química e detecção de possíveis fraudes em queijos de manteiga do Rio Grande do Norte. Para isso, foram adquiridas 30 amostras de queijos de manteiga em diferentes mesorregiões do estado. As amostras foram submetidas as análises microbiológicas (Coliformes a 35 e 45 °C, Estafilococos coagulase positiva e *Salmonella* spp.), físico-químicas (umidade, gordura, pH, cloretos, acidez), teste do Lugol e o perfil dos ácidos graxos em cromatografia gasosa. Observou-se que 87%, 27% e 17% das amostras apresentaram contagens elevadas para Estafilococos coagulase positiva, coliformes a 35 e 45°C, respectivamente. Apenas uma amostra apresentou presença para *Salmonella* spp. Foram obtidos resultados médios para umidade (43,79%), gordura (26,70%), pH (4,81), cloretos (8,07%) e acidez (1,53%). Foram detectadas a presença do amido em 6 amostras (20%). Para o perfil dos ácidos graxos observou-se que 83% das amostras apresentaram percentual de ácido linoleico acima de 3% que é a média encontrada no leite. Assim, permitiu-se concluir que queijos de manteiga apresentaram qualidade microbiológica inaceitável, e também, foram detectadas fraudes por adição de amido e por substituição de gordura animal láctea por óleo vegetal, considerando a elevada porcentagem de ácido linoleico encontrada nas amostras.

PALAVRAS-CHAVE: fraude, queijo artesanal, adulteração, óleo vegetal, gordura suína, amido

4.1 INTRODUÇÃO

O queijo de manteiga é um produto típico da região Nordeste do Brasil, onde é bastante consumido. A fabricação e comercialização é muito relevante para a atividade econômica da região, tendo em vista ser uma das principais fontes de renda para os pequenos produtores rurais. Sua produção na maioria das vezes ocorre de forma artesanal, em fazendas, cuja técnica é passada de geração em geração (ALMEIDA, 2008).

O queijo de manteiga é definido como sendo um produto obtido mediante coagulação do leite com ácidos orgânicos, cuja massa é submetida a dessoragem, lavagem e fusão, com acréscimo exclusivamente de manteiga de garrafa. O teor de gordura nos sólidos totais varia entre 25 e 55% e o teor máximo de umidade de 54,9% m/m, o que o classifica como um queijo de média a alta umidade (BRASIL, 2001a).

Por ter fabricação geralmente artesanal, seu processamento não é algo bem definido, ocorrendo falta de padronização na aquisição da matéria prima, falhas de higiene durante a fabricação, armazenamento e distribuição. Dessa forma, comprometendo a qualidade e vida útil do produto, além de representar riscos à saúde pública por estar relacionado à presença de patógenos como *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* spp. (CAVALCANTE; COSTA, 2005; DORES et al., 2013; DANTAS et al., 2013; PRATES et al., 2017).

A falta de padronização no processamento desse produto e de uma fiscalização mais intensa, resulta na comercialização inadequada, em que muitas vezes o produto é exposto a venda sem refrigeração e embalagem, diminuindo sua qualidade. Além disso, é comum ocorrerem fraudes objetivando a obtenção de maiores lucros, o que afeta as características sensoriais do queijo de manteiga, além de lesar o consumidor e expor riscos a sua saúde (NASSU et al., 2003, ALMEIDA, 2008; TEIXEIRA et al., 2014).

As fraudes mais comuns no queijo de manteiga são por adição do amido com o objetivo de aumentar o volume e espessamento do leite, e por adulteração intencional da manteiga de garrafa utilizada na fabricação do produto, em que ocorre substituição da gordura láctea por óleo vegetal ou gordura suína. Dessa forma, a utilização da cromatografia gasosa é o método oficial para a determinação do perfil dos ácidos graxos dos óleos e gorduras para detecção de fraudes (EVANGELISTA, 1989; REISSIG, 2009, TEIXEIRA et al., 2014; LEITE, 2018; RUIZ- RODRIGUEZ et al., 2010).

Diante disso, o objetivo neste trabalho foi verificar a qualidade microbiológica, físico-química do queijo de manteiga, além de detectar possíveis fraudes por adição do amido e por substituição da gordura animal láctea por óleo vegetal ou gordura suína.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Amostragem

As amostras foram coletadas em 15 cidades das diferentes mesorregiões do estado do Rio Grande do Norte, totalizando 30 amostras, sendo 10 industriais (com selo de inspeção) e 20 artesanais (sem selo de inspeção).

No momento da coleta, as amostras de queijo de manteiga foram pesadas com aproximadamente 300 g e embaladas com material próprio de comercialização do estabelecimento (saco plástico). Em seguida, foram acondicionadas em caixa térmica e transportadas ao laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal da UFERSA para

imediate realização das análises microbiológicas. As amostras foram adquiridas em feira livre, supermercado, comércio ambulante, queijeria, padaria e mercadinho. Todas foram identificadas quanto ao local da aquisição, tipo de produção, artesanal ou industrial, conservação, refrigerado ou não refrigerado, informações do prazo de validade, sendo este último verificado apenas em amostras com selo de inspeção ou rotulagem.

4.2.2 Análises microbiológicas

Avaliou-se a pesquisa de coliformes a 35 e 45 °C, pela técnica do Número Mais Provável (NMP/ml, contagem de Estafilococos coagulase positiva (UFC/g) e presença/ausência de *Salmonella* spp. de acordo com a legislação (BRASIL, 2003). Os resultados foram comparados aos limites estabelecidos a legislação vigente (BRASIL, 2001b).

4.2.3 Análises físico-químicas

As análises físico-químicas de umidade, gordura, cloretos, pH e amido foram realizadas seguindo as recomendações da Instrução Normativa nº 68 (BRASIL, 2006). Já para a acidez, seguiu-se as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

4.2.4 Extração da gordura e dos ésteres metílicos, identificação e quantificação dos ácidos graxos no queijo de manteiga

A extração da gordura do queijo foi realizada conforme Folch et al. (1957).

Os ésteres metílicos foram extraídos dos ácidos graxos da fase anterior utilizando a metodologia proposta por Simões (2014). Em um tubo de ensaio foram colocados aproximadamente 120 mg da gordura do queijo com 4,8 mL de hexano e agitado manualmente. Em seguida, adicionou-se 1,2 mL da solução de hidróxido de potássio $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ em metanol e agitado novamente por 10 segundos. Os tubos foram tampados e colocados em um béquer com água destilada e aquecidos a 48 °C por duas horas e a 55 °C por cinco minutos. Após esse processo, os tubos foram novamente agitados por 20 segundos e 2,4 mL de cloreto de sódio $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ foi adicionado para neutralizar a reação.

Em um funil de decantação adicionaram a mistura anterior 10 mL de hexano, para que houvesse a separação das fases. Por mais duas vezes 10 mL de hexano foram adicionados na fase aquosa para que obtivesse o máximo dos ésteres metílicos, e a separação ocorreu no funil

de decantação. A fase orgânica obtida foi clarificada em filtro de seringa (CHROMAFIL® Xtra em Poliéster, 0,45µm).

Os ésteres metílicos dos ácidos graxos foram analisados em cromatógrafo gasoso modelo (CGMS - QP2010 SE - SHIMADZU - CG 2010 PLUS) com espectrometria de massa. Os componentes foram separados em coluna capilar (RESTEK-RTX® 5MS (crossbond® 5% difenil/95% dimetil polisiloxano), 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). A temperatura inicial da coluna de 60 °C por 2 minutos até chegar a 170 °C por 25 min. Em seguida 200 °C durante 2 min e por fim 300 °C por 5 min. A temperatura do injetor de 250 °C; temperatura de interface de 200 °C, gás de arraste: hidrogênio.

Para obter os resultados a quantificação foi realizada com base nas relações das áreas de cada ácido graxo com a área do padrão interno.

4.2.5 Análise de dados

Os dados foram tabulados em planilha do Excel e realizada análise descritiva de frequências e por meio de medidas de dispersão (média) comparados com parâmetros estabelecidos pela legislação brasileira.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Análises Microbiológicas

No total, 30 amostras de queijos de manteiga foram analisadas para pesquisa de coliformes a 35 e a 45 °C, Estafilococos coagulase positiva e *Salmonella* spp. (Tabela 1). Os resultados foram comparados com os parâmetros estabelecidos pela legislação vigente (BRASIL, 2001b).

Tabela 1. Resultados microbiológicos de queijos de manteiga comercializados no estado do Rio Grande do Norte.

Microrganismos pesquisados	Resultados obtidos	Quantidade de amostras	%	Legislação*
Coliformes a 35°C (NMP/mL)	< 3,0	22	73	-
	3,6 x 10 ² a 4,6 x 10 ⁴	5	17	
	>1100	3	10	
Coliformes a 45°C (NMP/mL)	< 3,0	23	76	Max. 5x10 ³
	7,2 x 10 ² a 4,6 x 10 ⁴	4	14	
	>1100	3	10	
Estafilococos coagulase positiva (UFC/g)	< 100	4	13	Máx. 10 ³
	19 x 10 ³ a > 2 x 10 ⁷	26	87	
<i>Salmonella</i> spp.	Ausência	29	97	Ausência em 25g
	Presença	1	3	

* Legislação: Resolução-RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001.

Das 30 amostras, oito (27%) tiveram contagens elevadas para coliformes a 35 °C, e cinco (17%) tiveram contagens acima do permitido pela legislação 5 x 10³ NMP/mL para coliformes a 45 °C.

Para Estafilococos coagulase positiva, 26 (87%) das amostras estavam impróprias para o consumo, pois ultrapassaram o limite estabelecido pela legislação de 10³, atingindo contagens de até 2 x 10⁷ UFC/g. Todas as cepas isoladas de *Staphylococcus* reagiram positivamente ao teste da coagulase positiva e coloração de Gram.

Quanto à pesquisa de *Salmonella* spp. apenas 3% foram positivas. Portanto, apenas uma amostra se encontra em desacordo com a legislação brasileira que recomenda ausência desse microrganismo nos alimentos para venda e consumo (BRASIL, 2001b).

Embora a legislação do queijo de manteiga não estabeleça um limite para coliformes a 35 °C, oito amostras (27%) apresentaram contagens elevadas para esse grupo. Resultados inferiores foram encontrados por Feitosa et al. (2003), em que 15,4% dos queijos de manteiga estavam com contagens elevadas para coliformes. Esses microrganismos são indicadores de contaminação ambiental sugerindo que pode haver bactérias patogênicas da família das *Enterobacteriaceae* que se multiplicam durante o processamento, armazenamento ou comercialização (SEIXAS et al., 2014; EVANGELISTA-BARRETO et al., 2016).

