

REVISTA
do
INSTITUTO
DE
LATICÍNIOS
"CÂNDIDO
TOSTES"

DAIRY JOURNAL Bimonthly
Published By THE "CÂNDIDO
TOSTES" DAIRY INSTITUTE

Nº 301-302-303 JUIZ DE FORA, JAN/JUN DE 1998 VOL. 53

GOVERNO DO ESTADO DE MINAS GERAIS
SISTEMA OPERACIONAL DE AGRICULTURA
EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DE MINAS GERAIS
CENTRO TECNOLÓGICO
INSTITUTO DE LATICÍNIOS "CÂNDIDO TOSTES"





Grandes compositores clássicos são conhecidos pelo que criam. A genialidade provém da ruptura com tradições, da inteligência de não seguir os passos alheios e da criação de resultados práticos únicos. Como os grandes compositores, a Chr. Hansen aperfeiçoa as possibilidades que a natureza coloca à disposição

- culturas lácticas do mundo inteiro - para assegurar a produção de melhores produtos lácteos. A Chr. Hansen sempre conduziu a batuta sobre o desenvolvimento de culturas lácticas. Com "know-how" e técnicos experientes podemos ajudá-lo a manter a posição de liderança em seu mercado.



Entre em contato por telefone ou fax para maiores informações.

Chr. Hansen Ind. e Com. Ltda.
Caixa postal 371
13276-970 - Valinhos-SP
Fone: (019) 881-1488
Fax: (019) 881-1266

CHR HANSEN

Revelando o melhor

REVISTA DO INSTITUTO DE LATICÍNIOS "CÂNDIDO TOSTES"

DAIRY JOURNAL
BIMONTHLY PUBLISHED BY THE
"CÂNDIDO TOSTES" - DAIRY INSTITUTE

ÍNDICE - CONTENT

- 1 Bactérias Propiônicas. Antônio Fernandes de Carvalho; Célia Lúcia de Luces Fortes Ferreira; Otacílio Lopes Vargas 3
- 2 Características de origens para os queijos naturais de Minas Gerais: Municípios do Serro e de São Roque. Otacílio Lopes Vargas; Márcia Aparecida Crivelari Porto; Alcy Laender de Brito 19
- 3 Efeito da concentração de cloreto de sódio nas características sensoriais do queijo Minas Frescal. Effect of Sodium Chloride Concentration on Minas Frescal Cheese Sensorial Characteristics. Jacira dos Santos Isepon; Antonio Joaquim Oliveira 50
- 4 Influência do tipo de salga nas características físico-químicas e aceitabilidade do queijo Minas Frescal. Influence of the Type of Salting on the Physicochemical Characteristics and Acceptability of the Minas Frescal Cheese. Catia Alexandra Batista da Silva; Jacira dos Santos Isepon 57
- 5 Detecção de resíduos de antibiótico em leite comercializado na cidade de Campinas. Detection of antibiotic residues in milk commercialized in Campinas. Lopes, L.T.; Gandara, A.L.N.; Cristianini, M 64
- 6 Utilização do coalho bovino e coagulantes microbiano e genético na proteólise e durabilidade do queijo Minas Frescal. Daise Aparecida Rossi; Luiz Ronaldo de Abreu; Múcio Mansur Furtado; Celso José de Moura; Fernando A. R. Magalhães 75
- 7 Sobre a Coagulação do leite (revisão). Daise Aparecida Rossi; Luiz Ronaldo de Abreu; Múcio Mansur Furtado; Celso José de Moura 85

Rev. Inst. Latic. "Cândido Tostes" - Juiz de Fora - Vol. 53 (301-302-303); 1-93 - Jan/Jun de 1998

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DE MINAS GERAIS

Centro Tecnológico
Instituto de Laticínios "Cândido Tostes"
Revistas Especiais números 302, 302 e 303

Endereço: Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes"
Tel.: 224-3116 - DDD: 032 / Fax: 224-3113 - DDD 032
Cx. Postal: 183 - 36.045-560 - Juiz de Fora - Minas Gerais - Brasil

BIBLIOTECA
CADASTRO / MICRO
Funcionário

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DE MINAS GERAIS

- EPAMIG -

DIRETORIA EXECUTIVA

Presidente
Guy Torres

Chefe do CEPE/ILCT
Geraldo Alvim Dusi

Editor
Luiza Carvalhaes Albuquerque

Revisor Técnico
Otacílio Lopes Vargas

Área de Divulgação/Redação
Luiza Carvalhaes de Albuquerque

Editoração Eletrônica
Templo Editoração (032) 217-0283

Impressão
Concorde Editora Gráfica Ltda
(032) 215-8510

Juiz de Fora, Julho de 1998

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DE MINAS GERAIS
- EPAMIG -

Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", n. 1 - 1946 - Juiz de Fora. Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", 1946.

v. ilust. 23 cm

n. 1-19 (1946-48), 27 cm, com nome de Felctiano, n. 20-73 (1948-57), 23 cm, com o nome de Felctiano.

A partir de setembro de 1958, com o nome de Revista do Instituto de Laticínios "Cândido Tostes".

1. Zootecnia - Brasil - Periódicos. 2. Laticínios - Brasil - Periódicos
1. Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, Juiz de Fora, MG, ed.

ISSN 0100-3674

CDU 636/637(81)(50)

BACTÉRIAS PROPIÔNICAS

Antônio Fernandes de Carvalho¹
Célia Lúcia de Luces Fortes Ferreira²
Otacílio Lopes Vargas³

RESUMO

As bactérias propiônicas são constituintes de um grupo importante de bactérias de interesse industrial além de serem constituintes normais do ecossistema microbiano da pele humana. Embora algumas espécies possam ser patogênicas, causar acidentes de fermentação ou causar defeitos de textura em alimentos, a maioria é de interesse industrial principalmente por terem um papel fundamental na maturação de queijos tipo suíço ou na produção de ácido propiônico. Estas bactérias propiônicas de interesse industrial são conhecidas como bactérias propiônicas clássicas. As propionibactérias são anaeróbias, mas possuem citocromos e enzimas características de vias aeróbias. Juntamente com as bactérias lácticas são responsáveis pelo sabor adocicado característico dos queijos tipo suíço. Este grupo bacteriano tem como característica metabolizar o aspartato ao mesmo tempo que os lactatos, modificando assim a relação propionato/acetato no queijo.

1. INTRODUÇÃO

As bactérias propiônicas de interesse para a indústria de laticínios são conhecidas como bactérias propiônicas clássicas. As primeiras pesquisas sobre os microrganismos responsáveis pela formação de olhaduras nos queijos tipo suíço foram realizadas por von Freudenreichii e Orla-Jensen no fim do século XIX. Alguns trabalhos anteriores (Fitz, 1878) mostravam que certos organismos eram capazes de fermentar lactatos produzindo ácido propiônico, acetato e liberando CO₂. O nome *Propionibacterium* foi sugerido por Orla-Jensen (1909) para bactérias presentes em queijos tipo suíço de massa prensada e cozida, pela elevada produção de ácido propiônico durante seu crescimento.

Segundo a classificação da 9ª edição do *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Holt, et al., 1994), as bactérias propiônicas se dividem em dois grupos segundo o nicho ecológico: i) bactérias propiônicas ligadas à pele e implicadas na patologia do acne; ii) bactérias propiônicas clássicas, conhecidas como de interesse industrial, principalmente na indústria de laticínios.

As bactérias propiônicas clássicas são hoje estudadas pelo seu papel na maturação dos queijos de massa prensada e cozida, tipo suíço, sendo responsáveis pela textura típica apresentando olhaduras

abundantes, lisas e regulares. Nos queijos as bactérias propiônicas produzem entre outros metabólitos os ácidos propiônico e acético, liberam prolina e CO₂, que contribuem para o "flavor" e para a formação das olhaduras características. É também de importância industrial a produção do ácido propiônico, metabólito antifúngico, principalmente empregado na indústria de panificação e em silagens.

Entre as capacidades biossintéticas das bactérias propiônicas estão a produção de vitamina B12, bacteriocinas, polissacarídeos e fermentação de certos vegetais. As propionibactérias são também utilizadas como probióticas e têm atividades anticarcinogênicas já evidenciadas (Mantere-Alhonen, 1996).

Johnson e Cummins (1972) demonstraram que certas linhagens de microrganismos corineiformes anaeróbios, isolados da pele humana, tinham diversos pontos em comum com as linhagens isoladas na indústria de laticínios. Estas foram classificadas por Moore e Holdman (1974) no gênero *Propionibacterium* como grupo de interesse médico ou grupo acnes (*P. acnes*). Nesta revisão será dada ênfase ao grupo de bactérias propiônicas clássicas, ou seja, isoladas de leite e produtos lácteos.