Os coliformes a 45 °C quando encontrados nos alimentos com contagens acima do permitido pela legislação, além de ser considerado inapropriado para consumo também pode indicar a presença de outros microrganismos patogênicos de origem entérica (FRANCO;

LANDGRAF, 2002). Evangelista-Barreto et al. (2016), verificaram que 7% das amostras de queijo de manteiga tinham confirmação de *Escherichia coli*. Esse grupo de microrganismo é indicador de falha nas condições higiênico-sanitárias das instalações, dos manipuladores, principalmente após o processamento, já que durante a fabricação o queijo de manteiga no processo de fusão a massa atinge a temperatura de no mínimo 85 °C, favorecendo a eliminação dessas bactérias termolábeis (DANTAS et al., 2013; PRATES et al., 2017).

O *Staphylococcus aureus* é o principal microrganismo pertencente ao grupo do Estafilococos coagulase positiva. Contaminação elevada desse microrganismo, a partir de 10⁵ UFC/g, representa risco à saúde do consumidor devido sua capacidade de produzir toxinas, principalmente quando aliada a não refrigeração do produto. Apesar do queijo de manteiga atingir altas temperaturas ~100 °C durante seu processo de fabricação, não é suficiente para eliminar a possível presença dessas toxinas, que têm como característica a termorresistência, permanecendo ativa nos alimentos e podendo então causar intoxicações alimentares graves (LAMAITA et al., 2005; BORGES et al., 2008; SOBRINHO et al., 2012; PRATES et al., 2017).

Essa elevada porcentagem (87%) se assemelha ao encontrado por Feitosa et al. (2003), em que 84,7% das amostras de queijo de manteiga do Rio Grande do Norte também estavam contaminadas por Estafilococos coagulase positiva.

O queijo de manteiga pode ser contaminado por esse microrganismo através do leite cru, em que o Estafilococos coagulase positiva é comumente isolado nesse alimento, por ser um importante patógeno causador de mastite em bovinos. Além disso, a contaminação também pode ocorrer por higiene inadequada durante o processo de ordenha (SOUSA et al., 2014; PRATES et al., 2017).

Além do leite, os manipuladores portadores de Estafilococos coagulase positiva também estão envolvidos nesse processo de contaminação do queijo, principalmente pós processamento, em que o produto é manipulado indevidamente, pois geralmente são armazenados em locais inadequados e comercializados sem refrigeração, como no presente trabalho em que 50% das amostras estavam nessas condições de não refrigeração (MELO et al., 2013; BELLIO et al., 2016).

Salmonella spp. também foi isolada neste trabalho. Sua presença ocorreu em uma amostra, tornando o alimento impróprio para o consumo. É um dos principais patógenos envolvidos em surtos alimentares no mundo. Sua ocorrência no queijo de manteiga está ligada a falhas nas condições higiênico-sanitárias das instalações pós processamento e ao alto teor de umidade encontrado nesse produto, pois favorece a permanência desse microrganismo no alimento (SOUSA et al., 2014; ALEXANDRE et al., 2016; MEDEIROS et al., 2017).

Essa baixa contagem pode ter ocorrido devido a uma característica intrínseca ao microrganismo. *Salmonella* spp. apresenta baixa capacidade de competição quando comparada aos coliformes e *Staphylococcus* spp., além de sua instabilidade em meio ácido (ABRANTES, 2016; EVANGELISTA-BARRETO et al., 2016).

As análises microbiológicas não são suficientes para detectar algum tipo de fraude no queijo de manteiga, mas foi possível verificar através desses resultados que contagens elevadas desses microrganismos indicam falhas durante processamento e principalmente na comercialização desse produto, já que 50% (15) das amostras foram adquiridas sem refrigeração e 73% (22) sem selo de inspeção.

Ainda, mesmo com a criação da Lei nº 10.230/2017 (Lei Nivardo Mello) que dispõe sobre a produção e a comercialização de queijos e manteiga artesanais do Rio Grande do Norte (RIO GRANDE DO NORTE, 2017), a fiscalização e a transmissão do conhecimento sobre os riscos da contaminação alimentar precisam ser intensificadas, pois ainda existem falhas durante fases do processo, seja na aquisição da matéria prima, elaboração do produto ou durante armazenamento e comercialização.

4.3.2 Análises Físico-químicas

Os resultados das análises físico-químicas dos queijos de manteiga foram comparados com os parâmetros estabelecidos pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de queijo de manteiga definido pela Instrução Normativa nº 30 de 26 de junho de 2001 (BRASIL, 2001a) e se encontram na Tabela 2.

Tabela 2. Resultados das análises físico-químicas dos queijos de manteiga pesquisados no Rio Grande do Norte.

Amostras	Umidade (%)	Gordura (%)	pH	Cloretos (%)	Acidez (%)	Amido (%)
Menor valor	33,43	14,00	3,91	7,10	0,83	-
Maior valor	53,91	37,50	6,13	8,73	2,60	-
Média	43,79	26,70	4,81	8,07	1,53	-
Atendem a legislação	97	57	-	-	-	80
Não atendem a legislação	3	43	-	-	-	20
Legislação*	36 a 54,9	25 a 55	-	-	-	Ausência

* Legislação: Instrução Normativa nº 30 de 26 de junho de 2001.

Em relação a umidade, os queijos de manteiga variaram entre 33,43 a 53,91% com média de 43,79%, caracterizando-os como queijos de média a alta umidade estando em conformidade com a legislação, que é entre 36 a 54,9% (BRASIL, 2001a). Para o perfil de gordura, apenas 17 (57%) estão de acordo com a legislação, sendo que 13 (43%) estão fora do padrão, que é entre 25 a 55%.

Para o pH, as amostras variaram entre 3,91 a 6,13 com média de 4,81. Os cloretos variaram entre 7,10 e 8,73% e com média de 8,07%, e a acidez em ácido láctico variou entre 0,83 a 2,60%. Destaca-se que não há limite estabelecido pela legislação para esses parâmetros no queijo de manteiga.

Em relação ao amido, foi encontrado nos queijos de manteiga a adulteração pela presença desse composto ocorreu em 6 amostras (20%). Segundo a legislação, Brasil (2001a), a presença de amido no queijo de manteiga caracteriza-se como sendo uma fraude, não sendo permitido este composto químico em qualquer concentração nesse produto.

A umidade pode interferir na qualidade microbiológica do queijo de manteiga e em tantos outros alimentos. Por ser um alimento de média a alta umidade, possui um ambiente propício para o crescimento de microrganismos, dessa forma diminuindo o tempo de conservação desse produto (FERREIRA; FREITAS FILHO, 2008).

Resultados semelhantes para a umidade também foram relatados por Leite (2018), em que os queijos de manteiga também estavam dentro do padrão da legislação. As variações na umidade do queijo se dão possivelmente pela diversidade de matéria prima, falta de padronização na fabricação e também o tempo de conservação. Portanto, quanto mais tempo o

produto ficar disponível à venda, maior será a diminuição da umidade, tornando o queijo mais duro e com mudanças no pH, sabor, aroma e textura (NASSU et al., 2001; NASSU et al., 2003; FREITAS FILHO et al., 2009; SOUSA et al., 2014).

Para o perfil de gordura, 13 amostras (43%) estavam em não conformidade com a legislação, que é entre 25 a 55%. O baixo teor de gordura pode ser explicado pela variação na quantidade de manteiga de garrafa adicionada na fabricação do queijo e também a qualidade dessa manteiga (MEDEIROS, 2016).

Leite (2018), verificou que o teor de gordura das amostras de queijo de manteiga adulteradas em diferentes concentrações de óleo vegetal, apresentaram percentual dentro do padrão estabelecido pela legislação, não sendo possível detectar a fraude através das análises físico-químicas comuns, necessitando de técnicas mais eficientes e sensíveis como a cromatografia para a identificação desse tipo de fraude mais comum nesse produto.

Os valores de pH encontrados neste trabalho, também foram corroborados pelos valores encontrados por Almeida (2008) e Leite (2018). Quanto mais o pH se aproxima de 6,5, mais o queijo se torna um ambiente favorável ao crescimento de microrganismos contaminantes e patogênicos (MUNCK, 2004).

Apesar do pH não ter limite estabelecido pela legislação para o queijo de manteiga, é importante analisá-lo, pois ele influencia na atividade microbiana, na maturação e na textura do produto. Por ser um queijo fundido, quando em pH em torno de 5,5 apresenta gordura mais uniforme e bem distribuída, o que indica que nessa faixa de pH o produto fica mais emulsificado e com menos óleo livre, com características sensoriais mais atrativas para os consumidores (ALMEIDA, 2008).

A média para cloretos foi de 8,07%. Valores aproximados também foram encontrados por Medeiros (2016) quando analisou queijos de manteiga no Rio Grande do Norte. Diferente dos valores encontrados por Almeida (2008), Jassen-Escudero e Rodrigues Amaya (1981), Nassu et al. (2003), Nassu et al. (2009) e Mesquita (2012), em que encontraram uma média em torno de 1,5 %.

A não padronização na quantidade de sal adicionada ao produto se dá principalmente pela falta de limite estabelecido na legislação, ficando a critério do produtor a quantidade a ser acrescida.

A acidez percentual em ácido láctico teve a média de 1,5% nas amostras. Resultados mais elevados foram encontrados por Medeiros (2016), em que obteve média de 3,0% em amostras de queijos do mesmo estado dessa pesquisa. Esse parâmetro também foi encontrado em outros trabalhos em menor percentual, com média variando entre 0,5% a 1,0% (ALMEIDA, 2008;

JASSEN-ESCUADERO; RODRIGUES; AMAYA, 1981; NASSU et al., 2003; NASSU et al., 2009; MESQUITA, 2012).

A acidez percentual está relacionada com as condições de higiene que o leite foi obtido e também com degradação da lactose pelas bactérias que tornam o ambiente com pH mais baixo, influenciando na eliminação do soro da massa durante a fabricação do queijo, sendo necessária lavagem da massa com água e posteriormente com leite para diminuição da acidez e incorporar cálcio à massa de caseína (CAVALCANTE, 1991; SOUSA et al., 2014, ESCUDERO, 1979, ALMEIDA, 2008).

O amido foi encontrado em 20% das amostras. Resultados também encontrados por Almeida (2008), Teixeira et al. (2014) e Marques et al. (2016) em queijo de manteiga e parmesão.