O interesse no estudo das propionibactérias clássicas foi descrito por Wood (1981) que enumerou algumas características importantes destas bactérias:

- ¹ Recém Doutor pelo CNPq no Laboratório de Culturas Lácticas, BIOAGRO, Universidade Federal de Viçosa, Av. P. H. Rolfs, s/n - 36571-000 - Viçosa - Minas Gerais.
- ² Professora do Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Av. P. H. Rolfs, s/n - 36751-000 - Viçosa - Minas Gerais.
- ³ Pesquisador do Centro de Ensino e Pesquisa Instituto de Laticínios Cândido Toestes, Rua Tenente Freitas, 116 - 36045-560 - Juiz de Fora - Minas Gerais.

i) Apresentam rendimento energético (g de biomassa/mol de glicose) elevado, resultado da utilização das ligações fosfato sob diferentes formas moleculares, e em particular da capacidade de fosforilar a glicose utilizando os piro- e os polifosfatos; ii) No processo fermentativo a bactéria propiônica utiliza duas enzimas com propriedades interessantes: a metil malonil CoA mutase que catalisa, em presença da coenzima B12, a isomerização do succinil CoA, e a metil malonil oxaloacetato transcarboxilase; iii) A produção de vitamina B12 por bactérias deste gênero permitiu estabelecer o esquema, atualmente completo, da síntese desta vitamina. Industrialmente as bactérias propiônicas foram substituídas por outros microrganismos mais adequados (*Pseudomonas*, *Actinomicetos*), mas a utilização destas ainda não foi totalmente abolida; iv) São importantes na maturação de queijos de massa prensada e cozida como Emmental, Gruyère, Comté. A produção de CO₂, nestes queijos, provoca a formação de olhaduras, onde suas dimensões e a distribuição são fatores importantes na apreciação destes produtos. São também responsáveis, juntamente com as bactérias lácticas, pelo sabor característico destes queijos, particularmente pelo acúmulo de pentoses e prolina livre.

De acordo com "Approved Lists of Bacterial Names" (Sherman, *et al.*, 1989) as bactérias propiônicas do leite comportam atualmente quatro espécies, entre onze descritas na 7ª edição do Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (van Niel, 1957) (Tabela 1): *P. freudenreichii* subsp *freudenreichii* e subsp *shermanii*, *P. jensenii*, *P. thoenii* e *P. acidipropionici*. Elas distinguem-se entre si por seus perfis de fermentação, assim como por suas características morfológicas e fisiológicas (Tabela 2) (Cummins e Johnson, 1986).

As bactérias propiônicas são Gram positivas, imóveis, pleomorfas, muitas vezes apresentam-se como pequenos bastões ovóides, isoladas, em pares, em cadeias ou em aglomerados conhecidos como "escrita chinesa". São anaeróbias a aerotolerantes, geralmente catalase positivas, formam colônias redondas com coloração variando entre o branco, creme, amarelo-laranja e vermelho. Certas estirpes sintetizam polissacarídeos (Cerning, 1995).

A taxonomia do gênero *Propionibacterium* se encontra em plena evolução, colocando atualmente em jogo novas técnicas taxonômicas utilizadas para a classificação e identificação das estirpes: taxonomia numérica (Malik *et al.*, 1968, Britz e Riedel, 1991), perfil de proteínas (Baer, 1987; Riedel e Britz, 1992), perfil genômico pelo sequenciamento do ARN 16S (Charfreitag e Stackebrandt, 1989, de Carvalho *et al.*, 1995), perfil de proteínas (Baer e Ryba, 1991), ribotipagem (de Carvalho *et al.*, 1994), RAPD (Random Amplified

TABELA 1 - Evolução taxonômica das espécies clássicas do gênero *Propionibacterium*, descrita por diferentes autores, no Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.

Bergey's Manual Holt <i>et al.</i> 1994	Bergey's Manual van Niel, 1957
<i>P. freudenreichii</i> subsp. <i>freudenreichii</i> subsp. <i>shermanii</i>	<i>P. freudenreichii</i> " <i>P. shermanii</i> "
<i>P. jensenii</i>	<i>P. jensenii</i> " <i>P. zeae</i> " " <i>P. technicum</i> " " <i>P. raffinoseum</i> " " <i>P. peterssonii</i> "
<i>P. thoenii</i>	<i>P. thoenii</i> " <i>P. rubrum</i> "
<i>P. acidipropionici</i>	" <i>P. arabinosum</i> " " <i>P. pentosaceum</i> "

" " Espécies que foram reclassificadas.

Polimorphic DNA) (de Carvalho, 1994) e PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis) (de Carvalho, 1994, Gautier *et al.*, 1996).

2. PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS GENÉRICAS

A taxonomia deste gênero evoluiu desde 1928 quando van Niel publicou "The propionic acid bacteria" classificando, pela primeira vez, as espécies segundo a nomenclatura binária. A principal dificuldade encontrada na identificação empregando perfis fermentativos é a variação observada entre as estirpes da mesma espécie. As bactérias propiônicas apresentam também uma variação em relação as condições do meio, temperatura e tensão de oxigênio, dificultando ainda a sua identificação.

Segundo Cummins e Johnson (1991) elas são quimiorganotróficas, anaeróbias facultativas, Gram positivas, não esporulantes, imóveis, catalase positivas e produzem ácido propiônico como principal produto do metabolismo de carboidratos. A parede celular da espécie *P. freudenreichii* é constituída de ácido meso-diaminopimélico e das outras espécies de ácido L-diaminopimélico. O peptídeo-glucano da espécie *P. freudenreichii* contém quantidade importante de galactose ou de glicose e o das outras espécies, manose e ramnose (Cummins e Johnson, 1986).

TABELA 2 - Características fenotípicas e porcentagem de guanina e citosina (GC%) de *Propionibacterium* de interesse industrial (segundo Cummins e Johnson, 1986)

Fonte de carbono	<i>P. freudenreichii</i>	<i>P. jensenii</i>	<i>P. thoenii</i>	<i>P. acidipropionici</i>
Adonitol	d+	d+	d+	+
Amido	-	-	+	+
Amidalina	-	d+	d+	-
Arabinose	+	-	-	+
Celobiose	-	d-	-	+
Dulcitol	-	-	-	-
Eritritol	+	+	d+	+
Esculina	-	-	+	d+
Frutose	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+
Glicose	+	+	+	+
Glicerol	+	+	+	+
Glicogênio	-	-	d+	-
Inositol	d+	d+	d+	+
Inulina	-	-	-	-
Lactose	d-	d+	d-	+
Maltose	-	d+	d+	+
Manitol	-	+	-	+
Manose	+	+	+	+
Melezitose	-	d+	d+	+
Melibiose	d-	+	d+	d+
Rafinose	-	d+	d+	d-
Ramnose	-	-	-	+
Ribose	d+	+	+	+
Sacarose	-	+	d+	+
Salicina	-	+	d+	+
Sorbitol	-	-	d+	+
Sorbose	-	-	-	d+
Trealose	-	+	+	+
Xilose	-	d+	d+	d+
hidrólise da esculina	+	+	+	+
hidrólise da gelatina	-	-	-	-
produção de indol	-	-	-	-
redução do nitrato	d	-	-	+
catalase	+	d+	+	d+
β-hemólise	-	-	+	-
cor do pigmento	creme	creme	vermelho	creme a laranja
isômeros do ácido diaminopimélico	meso	L	L	L
GC %	65+/-0,97	67+/-1,07	66+/-0,50	67+/-0,84

Símbolos: + (ou -): reação positiva (ou negativa) para 90 a 100% das estirpes; d: reação positiva para 40 a 89% das estirpes; d+ (ou d-): reação positiva (ou negativa) para 10 a 40% das estirpes; uma reação positiva se traduz por um pH inferior a 5,7.

A morfologia é variável de formas arredondadas a bastonetes mais ou menos alongados, com 0,5 a 0,8 µm de largura e 1 a 5 µm de comprimento (Figura 1). As colônias são geralmente circulares, convexas, semiopacas, de cor branca, creme, cinza, laranja e vermelha (de Carvalho, 1994).

As propionibactérias do leite distinguem-se das que crescem sobre a pele por uma porcentagem em G + C superior: 64 a 67 % (propionibactéria clássica) ao passo que as da pele possuem uma porcentagem de 58 a 60 % (propionibactéria da pele); por uma tendência a crescer a pH inferiores: 4,4 a 4,9 (propionibactéria clássica) e 4,8 a 5,8 (propionibactéria da pele). Não hidrolisam a gelatina mas algumas são capazes de coagular o leite.