A utilização desse ingrediente é permitida em alguns alimentos como os produtos cárneos, desde que sigam os limites estabelecidos pela legislação. Entretanto, para o queijo de manteiga a legislação determina que a adição do amido caracteriza como sendo uma fraude intencional com a finalidade de aumentar o peso ou volume do queijo visando a obtenção de lucro pelo produtor, e que além de afetar as características sensoriais e nutritivas do produto, também expõe os consumidores a um produto de qualidade inferior e duvidosa (BRASIL, 1990a; BRASIL, 2001a; REISSIG, 2009; TEIXEIRA et al., 2014; MARQUES et al., 2016).

Assim, para as análises físico-químicas, apenas a fraude por adição de amido foi identificada, não sendo possível detecção de adulterações no queijo de manteiga somente por alterações nesses parâmetros, sendo necessária a realização de outras técnicas como a cromatografia gasosa para identificação de fraudes por adição de óleo vegetal ou outro tipo de gordura não láctea.

4.3.3 Perfil dos ácidos graxos

O perfil dos ácidos graxos das 30 amostras, estão expostos na Tabela 3. São expressos os valores mínimos, máximos e médias para o percentual de área para os picos de cada amostra dos ácidos graxos dos queijos de manteiga.

Tabela 3. Perfil dos ácidos graxos (em % de área de pico) de queijo de manteiga: valores percentuais mínimo, máximo e média (somatório das amostras).

Ácidos graxos	% de área de pico		
	Mínimo	Máximo	Média
Caproico (6:0)	0,08	0,53	0,23
Caprílico (8:0)	0,04	0,65	0,29
Cáprico (10:0)	0,24	1,96	0,93
Decenoico (10:1) ω -6	0,08	0,12	0,20
Láurico (12:0)	0,45	2,83	1,54
Mirístico (14:0)	2,54	11,95	7,05
Miristoleico (14:1) ω -5	0,08	0,83	0,36
Pentadecanoico (15:0)	0,25	2,38	0,97
Palmítico (16:0)	18,82	36,72	27,70
Palmitoleico (16:1) ω -7	0,28	0,85	0,64
Margárico (17:0)	0,94	0,94	0,94
Esteárico (18:0)	9,94	20,18	14,89
Vacênico (18:1) ω -7	1,0	2,21	1,51
Petroselínico (18:1) ω -12	27,22	31,76	29,75
Oleico (18:1) ω -9	1,18	44,03	26,18
Linoleico (18:2) ω -6	1,21	31,39	13,92
Araquídico (20:0)	0,36	0,36	0,36
Beênico (22:0)	0,26	0,26	0,26
Lignocérico (24:0)	0,07	0,07	0,07
Total AG saturados			55,23%
Total AG insaturados			72,56%

Foram identificados 19 ácidos graxos em todas as amostras de queijo de manteiga, e os ácidos que predominaram foram petroselínico 18:1 (29,75%), palmítico 16:0 (27,70%), oleico 18:1 (26,18%), esteárico 18:0 (14,89%), linoleico 18:2 (13,92%) e mirístico 14:0 (7,05%) resultados próximos ao encontrado por Mesquita (2012).

O somatório das médias das 30 amostras encontradas para os ácidos graxos saturados e insaturados foram de 55,23 e 72,56%, respectivamente, diferente dos resultados encontrados por Ambrósio et al. (2003) e Machado e Druzian (2009).

O pico para ácido butírico (C:4) não foi detectado, mesmo estando presente na gordura do leite, provavelmente por ter sido eluído juntamente com o pico do solvente utilizado e por ser solúvel em água.

Foram encontradas entre as amostras de queijo de manteiga produzidas no Rio Grande do Norte diferenças no perfil de ácidos graxos, o que sugere a falta de padronização do processamento, como também da manteiga de garrafa utilizada na fabricação do queijo, pois o clima, o manejo e a alimentação que os animais recebem podem interferir no perfil de ácidos graxos do leite utilizado para elaboração da manteiga (ALMEIDA, 2008; CLEMENTE et al., 2009).

Elevadas concentrações dos ácidos petroselínico, que é isômero do ácido oleico, oleico e linoleico são característicos da substituição da gordura animal por gordura vegetal (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007).

Das 30 amostras avaliadas, 25 (83%) estavam com concentrações de ácido linoleico acima de 3%, com amostra atingindo até 31,39%. O valor médio de 3% foi observado por Fonseca e Gutierrez (1974), Almeida (2008), Clemente et al. (2009) e Machado e Druzian (2009).

Pode-se observar que os ácidos oleico e linoleico estão presentes em elevadas concentrações no óleo de soja, em torno de 25,30 e 50,60%, respectivamente, e na concentração de 40,40 a 12,43%, respectivamente na gordura suína como determinado por Fonseca e Gutierrez (1974).

A legislação determina que o queijo de manteiga não deve conter gordura e/ou proteína de origem não láctea (BRASIL, 2001a). Dessa forma, confirmando que houve fraude nos queijos de manteiga por substituição da gordura animal láctea por gordura vegetal ou também por gordura suína, pois apresentaram concentrações acima do esperado para esses ácidos graxos nesse produto lácteo (LEITE, 2018).

A fraude por adição de óleo vegetal e gordura suína são práticas comuns realizadas pelos produtores que objetivam o lucro. Essas gorduras apresentam características sensoriais bem próximas as da manteiga de garrafa.

Esse processo fraudulento, ocorre no momento da fusão da manteiga, em que o fraudador adiciona a gordura suína ou o óleo vegetal nas concentrações mais variadas, chegando até 50 % muitas vezes. Nesse momento a gordura não láctea incorpora o aroma da gordura da manteiga, e dessa forma camufla o aroma e sabor desse produto.

É importante salientar que, o processo de fraude além de expor a saúde dos consumidores, constitui crime contra as relações de consumo, nos termos do artigo 7, inciso III

da Lei nº 8.137/1990, segundo o qual: misturar gêneros e mercadorias de espécies diferentes, para vendê-los ou expô-los à venda como puros; misturar gêneros e mercadorias de qualidades desiguais para vendê-los ou expô-los à venda por preço estabelecido para os demais com alto custo (BRASIL, 1990b).

O teor de ácido graxo *trans* vacênico (18:1), teve média de 1,51%, valor próximo ao encontrado por (ALMEIDA, 2008) e inferior ao encontrado (AMBRÓSIO et al., 2003). Não foi observado valor para o ácido graxo *trans* elaídico (18:1). Quando esses ácidos graxos *trans* estão presentes na manteiga em elevadas concentrações, são indicadores de que o óleo vegetal foi submetido a longo processo de fritura ou que houve inadequadas condições de armazenamento. O ácido graxo *trans* vacênico é resultado do processo natural da biohidrogenação da flora microbiana do rúmen e glândula mamária e seu teor varia de 1,5 a 6,5% no leite (ALMEIDA, 2008; BRASIL, 2018).

Dessa forma, o queijo de manteiga tem grande importância econômica e cultural para a região Nordeste e é comumente comercializado sem nenhum processo de refrigeração e rotulagem, tornando difícil o conhecimento sobre a data de fabricação, validade e procedência do produto (COLAK et al., 2007).

Por se tratar de um alimento que é vendido pronto para o consumo, pode representar risco à saúde do consumidor, principalmente quando se encontram adicionados de ingredientes fraudulentos, induzindo o consumidor a pagar por um produto aquém do desejado, devendo, portanto, ser intensificada a fiscalização e a conscientização dos produtores, intermediários e consumidores para evitar e diminuir agravos à saúde pública.

4.4 CONCLUSÃO

As análises microbiológicas foram suficientes para observar que os queijos apresentam qualidade inferior ao estabelecido pela legislação, estando inapropriado ao consumo. Nas análises físico-químicas, somente o teste do Lugol foi suficiente para detectar fraude por adição de amido, e as análises do perfil dos ácidos graxos foi possível verificar a substituição da gordura láctea por óleo vegetal e gordura suína.

REFERÊNCIAS

ABRANTES, M. R. **Regulamentação da denominação de origem protegida de queijos da Espanha e sua aplicação em queijo de coalho**. 115 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal).

Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Mossoró, 2016. Disponível em: <http://repositorio.ufersa.edu.br/bitstream/tede/674/1/MariaRA_TESE.pdf>. Acesso em: 31 jan. 2020.

ALEXANDRE, A. P. S. et al. Queijo manteiga – contaminação microbiológica e risco à saúde do consumidor. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, 38(2):121-124, abr/jun 2016. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/311065665_Queijo_manteiga_-_contaminacao_microbiologica_e_risco_a_saude_do_consumidor>. Acesso em: 31 jan. 2020.

AMBRÓSIO, C. L. B. et al. Características de identidade, qualidade e estabilidade da manteiga de garrafa. Parte II – Estabilidade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, n.3, p.351-354, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612003000300009&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 31 jan. 2020.

ALMEIDA, A. P. N. **Efeito do pH na qualidade do queijo de manteiga**. Campinas. 2008. 74 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/255793/1/Almeida_AnaPatriciaNogueira_M.pdf>. Acesso em: 31 jan. 2020.

AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY - AOCS (1996). Official Method Ce 1f-96 (Reapproved 1997 and revised 2002). Editor, AOCS Press, Champaign, IL. Disponível em: <<https://www.aocs.org/>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

BRASILa. CONGRESSO NACIONAL. Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1990. Dispõe sobre a proteção do consumidor e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 1990a. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l8078.htm>. Acesso em: 31 jan. 2020.

BRASILb. CONGRESSO NACIONAL. Lei nº 8.137, de 27 de dezembro de 1990. Define crimes contra a ordem tributária, econômica e contra as relações de consumo, e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 1990b. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L8137.htm>. Acesso em: 31 jan. 2020.

BRASILa. Instrução Normativa nº 30 de 26 de junho de 2001. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade de manteiga da terra, queijo de coalho e queijo de manteiga. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 16 jul. 2001a. Disponível em: <<https://wp.ufpel.edu.br/inspleite/files/2016/03/Instru%C3%A7%C3%A3o-normativa-n%C2%B0-30-de-26-de-junho-de-2001.pdf>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

BRASILb. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico Sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, p.1-54. Brasília: 2001b. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b>. Acesso em: 31 jan. 2020.

BRASIL. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 set. 2003. Seção 1, p. 14. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2851>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Métodos Analíticos Físico-Químicos para Controle de Leite e Produtos Lácteos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, 14 de dezembro de 2006. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=17472>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Gerência Geral de Alimentos. Ácidos graxos trans: Documento de base para discussão regulatória. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, p.1-93. Brasília: 2018. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/5313808/Documento+de+discuss%C3%A3o+sobre+gordura+trans_+vers%C3%A3o+final.pdf/e2604d4a-9434-4bc4-b511-1c76ce7396ab>. Acesso em: 31 jan. 2020.

BELLIO, A. et al. Behaviour of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in sliced, vacuum-packaged raw milk cheese stored at two different temperatures and time periods. **International Dairy Journal**, Edmonton, v.57, n.1, p.15-19, 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958694616300127>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

BORGES, M. F. et al. Perfil de contaminação por *Staphylococcus* e suas enterotoxinas e monitorização das condições de higiene em uma linha de produção de queijo de coalho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.5, p.1431-1438, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v38n5/a37v38n5.pdf>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

CAVALCANTE, A. B. D. **Desenvolvimento e padronização de formulação para o processamento de requeijão tradicional**. Viçosa, 1991. 112p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa.

CAVALCANTE, A. B. D.; COSTA, J. M. C. Padronização da tecnologia de fabricação do queijo manteiga. **Revista Ciência Agronômica**, v. 36, n. 2, maio - ago., 2005: 215 – 220. Disponível em: <<http://ccarevista.ufc.br/seer/index.php/ccarevista/article/view/276/271>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

CLEMENTE, M. G. et al. Perfil dos ácidos graxos de “manteigas de garrafa” produzidas na região de Salinas- Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**. v.33, n.6, p.1615-1620, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542009000600022&lng=en&nrm=iso&tlng=en>. Acesso em: 31 jan. 2020.

COLAK H. et al. Prevalence of *L. monocytogenes* and *Salmonella* spp. in Tulum cheese. **Food Control**, 18:576-579, 2008. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713506000259>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

DANTAS, D. S. et al. Qualidade microbiológica do queijo de coalho comercializado no município de Patos, Estado da Paraíba. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 9, n.3, p. 110-118, julho-setembro, 2013. Disponível em: <<http://revistas.ufcg.edu.br/acsa/index.php/ACSA/article/view/433/pdf>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

DORES, M.T. et al. Enterotoxigenic potential of *Staphylococcus aureus* isolated from artisan Minas cheese from the Serra da Canastra, MG, Brazil. **Food Science and Technology**, v.33, n.2, p.271-275, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612013000200009>. Acesso em: 31 jan. 2020.

ESCUADERO, C. C. J. **Estudos do requeijão do norte: composição, qualidade e comportamento durante a estocagem**. 1979. 90 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/jspui/bitstream/REPOSIP/256134/1/JanssenEscudero_Catharina_M.pdf>. Acesso em: 31 jan. 2020.

EVANGELISTA J. **Tecnologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu; 1989. 652 p.

EVANGELISTA-BARRETO, N. S. et al. Queijos artesanais como veículo de contaminação de *Escherichia coli* e estafilococos coagulase positiva resistentes a antimicrobianos. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.10, n.1, p. 55-67, jan-mar, 2016. Disponível em: <<http://www.higieneanimal.ufc.br/seer/index.php/higieneanimal/article/view/301/1457>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

FEITOSA T. et al. Pesquisa de *Salmonella* sp., *Listeria* sp. e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijo produzidos no Estado do Rio Grande do Norte. **Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, p.162-165, 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v23s0/19490.pdf>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

FERREIRA, W. L.; FREITAS FILHO, J. R. Avaliação da Qualidade Físico-químicos do Queijo Coalho Comercializado no Município de Barreiros-PE. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. v. 2, p. 127-133, 2008. Disponível em: <<https://periodicos.utfpr.edu.br/rbta/article/view/277/245>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

FOLCH, J., LEES, W., AND SLOANE-STANLEY, G. H., J. **Biological Chemistry**, v.226, p.497-509, 1957.

FRANCO, B. D. G. M; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2002. 182p.

FREITAS FILHO, J. R. et al. Avaliação da qualidade do queijo “coalho” artesanal fabricado em Jucati – PE. Extensio: **Revista Eletrônica de Extensão**, v.6, n.8, p.35-49, 2009. Disponível em: <<https://periodicos.ufsc.br/index.php/extensio/article/view/1807-0221.2009v6n8p35/11446>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

FREITAS FILHO, J. R. et al. Avaliação dos parâmetros físico-químicos do queijo coalho artesanal produzido em Calçado- PE. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**,

Paraná, v.6, n.1, p. 722-729, 2012. Disponível em: <<https://periodicos.utfpr.edu.br/rbta/article/view/1179/4636>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**, 4 ed., 1 ed. Digital. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

JASSEN-ESCUADERO, C.; RODRIGUEZ-AMÁYA, D. B. Composition of the Brazilian cheese “Requeijão do Norte”. **Journal of Food Science**, v. 46, n. 3, p. 917-919, maio 1981. Disponível em: < <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US8029189>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

HUANG, Z. et al. Um método simples para a análise de ácidos graxos trans com a coluna capilar GC-MS e ATTM -Silar-90. **Food Chemistry**, v.98, n.4, p.593-598. 2006. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814605003857>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

LAMAITA, H. C. et al. Contagem de *Staphylococcus* sp. e detecção de enterotoxinas estafilocócicas e toxina da síndrome do choque tóxico em amostras de leite cru refrigerado. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 57, n. 5, p. 702-709, 2005. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v57n5/26920.pdf>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

LEITE, A. I. N. **Autenticidade do queijo de manteiga do Seridó por espectroscopia no infravermelho**. 2018. 95 f. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Juiz de Fora, Programa de Pós-Graduação, Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, Juiz de Fora, 2018. Disponível em: < <http://www.ufjf.br/mestradoleite/files/2019/03/Disserta%C3%A7%C3%A3o-Final3.pdf>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

MACHADO, B. A. S.; DRUZIAN, J. I. Análise da estabilidade e da composição em ácidos graxos em manteiga de garrafa produzida artesanalmente. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.68, n. 2, p. 201-208, 2009. Disponível em: < <https://pdfs.semanticscholar.org/c1d5/c28555c0e1dbc81128dab35958c66890aabf.pdf>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

MARQUES, S. F. et al. Análise microbiológica e incidência de amido em queijos ralados. **Higiene Alimentar**, v.30, n.256/257, p.1-6, maio/junho, 2016. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Marcia_Alves13/publication/312937117_ANALISE_MICROBIOLOGICA_E_INCIDENCIA_DE_AMIDO_EM_QUEIJOS_RALADOS/links/5a5cb4ca0f7e9b4f78376de2/ANALISE-MICROBIOLOGICA-E-INCIDENCIA-DE-AMIDO-EM-QUEIJOS-RALADOS.pdf>. Acesso em: 31 jan. 2020.

MEDEIROS, J. M. S. **Produção artesanal de queijos: avaliação das condições de processamento, da qualidade higiênico sanitária e físico química de queijos tipo coalho e manteiga**. 2016. 56 f. Dissertação (Mestre em Ciência Animal). Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Pós-Graduação em Ciência Animal. Disponível em: < http://repositorio.ufersa.edu.br/bitstream/tede/381/1/JovilmaMSM_DISSERT.pdf>. Acesso em: 31 jan. 2020.

MEDEIROS, N. C. et al. Quality of milk used in informal artisanal production of coalho and butter cheeses. **Semin. Ciências Agrárias**, v. 38, n. 4, p. 1955-1962. Jul./ago. 2017. Disponível em: < <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/26744/21438>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

MELO F.D. et al. Avaliação da inocuidade e qualidade microbiológica do queijo artesanal serrano e sua relação com as variáveis físico químicas e o período de maturação. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.41, p.1-7, 2013. Disponível em: < <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=289031817057>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

MESQUITA, I. V. U. **Caracterização Química, Física e Sensorial do Queijo de Manteiga Produzido na Região do Seridó do Rio Grande do Norte**. 2012. 131 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), Recife, 2012.

MUNCK, A.V. Queijo de Coalho – Princípios básicos da fabricação (Palestra). **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.59, n.339, p.13-15, 2004.

NASSU, R.T. et al. Diagnóstico das condições de processamento de queijo de coalho e manteiga da terra no estado do Ceará. **Higiene alimentar**, v.15, n.89, p.28-36, 2001. Disponível em: <<http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=BR20011425893>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

NASSU, R. T. et al. Diagnóstico das Condições de Processamento e Caracterização Físico-Química de Queijos Regionais e Manteiga no Rio Grande do Norte. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE, 2003. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPAT-2010/9006/1/Bd-011.pdf>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

NASSU, R. T. et al. Caracterização físico-química e análise sensorial de queijo de manteiga produzido no Rio Grande do Norte. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.40, n.1, p. 54-59, 2009. Disponível em: <<http://ccarevista.ufc.br/seer/index.php/ccarevista/article/view/403/299>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

PENTEADO, J. C. P. et al. Experimento didático sobre cromatografia gasosa: uma abordagem analítica e ambiental. **Química Nova**, v.31, n.8, p.2190-2193, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v31n8/47.pdf>>. Acesso em: 31 jan, 2020.

PRATES, D. F. et al. Microbiological quality and safety assessment in the production of moderate and high humidity cheeses. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.47: 11, e20170363, 2017. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/cr/v47n11/1678-4596-cr-47-11-e20170363.pdf>>. Acesso em: 31 jan, 2020.

REISSIG, G. N. **Fraudes em alimentos: tipos e detecção**. 2009. 38 p. Monografia (Bacharelado em Química de Alimentos) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2009. Disponível em: <<https://www.passeidireto.com/arquivo/33511100/fraudes-em-alimentos>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Blucher, 2007.

RIO GRANDE DO NORTE (Estado). Lei nº 10.230, de 07 de agosto de 2017. Dispõe sobre a produção e a comercialização de queijos e manteiga artesanais do Rio Grande do Norte - Lei Nivardo Mello. **Diário Oficial do Estado do Rio Grande do Norte**, Natal: Assembleia Legislativa, 08 de agosto de 2017. Disponível em: <http://www.diariooficial.rn.gov.br/dei/dorn3/docview.aspx?id_jor=00000001&data=20180127&id_doc=598582>. Acesso em: 31 jan. 2020.

RUIZ-RODRIGUEZ, A. et al. Pharmaceut Biomed **Anal** 51:305-326, 2010.

SEIXAS, V. N. C. et al. Caracterização do Queijo do Marajó tipo manteiga produzido em duas estações do ano. **Ciência Rural**, Santa Maria, Online 2014. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v45n4/0103-8478-cr-00-00-cr20140463.pdf>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

SIMÕES, L. S. **Extração e caracterização de oleorresina de *Capsicum* obtida a partir de pimentas malagueta (*Capsicum frutescens*) e dedo-de-moça (*Capsicum baccatum var. pendulum*)**. 63 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Viçosa-MG, 2014. Disponível em: <<https://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/6403/texto%20completo.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos da Química Analítica**, Thomson 6ª Edição, 2009.