Além de serem componentes de produtos lácteos, as bactérias propiônicas de interesse industrial são encontradas em outros habitats como solo, pastagens e silagens (Cummins e Jonhson, 1991). Algumas estirpes pertencentes a este gênero são também responsáveis por defeitos em queijos tipo Gouda (Britz e Jordaan, 1976) e Mussarela (Champagne e Lange, 1990). Estirpes pigmentadas podem ser isoladas de queijos tipo suíço que apresentam o defeito conhecido como "red-spotting" (Baer e Ryba, 1992). Bactérias propiônicas são também isoladas em indústrias de azeitona, onde causam problemas na fermentação (Vaughn, 1981).

3. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DAS BACTÉRIAS PROPIÔNICAS

3.1. Temperatura

As bactérias propiônicas do leite podem crescer entre 15 e 40 °C. A temperatura ótima de crescimento varia entre 30°C para Hettinga e Reinbold (1972) e 32°C para Malik *et al.* (1968).

Segundo Malik *et al.* (1968) *P. freudenreichii* diferencia-se das outras espécies pela resistência ao tratamento térmico. Esta espécie suporta um tratamento de 62,8°C durante 30 minutos, não sendo destruída pelo aquecimento durante a fabricação de queijos de massa prensada cozida (45°C por 30 min).

Certas estirpes são capazes de crescer no meio extrato de levedura lactato de sódio (yeast extract lactate, Malik *et al.*, 1968) a temperaturas compreendidas entre 2,8 a 7,2°C se o período de incubação for de 4 meses. Segundo Park *et al.* (1967) a espécie *P. freudenreichii* caracteriza-se por um melhor crescimento a baixas temperaturas, pois a 7,2°C no meio contendo lactato de sódio, 80% das estirpes

de *P. thoenii* e 25% de *P. acidipropionici* têm a capacidade de crescer a esta temperatura.

Defeitos de textura foram constatados em 75% dos queijos fabricados com estirpes de *P. freudenreichii* que possuem a capacidade de crescimento a baixas temperaturas (3,8 e 6,8°C) (Hettinga *et al.*, 1974). Esses defeitos ocorrem em consequência da produção excessiva de CO₂ durante a fermentação propiônica nas câmaras frias (Hettinga *et al.*, 1975, Vassal e Auclair, 1978). De acordo com Hoefherr *et al.*, 1983 a capacidade das estirpes de *P. freudenreichii* de se multiplicarem a baixas temperaturas está ligada ao teor de isômeros dos ácidos graxos ramificados da membrana, principalmente C₁₅ e C₁₇ que permite abaixar a temperatura de solidificação da camada lipídica da membrana.

A temperatura máxima para produção de corrinóides (precursor de vit B₁₂) determinado para *P. freudenreichii* subsp. *shermanii* situa-se geralmente entre 18 e 27°C durante 16 dias tempo e esta temperatura correspondem à maturação do queijo Emmental na câmara quente.

3.2. pH

As espécies clássicas de *Propionibacterium* têm um pH ótimo de crescimento que varia entre 6,5 e 7,0, podendo suportar o pH de 5,1 a 8,5. Estas bactérias são sensíveis à concentrações elevadas de ácido propiônico. Este efeito é mais importante quando a concentração de ácido láctico no meio é mais elevada (Namba *et al.*, 1983).