SOBRINHO, P.S.C. et al. Bacteriological quality of raw milk used for production of a Brazilian farmstead raw milk cheese. **Foodborne Pathogens and Disease**, v.9, p.138-144, 2012. Available from: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22217108>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

SOUSA, A. Z. B. et al. Aspectos físico-químicos e microbiológicos do queijo tipo coalho comercializado em estados do nordeste do Brasil. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 81, n.1, p.30-35, São Paulo, 2014. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/aib/v81n1/1808-1657-aib-81-01-00030.pdf>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

TEIXEIRA, M.V. et al. Detecção da presença de amido em queijos do tipo prato e mozzarella. **Science in Health**. v.5, n.2, p.79-85, maio-ago, 2014. Disponível em: <http://arquivos.cruzeirosuleducacional.edu.br/principal/new/revista_scienceinhealth/14_mai_ago_2014/Science_05_02_2014%20-%2079-85.pdf>. Acesso em: 31 jan. 2020.

V VOLKMANN, G. C. M. et al. Determinação de ácidos graxos em alimentos por cromatografia. Universidade Regional de Blumenau, Blumenau – SC. 2017.

5 CAPÍTULO III - QUALIDADE MICROBIOLÓGICA, FÍSICO-QUÍMICA E PERFIL DOS ÁCIDOS GRAXOS EM MANTEIGAS DE GARRAFA

RESUMO

A manteiga de garrafa além de ser bastante consumida na região Nordeste do Brasil, é importante para o crescimento socioeconômico dessa região. Sua produção se dá a partir da gordura anidra do leite e em alguns casos, durante sua fabricação são realizadas práticas inadequadas. Assim, objetivou-se neste trabalho avaliar a qualidade microbiológica, físico-química e a autenticidade dos ácidos graxos de manteigas de garrafa comercializadas no Rio Grande do Norte. Para isso, foram adquiridas 30 amostras de manteigas de garrafa. As amostras foram submetidas as análises microbiológicas (Coliformes a 35 e 45 °C, *Estafilococos* coagulase positiva e *Salmonella* spp.), físico-químicas (umidade, gordura, pH, cloretos, acidez) e o perfil dos ácidos graxos em cromatografia gasosa. Observou-se que 80, 100, 67 e 100% das amostras apresentaram-se em conformidade com a legislação para coliformes a 35°C, 45°C, *Estafilococos* coagulase positiva, e *Salmonella* spp., respectivamente. Foram obtidos resultados médios para umidade de 0,28%, gordura 98,38%, sólidos não gordurosos 1,34%, pH 4,65, cloretos 0,05% e acidez 0,26%. Para o perfil dos ácidos graxos observou-se que 50% das amostras apresentaram percentual de ácido linoleico de 17,54%, valor superior a média encontrada no leite (3%). As manteigas de garrafa apresentaram boa qualidade microbiológica, e também, foi detectada fraude por substituição de gordura animal láctea por óleo vegetal ou gordura suína, considerando a elevada porcentagem de ácido linoleico encontrada nas amostras.

PALAVRAS-CHAVE: manteiga de garrafa, fraude, óleo de soja, gordura suína, gordura vegetal

5.1 INTRODUÇÃO

A manteiga de garrafa é um produto característico da região Nordeste do Brasil. Também conhecida como manteiga da terra, do sertão, de cozinha e de gado, e sua comercialização tem sido importante para o crescimento econômico da região. Por ser um produto bastante apreciado por boa parte da população, é comumente exposta à venda em feiras livres, supermercados, padarias, restaurantes e às margens de estradas (AMBRÓSIO et al., 2001).

De acordo com a legislação, a manteiga de garrafa é um produto gorduroso, apresentando-se nos estados líquido e pastoso, obtido a partir do creme de leite, pela eliminação quase total da água, mediante processo tecnológico adequado (BRASIL, 2001). É a gordura anidra proveniente do leite de vaca que submetida a tratamento térmico adequado, transforma-se em produto oleoso, similar em características físico-químicas a produtos encontrados em

outras culturas, como o “butter oil” americano, o “ghee” indiano e o “samneh” africano, sendo que o “ghee” e a manteiga de garrafa diferenciam-se na textura (NASSU; LIMA, 2004).

O processo de fabricação dessa manteiga normalmente é artesanal, utilizando-se técnicas de origem de tradições familiares fazendo com que sua produção seja em pequena quantidade e variando de acordo com o produtor. Devido a isso, não há controle de qualidade e das etapas do processamento, inclusive do tempo e da temperatura utilizada para adequada fusão do produto, o que explica a falta de uniformidade do mesmo, possibilitando até mesmo a utilização de fraudes durante a fabricação (AMBRÓSIO et al., 2001; NASSU, 2004; SOARES et al., 2009).

As fraudes em manteiga de garrafa são difíceis de serem identificadas através das análises sensoriais, microbiológicas e físico-químicas. Porém, analisando o perfil de ácidos graxos é possível encontrar adulterações nesse produto através da gordura do leite e do creme utilizados para fabricação. Essa gordura do leite apresenta grande quantidade de ácidos graxos de cadeia curta, contudo, ácidos graxos de cadeia longa podem estar presentes, como o ácido oleico, palmítico e esteárico. Já os ácidos graxos poli-insaturados como o ácido linoleico são encontrados em grande quantidade em óleos vegetais, como o óleo de soja e de milho (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007; LEITE, 2018).

Diante disso, objetivou-se neste trabalho avaliar a qualidade microbiológica, físico-química e autenticidade das manteigas de garrafa comercializadas no Rio Grande do Norte.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Amostragem

As manteigas de garrafas foram coletadas em 15 cidades das diferentes mesorregiões do estado do Rio Grande do Norte, um total de 30 amostras adquiridas no comércio, sendo 23 sem selo de inspeção (artesanal) e sete com selo de inspeção (industrial), uma manteiga de garrafa foi fabricada durante experimento para comparar os resultados dos ácidos graxos com os das amostras analisadas.

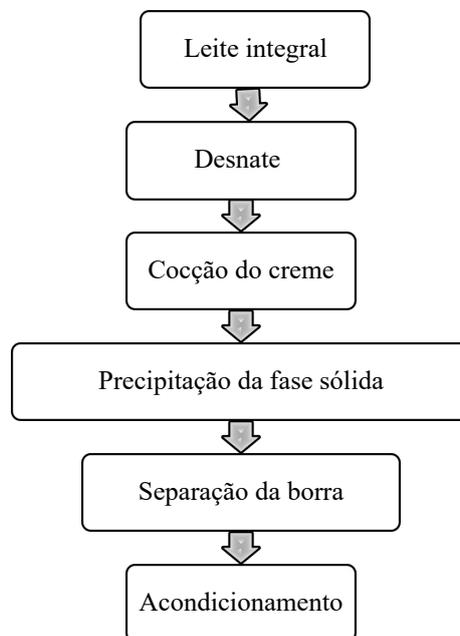
As amostras foram adquiridas nos frascos em que são comercializadas, vidro ou plástico, em feira livre, supermercado, comércio ambulante, fábrica, padaria e mercadinho. Todas as amostras foram identificadas quanto ao local da aquisição, tipo de produção, com selo ou sem selo de inspeção, informações do prazo de validade, sendo este último verificado apenas em amostras com selo de inspeção ou rotulagem. Em seguida foram acondicionadas em caixa

térmica e transportadas ao laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal da UFERSA para imediata realização das análises.

5.2.2 Produção da manteiga de garrafa

A manteiga de garrafa foi produzida no Instituto Federal do Rio Grande do Norte, campus de Apodi, de acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade da manteiga de garrafa definido pela Instrução Normativa nº 30 de 26 de junho de 2001 (BRASIL, 2001), conforme o fluxograma da Figura 1.

Figura 1- Fluxograma do processamento da manteiga de garrafa.



5.2.3 Análises microbiológicas

Avaliou-se a presença de coliformes a 35 e 45 °C pela técnica do Número Mais Provável (NMP/mL), contagem de Estafilococos coagulase positiva (UFC/mL) e ausência/presença de *Salmonella* spp. de acordo com a legislação (BRASIL, 2003). Os resultados foram comparados aos limites estabelecidos a legislação vigente (BRASIL, 2001).

5.2.4 Análises físico-químicas

As análises físico-químicas de umidade, gordura, sólidos não gordurosos, sólidos totais, cloretos e pH foram realizadas seguindo as recomendações da Instrução Normativa nº 68 (BRASIL, 2006), já para a acidez, seguiu-se as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

5.2.5 Identificação e quantificação dos ácidos graxos na manteiga de garrafa

Os ésteres metílicos foram extraídos diretamente das manteigas de garrafa e os ácidos graxos foram obtidos a partir da conversão desses ésteres metílicos, utilizado a metodologia proposta por Simões (2014). Em um tubo de ensaio foram colocados aproximadamente 120 mg da manteiga de garrafa com 4,8 mL de hexano e agitado manualmente. Em seguida, adicionou-se 1,2 mL da solução de hidróxido de potássio $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ em metanol e agitado novamente por 10 segundos. Os tubos foram tampados e colocados em um béquer com água destilada e aquecidos a $48 \text{ }^\circ\text{C}$ por duas horas e a $55 \text{ }^\circ\text{C}$ por cinco minutos. Após esse processo, os tubos foram novamente agitados por 20 segundos e 2,4 mL de cloreto de sódio $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ foi adicionado para neutralizar a reação.

Em um funil de decantação adicionaram à mistura e 10 mL de hexano, para que houvesse a separação das fases. Por mais duas vezes 10 mL de hexano foram adicionados na fase aquosa para que se obtivesse o máximo dos ésteres metílicos, e a separação ocorreu no funil de decantação. A fase orgânica obtida foi clarificada em filtro de seringa (CHROMAFIL® Xtra em Poliéster, $0,45 \mu\text{m}$).

Os ésteres metílicos dos ácidos graxos foram analisados em cromatógrafo gasoso modelo (CGMS - QP2010 SE - SHIMADZU - CG 2010 PLUS) com espectrometria de massa. Os componentes foram separados em coluna capilar (RESTEK-RTX® 5MS (crossbond® 5% difenil/95% dimetil polisiloxano), $30 \text{ m} \times 0,25 \text{ mm} \times 0,25 \mu\text{m}$). A temperatura inicial da coluna de $60 \text{ }^\circ\text{C}$ por 2 minutos até atingir $170 \text{ }^\circ\text{C}$ por 25 min. Em seguida foi elevada a $200 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 2 min e por fim $300 \text{ }^\circ\text{C}$ por 5 min. A temperatura do injetor foi de $250 \text{ }^\circ\text{C}$; temperatura de interface de $200 \text{ }^\circ\text{C}$ e o gás de arraste foi o hidrogênio.

Para obter os resultados a quantificação foi realizada com base nas relações das áreas de cada ácido graxo com a área do padrão interno.

5.2.6 Análise de dados

Foi realizada análise descritiva das frequências e por meio de medidas de dispersão (média) comparados com parâmetros estabelecidos pela legislação brasileira (BRASIL, 2001).

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Análise microbiológica

No total, 30 amostras de manteiga de garrafa foram analisadas para pesquisa de coliformes a 35 e a 45 °C, Estafilococos coagulase positiva e *Salmonella* spp. (Tabela 1). Os resultados foram comparados com os parâmetros estabelecidos pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade da manteiga de garrafa definido pela Instrução Normativa nº 30 de 26 de junho de 2001 (BRASIL, 2001).

Tabela 1: Perfil microbiológico de manteigas de garrafa comercializadas no Rio Grande do Norte.

Microrganismos pesquisados	Contagens	Quantidade de amostras	Porcentagem (%)	Legislação
Coliformes a 35°C (NMP/mL)	< 3,0	24	80	Máx. 10 ²
	3,6 x 10 ² a 1,5 x 10 ⁴	6	20	
Coliformes a 45°C (NMP/mL)	< 3,0	30	100	Máx. 10
Estafilococos coagulase positiva (UFC/mL)	< 100	20	67	Máx. 10 ²
	1,25 x 10 ² a 2,15 x 10 ⁵	10	33	
<i>Salmonella</i> spp.	Ausência	30	100	Ausência em 25g
	Presença	-	-	

*Instrução Normativa nº 30 de 26 de junho de 2001

Das 30 amostras, seis (20%) apresentaram contagens acima de 10² NMP/mL que é o máximo permitido pela legislação para coliformes a 35 °C. Resultado semelhante também foi encontrado por Sousa et al. (2013), que verificaram a qualidade microbiológica de manteigas comercializadas em Viçosa-MG.

Contaminação por coliformes a 35 °C em manteigas de garrafa, indica que houve falhas de higiene durante o processamento do produto ou a qualidade da água utilizada durante processo de fabricação estava imprópria para o consumo, ou ainda, ocorrência de contaminação

após o processamento. Bactérias pertencentes a esse grupo, prejudicam a qualidade do alimento, diminuindo seu tempo de prateleira, tornando-o impróprio para consumo (CARDOSO et al., 2001; SOUSA et al., 2013).

Para os coliformes a 45 °C, todas amostras estavam em conformidade com a legislação com contagens <3,0. Resultados semelhante também foram encontrados por Ambrósio et al. (2001), Nassu et al. (2001), Soares et al. (2009), Sousa et al. (2013).

A contaminação por coliformes termotolerantes é preocupante, tendo em vista que é indicativo de contaminação fecal e de condições higiênico-sanitárias inadequadas, em que favorece o crescimento de bactérias como *Escherichia coli* que fazem parte desse grupo em altas proporções (CARDOSO et al., 2001).

Para *Estafilococos* coagulase positiva, 10 amostras (33%) estavam impróprias para o consumo, pois ultrapassaram o limite estabelecido pela legislação de 10² UFC/mL, atingindo contagens de até 10⁵ UFC/mL. Todas as cepas isoladas de *Estafilococos* reagiram positivamente ao teste da coagulase positiva e coloração de Gram.

Soares et al. (2009), verificaram que 10% das amostras de manteiga de garrafa artesanais comercializadas em Mossoró-RN estavam com contagens acima do permitido para *Staphylococcus aureus*. Esses valores diferem de outros trabalhos, em que as amostras estavam em conformidade com a legislação com contagens abaixo do limite estabelecido (AMBRÓSIO et al., 2001; ARAÚJO, 2011; NASSU et al., 2001).

O *Estafilococos* coagulase positiva é causador de um dos tipos mais frequentes de intoxicações alimentares comumente veiculadas por leite e derivados. Pode ser encontrado nas mãos dos manipuladores e em outras partes do organismo, sendo o homem um dos principais responsáveis pela contaminação no alimento (SANTOS; GENIGEORGIS, 1981; CARVALHO; SERAFINI, 1996).

Quanto a pesquisa de *Salmonella* spp. 100% das amostras foram negativas. Não foi encontrada a *Salmonella* spp. em nenhuma das amostras analisadas, resultados também encontrados em outros trabalhos (AMBRÓSIO et al., 2001; SOUSA et al., 2013). Portanto, todas as amostras estão em acordo com a legislação brasileira que recomenda ausência desse microrganismo nos alimentos para venda e consumo (BRASIL, 2001).

A manteiga de garrafa é um alimento com ambiente desfavorável ao crescimento de microrganismo. Isso se dá pela elevada constituição lipídica e a baixa atividade de água que age limitando a proliferação de microrganismos, além também da alta temperatura que a manteiga atinge durante o processo de fusão, chegando até 120 °C (AMBRÓSIO et al., 2001; NASSU et al., 2001). Entretanto, a produção artesanal de alimentos geralmente ocorre com

carência de boas práticas de fabricação, necessárias para que se tenha o mínimo de dose contaminante no produto final (FORSYTHE, 2013).

Mesmo com a criação da Lei nº 10.230/2017 (Lei Nivardo Mello) que dispõe sobre a produção e a comercialização de queijos e manteiga artesanais do Rio Grande do Norte (RIO GRANDE DO NORTE, 2017), a fiscalização e a transmissão do conhecimento sobre os riscos da contaminação alimentar precisam ser intensificadas, pois ainda existem falhas durante fases do processo, possibilitando a produção de alimento inseguro, sendo necessária a aplicação das boas práticas de fabricação para evitar a contaminação por microrganismos ambientais e inerentes ao homem, tendo em vista que 77% das amostras de manteiga eram desprovidas de selo de inspeção, demonstrando a falta de fiscalização durante a produção.

5.3.2 Análises físico-químicas

Os resultados das análises físico-químicas das manteigas de garrafa foram comparados com os parâmetros estabelecidos pela legislação vigente (BRASIL, 2001). (Tabela 2).

Tabela 2: Análises físico-químicas das manteigas de garrafa pesquisadas no Rio Grande do Norte. Resultados expressos em frequências absolutas, relativas e em médias.

Amostras	Umidade (%)	Gordura (%)	Sólidos Não Gordurosos (%)	Acidez (%)	Cloretos (%)	Sólidos Totais (%)	pH
Menor valor	0,03	95,91	0,62	0,13	0,01	98,24	3,78
Maior valor	1,75	99,96	4,0	0,36	0,28	99,96	5,93
Média	0,28	98,38	1,34	0,26	0,05	99,70	4,65
Atendem a legislação	77	47	40	100	-	-	-
Não atendem a legislação	23	53	60	-	-	-	-
Legislação	Máx. 0,3%	Mín.98,5%	Máx. 1,0%	Máx. 2%	-	-	-

* Instrução Normativa nº 30 de 26 de junho de 2001

A média da umidade de 0,28% se aproxima dos valores encontrados por Pereira et al. (1986); Nassu et al. (2001) Ambrósio et al. (2001). Diferente do encontrado por Clemente; Abreu, (2008) em que todas as amostras estavam acima do preconizado na legislação. Machado e Druzian, (2009) avaliaram manteigas de garrafa durante o período de sete meses. Após os sete

meses é que as manteigas apresentaram valores superiores ao limite estabelecido pela legislação.

Essas diferenças na umidade, podem ocorrer devido a falta de padronização na produção da manteiga, em que pode ter ocorrido variação no tempo entre 2 a 6 horas nas etapas de fusão e cozimento. Assim, as manteigas que apresentarem um tempo maior de cozimento, terão menor umidade, e conseqüentemente, maior teor de gordura (NASSU et al., 2001; CLEMENTE; ABREU, 2008).

Com relação a gordura, os resultados não atenderam ao mínimo preconizado pela legislação que é 98,5%. Esses resultados foram próximos aos encontrados por Clemente e Abreu, (2008) e Nassu et al. (2001), que verificaram as amostras avaliadas variando entre 95,4 a 99,87%.

Não se sabe ao certo se fraudes por substituição de gordura animal por gordura vegetal alteram o valor do teor de gordura na manteiga de garrafa, sendo necessárias análises mais aprofundadas como a cromatografia gasosa para investigar possíveis adulterações.

Para os sólidos não gordurosos, 18 amostras (60%) encontraram-se em desacordo com a legislação que é de no máximo 1,0%, com média de 1,34%. Os sólidos não gordurosos são os resíduos obtidos após a completa fusão da manteiga. É resultado da eliminação da água e da gordura, permanecendo de forma densa e opaca, sendo chamado de borra. Isto significa que, após a decantação em temperatura ambiente, ocorre separação da manteiga, ou seja, a fase sobrenadante que é filtrada e envasada e a borra que é o resíduo decantado, parte dela foi adicionada à manteiga (BRASIL, 2001).

Para a acidez, 100% das amostras atendem a legislação com valores inferiores ao máximo estabelecido de 2,0%. Assim como os encontrados por Ambrósio et al. (2001). O teor da acidez na manteiga de garrafa serve para indicar falhas durante o processamento e também estado de rancificação do produto. A falha mais comum é a incorporação de sólidos não gordurosos, como a lactose, substrato para fermentação láctica (CLEMENTE; ABREU, 2008).

Embora a legislação não preconize um valor máximo para cloretos na manteiga de garrafa, todas as amostras estavam dentro do permitido para a legislação da manteiga comum, que é no máximo 2,0% (BRASIL, 1996). A média de cloretos encontrados nesse trabalho foi de 0,05%. Essa baixa porcentagem provavelmente é devida a retenção desse ingrediente na borra (AMBRÓSIO et al., 2001).

O potencial hidrogeniônico (pH), foi analisado, embora não haja preconização na legislação da manteiga de garrafa. Clemente; Abreu, (2008) analisaram 10 manteigas de garrafa e encontraram valores variando entre 2,23 a 6,27. O pH atua controlando o crescimento

microbiano. Quanto mais baixo o pH, mais o ambiente é desfavorável ao crescimento de microrganismos (ALMEIDA, 2008).

As análises físico-químicas não foram suficientes para detectar fraude nas manteigas de garrafa, considerando que 77% das manteigas tiveram fabricação artesanal, o que justifica as variações encontradas nos parâmetros estudados. Apesar disso, maior parte das amostras se encontravam em conformidade com a legislação, porém, para a gordura foi utilizada a cromatografia gasosa para análise mais detalhada.