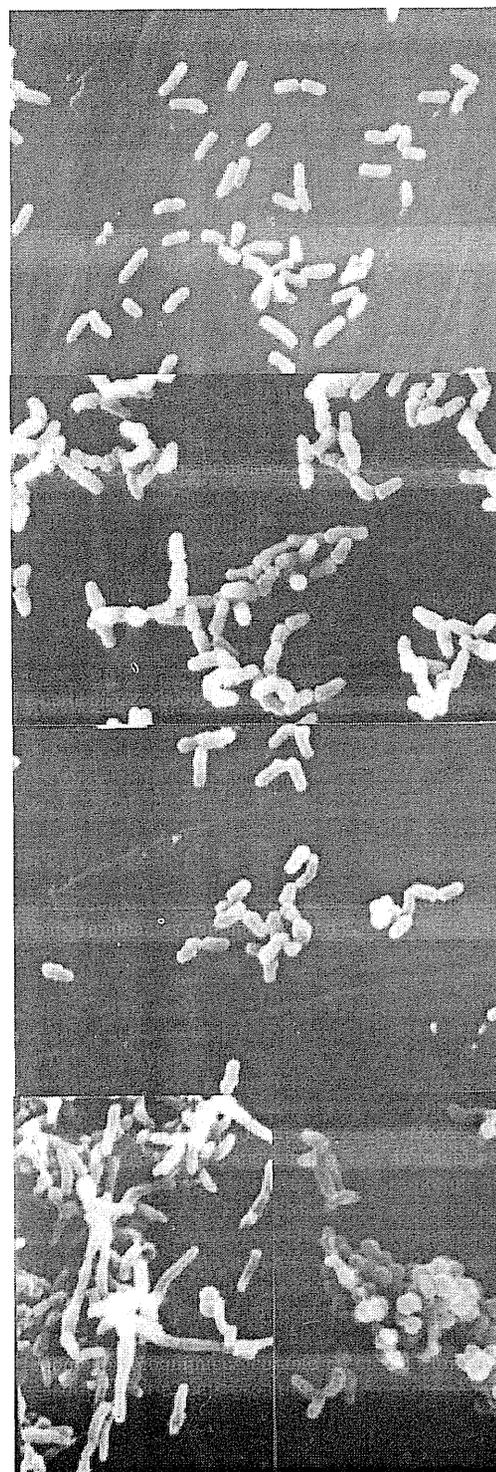
O pH de um queijo, 24 horas após a fabricação, não é favorável ao desenvolvimento de propionibactéria. As operações influenciando o pH, levando a formação de ácido láctico têm um efeito indireto na fermentação propiônica. A quantidade de células de *P. freudenreichii* aumenta na massa do queijo de 10⁶ a 10⁹ UFC/g em 30 dias estando o pH em 5,37 na maturação do queijo. Num pH de 5,21 o mesmo número de células é atingido em 40 dias (Fryer e Peberdy, 1977).

3.3. Influência do cloreto de sódio

A maioria das propionibactérias clássicas não suporta uma concentração de NaCl superior a 3%. O nível máximo de tolerância é de 4,5% em meio YEL (Reinbold 1985). A sensibilidade ao sal das propionibactérias é inversamente dependente do pH (Langsrud e Reinbold, 1973).

O teor de sal inferior a 0,58% nos queijos pode favorecer o crescimento excessivo das bactérias propiônicas, podendo provocar defeitos de textura devido à fermentação propiônica intensa (Maurer e Stock, 1978). As propionibactérias crescem mais lentamente na zona periférica do queijo em

FIGURA 1 - Microscopia eletrônica a varredura das estirpes tipo de bactérias propiônicas oriundas da coleção TL (Tecnologie Laitière, INRA, Rennes, França) (de Carvalho, 1994).



TL 33^T
P. freudenreichii subsp.
freudenreichii

TL 35^T
P. jensenii

TL 36^T
P. thoenii

TL 33^T
P. acidipropionici

consequência da diferença do gradiente de sal de 0,8 a 0,4% da periferia ao centro do queijo e independentemente do aumento de potencial de óxido-redução do meio (Mocquot, 1979).

4. NECESSIDADES NUTRICIONAIS

Segundo Delwiche (1946), o gênero *Propionibacterium* pode ser considerado como quimiorganotrófico excetuando a necessidade em biotina e ácido pantotênico que são os fatores de crescimento indispensáveis (Glatz, 1992). A biotina é importante nas reações de transcarboxilação para a produção de ácido propiônico. Certas estirpes necessitam também de tiamina para se desenvolver (Reinbold, 1985). A adição de aminoácidos tem efeitos estimulantes sobre o seu crescimento e metabolismo celular (Brendehaug e Langsrud, 1982).

As propionibactérias consomem preferencialmente o ácido láctico na forma isomérica L(+) (Crow, 1986). A cultura em um meio suplementado com este resulta em aumento da biomassa para as espécies *P. acidipropionici*, *P. jensenii* e *P. thoenii* em relação a um meio com lactato (Babuchowski *et al.*, 1987).

Quando comparado às bactérias lácticas, as propionibactérias parecem ser pouco exigentes quanto à sua necessidade de nitrogênio. Elas podem sintetizar os aminoácidos, tais como alanina, valina, serina, tirosina, ácido aspártico, ácido glutâmico, arginina, cisteína e metionina (Antila, 1956). Elas são também capazes de se desenvolver em um meio contendo sulfato de amônia como única fonte de nitrogênio (Wood *et al.*, 1938).