5.3.3 Perfil dos ácidos graxos

O perfil dos ácidos graxos da manteiga de garrafa pura foi comparado com o perfil dos ácidos graxos das 30 amostras de manteigas de garrafa pesquisadas (Tabelas 3 e 4).

Foram identificados 12 ácidos graxos na manteiga de garrafa pura. Predominaram os ácidos graxos palmítico 16:0 (28,53%), petroselínico 18:1 (27,11%), esteárico 18:0 (14,89%), mirístico 14:0 (6,95%) e oleico 18:1 (2,83%). Total de ácidos graxos saturados e insaturados 53,99 e 31,03%, respectivamente. Resultados próximos aos encontrados por Vaz (2015), em que detectou 53,72 e 32,24% para ácidos graxos saturados e insaturados, respectivamente.

Para as 30 amostras de manteiga de garrafa foram identificados 17 ácidos graxos. Os ácidos que predominaram foram palmítico 16:0 (31,96%), petroselínico 18:1 (25,19%), oleico 18:1 (21,50%), linoleico 18:2 (17,54%), esteárico 18:0 (10,99%), e mirístico 14:0 (7,73%) resultados próximos aos encontrados por Ambrósio et al. (2001), Clemente et al. (2009), exceto para o ácido linoleico, em que a média para os autores foi de até 3% (VAZ, 2015; AMBRÓSIO et al., 2001; AMBRÓSIO et al., 2003; MACHADO; DRUZIAN, 2009; CLEMENTE et al., 2009).

O somatório das médias das 30 amostras de manteigas de garrafa encontradas para os ácidos graxos saturados e insaturados foram de 60,95 e 66,67%, respectivamente, diferente dos resultados encontrados da média das amostras estudadas por Ambrósio et al. (2001) que foram 63,86 e 31,97%, respectivamente.

Tabela 3. Perfil dos ácidos graxos (em % de área de pico) da manteiga de garrafa pura (controle) comparada com as amostras de manteigas de garrafa comercializadas no Rio Grande do Norte, Brasil, 2019.

Ácidos graxos	% de área de pico			
	Manteiga Pura Controle	Amostras		
		Mínimo	Máximo	Média
Caproico (6:0)	0,24	0,52	9,17	3,48
Caprílico (8:0)	0,30	0,04	5,91	1,06
Cáprico (10:0)	0,92	0,02	12,50	2,28
Decenoico (10:1) ω -6	-	0,11	0,49	0,30
Láurico (12:0)	1,42	0,06	8,85	2,17
Mirístico (14:0)	6,95	0,23	27,10	7,73
Miristoleico (14:1) ω -5	0,36	0,17	0,76	0,50
Pentadecanoico (15:0)	0,74	0,31	1,95	0,97
Palmítico (16:0)	28,53	12,85	67,14	31,96
Palmitoleico (16:1) ω -7	-	0,24	0,95	0,63
Margárico (17:0)	-	0,22	0,22	0,22
Estearico (18:0)	14,89	1,20	19,53	10,99
Vacênico (18:1) ω -7	-	0,23	2,18	1,01
Petroselínico (18:1) ω -12	27,11	5,65	31,47	25,19
Oleico (18:1) ω -9	2,83	0,61	50,57	21,50
Linoleico (18:2) ω -6	0,73	1,06	35,06	17,54
Gondoico (20:1) ω -9	-	0,08	0,10	0,09
Total de AG saturados	53,99			60,95
Total de AG insaturados	31,03			66,67

O perfil dos ácidos graxos encontrados nas amostras de manteigas de garrafa, apresentou diferenças quando comparadas as encontradas por Clemente et al. (2009). As diferenças ocorreram tanto no perfil dos ácidos graxos saturados, como principalmente no perfil dos ácidos graxos insaturados.

A porcentagem de ácidos graxos *trans* teve média de 1,01% nas 30 amostras pesquisadas. Para a amostra pura, esse valor foi ausente.

O pico para ácido butírico (4:0) não foi detectado em nenhuma das amostras, provavelmente por ter sido eluído juntamente com o pico do solvente utilizado. O mesmo

resultado ocorreu com Clemente et al. (2009), Ambrósio et al. (2001), Ambrósio et al. (2003), Machado; Druzian, (2009), Silva-kazama et al. (2010). Esses ácidos graxos de cadeia curta como o (4:0 e 6:0) estão presentes na gordura do leite e são os principais responsáveis pelo sabor e odor rançoso da manteiga (WALSTRA et al., 1999).

As diferenças encontradas no perfil de ácidos graxos entre as amostras de manteiga de garrafa produzidas no Rio Grande do Norte, sugere que há falta de padronização do processamento, tendo em vista que fatores como o clima, tempo de armazenamento, manejo e a alimentação que os animais recebem podem interferir no perfil de ácidos graxos do leite utilizado para elaboração da manteiga (ALMEIDA, 2008; CLEMENTE et al., 2009).

Em estudo realizado por Silva-Kazama et al. (2010), foi observado que houve mudança no perfil de ácidos graxos da gordura do leite dos animais que foram alimentados com semente de linhaça moída, linhaça inteira e suplementadas com monensina. Houve diminuição na porcentagem de ácidos graxos de cadeia média e aumento da porcentagem de ácidos graxos insaturados, além disso, com o tempo de armazenamento de 45 dias houve aumento nas porcentagens de ácidos graxos saturados (6:0, 8:0, 10:0, 12:0 e 14:0).

Na tabela 3 foi observado que a concentração do ácido linoleico (18:2) teve média de 17,54%. Das 30 amostras avaliadas, 18 (60%) estavam com concentrações acima de 3% para o ácido linoleico, com amostra atingindo percentual de até 35,06% como mostra a tabela 4. Esses valores encontrados sugerem que houve fraude por substituição da gordura láctea por gordura vegetal ou gordura suína, sendo esse tipo de fraude mais comum nesse produto.

Tabela 4. Perfil de ácidos graxos insaturados (% de área do pico) das amostras de manteiga de garrafa pesquisadas.

Amostras	Ácidos Graxos Insaturados (% de área do pico)							
	(10:1) ω -6	(14:1) ω -5	(16:1) ω -7	(18:1) ω -7	(18:1) ω -12	(18:1) ω -9	(18:2) ω -6	(20:1) ω -9
Controle	-	0,36	-	-	27,11	2,83	0,73	-
1	-	0,44	0,37	-	-	27,27	-	-
2	-	0,21	-	-	31,47	1,75	17,30	-
3	-	-	-	-	-	50,42	-	-
4	-	-	-	-	-	42,04	12,67	-
5	0,49	-	-	-	-	0,61	-	-
6	-	-	-	-	22,14	22,14	1,06	-
7	-	0,56	-	-	-	11,57	-	-
8	-	-	-	-	5,65	5,65	-	-
9	-	-	-	-	-	35,00	-	-
10	-	-	-	-	-	38,65	-	-
11	-	-	-	-	-	17,08	1,92	-
12	-	0,67	-	-	-	7,34	-	-
13	-	-	-	-	-	26,96	12,04	-
14	-	0,76	0,94	-	-	27,05	-	-
15	-	0,53	-	-	-	27,15	3,37	-
16	-	-	-	-	26,31	8,22	31,63	-
17	-	0,71	0,77	-	-	23,18	-	-
18	-	-	-	2,18	26,20	25,42	19,37	-
19	0,11	0,55	0,73	-	-	32,09	11,59	-
20	-	0,17	0,24	-	29,57	2,39	35,06	-
21	-	-	-	1,10	27,31	16,87	30,02	0,10
22	-	0,29	0,44	-	29,34	2,48	30,60	-
23	-	0,66	0,95	0,44	-	33,94	4,13	-
24	-	-	-	1,82	-	50,57	18,05	-
25	-	-	-	0,52	-	46,24	3,97	-
26	-	-	-	-	26,38	12,45	27,12	-
27	-	-	-	0,23	28,80	18,12	24,47	0,08
28	-	-	-	-	23,58	7,43	24,38	-
29	-	-	-	1,49	27,97	15,30	22,13	-
30	-	-	-	0,33	22,77	9,64	20,09	-

Os ácidos graxos insaturados do tipo oleico e linoleico estão presentes em elevadas concentrações em óleos vegetais como o óleo de soja, em torno de 23,4 e 53,3%, respectivamente. Já na gordura suína, os ácidos oleico e linoleico apresentam concentração de

40,40 a 12,43%, respectivamente, como determinado pelos autores (SCHERR; RIBEIRO, 2009; FONSECA; GUTIERREZ, 1974).

Elevadas concentrações dos ácidos petroselínico, que é isômero do ácido oleico, ácidos linoleico e oleico sugerem a substituição da gordura animal por gordura vegetal, uma vez que a manteiga de garrafa deve possuir baixo teor de ácido linoleico em sua composição (JENSEN, 2002; RIBEIRO; SERAVALLI, 2007).

A legislação da manteiga de garrafa determina que somente a gordura e/ou proteína de origem láctea devem estar presentes nesse produto (BRASIL, 2001). Assim, sugere-se que houve na maioria das manteigas de garrafa fraude por substituição da gordura animal láctea por gordura vegetal e também por gordura suína, pois apresentaram concentrações acima do esperado para esses ácidos graxos nesse produto lácteo (SCHERR; RIBEIRO, 2009; LEITE, 2018).

Esse tipo de fraude por adição de óleo vegetal e gordura suína ocorre na fusão da manteiga, em que o produtor adiciona o ingrediente não lácteo na concentração variando em até 50%. Essas gorduras apresentam características sensoriais como aroma e sabor bem próximas a da manteiga de garrafa, dessa forma, passando despercebida pelos consumidores e atendendo ao objetivo do produtor que visa o lucro.

Essa prática fraudulenta além de expor a saúde dos consumidores, constitui crime contra as relações de consumo, nos termos do artigo 7, inciso III da Lei nº 8.137/1990, segundo o qual: misturar gêneros e mercadorias de espécies diferentes, para vendê-los ou expô-los à venda como puros; misturar gêneros e mercadorias de qualidades desiguais para vendê-los ou expô-los à venda por preço estabelecido para os demais mais alto custo (BRASIL, 1990).

Além disso, foi observado o teor de ácido graxo *trans* nas manteigas de garrafa. Nesses produtos derivados da gordura do leite de ruminantes esse percentual é medido através do ácido graxo vacênico (18:1), que apresentou média de 1,01%, valor próximo ao encontrado por Almeida (2008). Não foi observado valor para o ácido graxo *trans* elaídico (18:1). Quando esses ácidos graxos *trans* estão presentes na manteiga em elevadas concentrações, são indicadores de que o óleo vegetal foi submetido a longo processo de fritura ou que houve inadequadas condições de armazenamento.

A explicação para tal acontecimento é que as características estruturais dos ácidos graxos *trans* apresentam um ponto de fusão mais elevado ao seu isômero *cis* correspondente e mais próximo aos ácidos graxos saturados em moléculas com mesma quantidade de carbonos. Isso sugere que o processamento da manteiga de garrafa de elevada temperatura parece não contribuir para o aumento desse ácido graxo (MACHADO; DRUZIAN, 2009). Além disso, é

normal que ocorra a variabilidade destes isômeros em manteigas, visto que a constituição da gordura pode ser influenciada por condições locais e sazonais (SOMMERFELD, 1983).

Em 2019, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), publicou a RDC 332/2019 que será implementada de forma gradativa e tem como objetivo limitar o uso de gordura *trans* industrial, ácido linoleico conjugado sintético em alimentos e o total banimento da gordura parcialmente hidrogenada até 2023. Essa medida objetiva a proteção da saúde dos consumidores, já que o consumo elevado dessa gordura favorece o surgimento de problemas cardiovasculares aumentando o risco de morte por essas doenças. Dessa forma, a manteiga se apresenta como sendo uma alternativa para minimizar os ácidos graxos *trans* na alimentação (BRASIL, 2019; MACHADO; DRUZIAN, 2009).

A manteiga de garrafa é um alimento vendido pronto para consumo. É um produto muito relevante para a economia e cultura da região Nordeste e sua comercialização, muitas vezes isenta de fiscalização, torna difícil o conhecimento sobre a adição de ingredientes fraudulentos, data de fabricação, validade e procedência do produto. Dessa forma, levando o consumidor a comprar um produto sem boa procedência e colocando sua saúde em risco.

5.4 CONCLUSÃO

As manteigas de garrafa apresentaram boa qualidade microbiológica. As análises físico-químicas foram suficientes para observar as diferenças que existem entre as amostras nos parâmetros analisados devido a processamentos diferentes na fabricação da manteiga de garrafa, porém, para a gordura foi utilizada a cromatografia gasosa para estudo mais detalhado dos ácidos graxos. A partir desse parâmetro, foi possível verificar elevada concentração de ácido linoleico, o que sugere a substituição da gordura láctea por óleo vegetal e/ou gordura suína.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. P. N. **Efeito do pH na qualidade do queijo de manteiga. Campinas. 2008.** 74 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/255793/1/Almeida_AnaPatriciaNogueira_M.pdf>. Acesso em: 31 jan. 2020.

AMBRÓSIO, C. L. B. et al. Características de identidade, qualidade e estabilidade da manteiga de garrafa. Parte I - Características de identidade e qualidade¹. **Revista da Sociedade**

Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.21, n.3, p.314-320, dez. 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612001000300011>. Acesso em: 31 jan. 2020.

AMBRÓSIO, C. L. B. et al. Características de identidade, qualidade e estabilidade da manteiga de garrafa. Parte II – Estabilidade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, n.3, p.351-354, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612003000300009&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 31 jan. 2020.

ARAÚJO, V. J. A. **Qualidade da manteiga de garrafa comercializada às margens da BR-230 no estado da Paraíba**. 2011. 65f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, 2011.

BRASIL. Portaria nº 146, de 7 de março de 1996. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos. **Diário Oficial República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 11 mar. 1996. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1218>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

BRASIL. Instrução Normativa nº 30 de 26 de junho de 2001. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade de manteiga da terra, queijo de coalho e queijo de manteiga. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 16 jul. 2001. Disponível em: <<https://wp.ufpel.edu.br/inspleite/files/2016/03/Instru%C3%A7%C3%A3o-normativa-n%C2%B0-30-de-26-de-junho-de-2001.pdf>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

BRASIL. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 set. 2003. Seção 1, p. 14. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2851>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Métodos Analíticos Físico-Químicos para Controle de Leite e Produtos Lácteos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, 14 de dezembro de 2006. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=17472>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 332, de 23 de dezembro de 2019. Define os requisitos para uso de gorduras trans industriais em alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, p.97. Brasília: 2019. Disponível em: <https://lex.com.br/legis_27953549_RESOLUCAO_RDC_N_332_DE_23_DE_DEZEMBRO_DE_2019.aspx>. Acesso em: 31 jan. 2020.

BRASIL. CONGRESSO NACIONAL. Lei nº 8.137, de 27 de dezembro de 1990. Define crimes contra a ordem tributária, econômica e contra as relações de consumo, e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 1990. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L8137.htm>. Acesso em: 31 jan. 2020.

CARDOSO, A. L. S. P. et al. Pesquisa de Coliformes Totais e Coliformes Fecais analisados em ovos comerciais no Laboratório de Patologia Avícola de Descalvado. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.68, n.1, p.19-22, 2001. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/docs/arq/V68_1/4.pdf>. Acesso em: 31 jan. 2020.

CARVALHO, C. O.; SERAFINI, A. B. Grupos de microrganismos isolados da orofaringe, nasofaringe e das mãos dos trabalhadores do restaurante da Universidade Federal de Goiás. **Higiene Alimentar**. v.10, p.19–24, 1996. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v57n6/28769.pdf>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

CLEMENTE, M. G.; ABREU, L. R. Caracterização química, físico-química e rancidez oxidativa de manteiga de garrafa. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n.2, p.493-6, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v32n2/23.pdf>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

CLEMENTE, M. G. et al. Perfil dos ácidos graxos de “manteigas de garrafa” produzidas na região de Salinas – Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.33, n.6, p. 1615-1620, nov./dez. 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542009000600022&lng=en&nrm=iso&tlng=en>. Acesso em: 12 fev. 2020.

FONSECA, H.; GUTIERREZ, L. E. Composição em ácidos graxos de óleos vegetais e gorduras animais. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, São Paulo, v.31, p. 485-490, jan. 1974. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0071-12761974000100038&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 31 jan. 2020.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança Alimentar**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**, 4 ed., 1 ed.Digital. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

JENSEN, R. G. A composição dos lipídeos do leite bovino: janeiro de 1995 a dezembro de 2000. **Journal of Dairy Science**. v.85, n.2, p.295-350, fev, 2002. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030202740794>>. Acesso em: 31 jan.2020.

LEITE, A. I. N. **Autenticidade do queijo de manteiga do Seridó por espectroscopia no infravermelho**. 2018. 95 f. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Juiz de Fora, Programa de Pós-Graduação, Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, Juiz de Fora, 2018. Disponível em: <<http://www.ufjf.br/mestradoleite/files/2019/03/Disserta%C3%A7%C3%A3o-Final3.pdf>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

MACHADO, B. A. S.; DRUZIAN, J. I. Análise da estabilidade e da composição em ácidos graxos em manteiga de garrafa produzida artesanalmente. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.68, n. 2, p. 201-208, 2009. Disponível em: <<https://pdfs.semanticscholar.org/c1d5/c28555c0e1dbc81128dab35958c66890aabf.pdf>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

NASSU, R.T. et al. Diagnóstico das condições de processamento de queijo de coalho e manteiga da terra no estado do Ceará. **Higiene alimentar**, v.15, n.89, p.28-36, 2001. Disponível em: <<http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=BR20011425893>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

NASSU, T. R.; LIMA, J. R. Estabilidade oxidativa da manteiga da terra acondicionada em diferentes embalagens. **Revista Ciência Agronômica**. v.35, n.1, p.110-115, 2004. Disponível em: <<https://docplayer.com.br/18750337-Estabilidade-oxidativa-de-manteiga-da-terra-acondicionada-em-diferentes-embalagens-1.html>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

PEREIRA, D. A. et al. Manteiga de garrafa: análise e composição. Rio de Janeiro: EMBRAPA/CTAA, 1986. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/156806/1/cp90001.pdf>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Blucher, 2007.

RIO GRANDE DO NORTE (Estado). Lei nº 10.230, de 07 de agosto de 2017. Dispõe sobre a produção e a comercialização de queijos e manteiga artesanais do Rio Grande do Norte - Lei Nivardo Mello. **Diário Oficial do Estado do Rio Grande do Norte**, Natal: Assembleia Legislativa, 08 de agosto de 2017. Disponível em: <http://www.diariooficial.rn.gov.br/dei/dorn3/docview.aspx?id_jor=00000001&data=20180127&id_doc=598582>. Acesso em: 31 jan. 2020.

SANTOS, E. C.; GENIGEORGI, R. Potential for presence and growth os *Sthaphylococcus aureus* in brasilian minas cheese whey. **Journal Food Protect**, v.44, p.185-188, 1981. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30836485>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

SCHERR, C.; RIBEIRO, J. P. Gorduras em Laticínios, Ovos, Margarinas e Óleos: Implicações para a Aterosclerose. **ABC Cardiol Journal of Brazilian Society of Cardiology**. v.95, n.1, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abc/v95n1/aop07310.pdf>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

SIMÕES, L. S. **Extração e caracterização de oleorresina de *Capsicum* obtida a partir de pimentas malagueta (*Capsicum frutescens*) e dedo-de-moça (*Capsicum baccatum var.pendulum*)**. 63 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Viçosa-MG, 2014. Disponível em: <<https://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/6403/texto%20completo.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

SILVA-KAZAMA, D. C. D. et al. Effect of storage on fatty acid profile of butter from cows fed whole or ground flaxseed with or without monensin. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.10, p.2297-2303, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbz/v39n10/28.pdf>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

SOARES, K. M. P. et al. Avaliação da qualidade microbiológica de manteigas de garrafa comercializadas no município de Mossoró, RN. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.3, n.3, p.143-146, 2009. Disponível em: <

<https://periodicos.ufersa.edu.br/index.php/acta/article/view/1377/760>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

SOMMERFELD, M. Trans unsaturated fatty acids in natural products and processed foods. **Progress in Lipid Research**, v. 22, p. 221-233, 1983. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0163782783900103>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

SOUSA, M. S. et al. Qualidade microbiológica de manteigas comercializadas em Viçosa (MG). **Anais V SIMPAC**, v.5, n.1, p.531-536, jan./dez. 2013. Disponível em: < <https://academico.univicoso.com.br/revista/index.php/RevistaSimpac/article/view/160/319>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

VAZ, L. P. **Caracterização físico-química e sensorial de manteiga da terra durante armazenamento controlado**. 2015. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2015. Disponível em: < <https://repositorio.ufpb.br/jspui/bitstream/tede/7927/2/arquivototal.pdf>>. Acesso em: 31 jan. 2020.

WALSTRA, P. et al. **Dairy technology – Principles of milk properties and processes**. New York: Marcel Dekker, 1999. 752 p.