As bactérias propiônicas podem se desenvolver em variadas fontes de carbono como em presença de açúcares (glucose, frutose, galactose e outros), ácidos orgânicos (lactato e citrato) ou em presença de álcoois como o glicerol, eritritol, adonitol (Tabela 2).

As produções de CO₂ e propionato são geralmente aumentadas com a suplementação de manganês, magnésio e ferro, entretanto a fermentação do lactato é acelerada pela presença de cobalto e de potássio. A adição de íons de zinco, manganês e magnésio ao soro, como meio de crescimento, favorece a produção de biomassa de *P. freudenreichii*. O cobre, pelo contrário, é sempre descrito como um inibidor (Naud *et al.*, 1992).

5. MEIOS SELETIVOS

As bactérias propiônicas clássicas são difíceis de serem isoladas pois crescem lentamente, em um tempo de geração médio de 4 a 10 horas, da estirpe. O número médio de bac-

térias propiônicas presentes no leite cru é variável em diferentes regiões. Thierry e Madec (1995) encontraram um número de bactérias propiônicas no leite variando de menos de 10 ufc/ml até 10⁴ ufc/ml em diferentes regiões da França.

O meio de cultura deve proporcionar condições ideais para o crescimento das bactérias propiônicas inibindo o crescimento das bactérias lácticas: *Lactococcus Streptococcus*, *Vagococcus*, *Eptercoccus*, *Pediococcus*, *Aerococcus*, *Leuconostoc*, *Tetragenococcus*, *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Atopobium*, *Bifidobacterium* (Dellaglio *et al.*, 1994), que se desenvolvem mais rápido. O primeiro fator para limitar o crescimento de certas bactérias lácticas é a diminuição do potencial de oxiredução, pois este favorece o crescimento das propionibactérias.

Dois meios seletivos foram desenvolvidos a partir do meio YEL (yeast extract lactate) desenvolvido por Malik *et al.* (1968): i) trypticase lactate agar (TLA) e ii) ammonium sulfate lactate agar (ASLA) (Peberdy e Fryer, 1976). O primeiro é seletivo para a maioria dos gêneros de bactérias lácticas, mas permite o crescimento de *Lactobacillus* spp., *Pediococcus* e *Clostridium*. O meio ASLA, considerado mais seletivo, inibe o crescimento da maioria das estirpes de outros gêneros bacterianos que acompanham as propionibactérias nos alimentos, mas ele inibe também o crescimento de 30% das estirpes de bactérias propiônicas testadas. Uma suplementação do meio YEL com cloxacilina, limita o crescimento de *Lactobacillus* e *Leuconostoc*, e melhora o isolamento da maioria das estirpes de *Propionibacterium* spp. presentes no queijo (Dinan e Cogan, 1992).

Thierry *et al.* (1994) compararam dois meios para a contagem de bactérias propiônicas a partir do queijo: YEL e lithium glicerol agar (LGA). O meio LGA permite isolar mais facilmente estas bactérias de um meio policontaminado pois tem a mesma seletividade do YEL dando uma contagem total inferior de 1 a 2 logaritmos decimais. O meio PROPIOBAC (Standa-Industrie, Caen, França), desenvolvido por Madec *et al.* (1994) contém, como o meio LGA, o lactato de lítio e o glicerol. A seletividade deste foi aumentada pela adição de um coquetel de antibióticos.

6. CARACTERÍSTICAS METABÓLICAS

As particularidades do metabolismo das bactérias propiônicas clássicas foram o assunto, nos anos 70 e 80, da quase totalidade dos artigos sobre este gênero bacteriano. A presente revisão sobre o metabolismo de bactérias propiônicas está dire-

cionada a certas características importantes na utilização destas bactérias na indústria de queijos.

6.1. Crescimento em anaerobiose

As *Propionibacterium* spp. mesmo que anaeróbias são capazes de multiplicar-se em presença de oxigênio (Canzi *et al.*, 1993). Até os anos 70, estas foram consideradas como organismos anaeróbios. Posteriormente vários trabalhos mostraram a sua capacidade de metabolizar aerobicamente. De Vries *et al.* (1972) estabeleceram, para *P. freudenreichii*, a implicação de citocromos b e c na transferência de elétrons em anaerobiose e observaram a inibição da atividade lactato desidrogenase por inibidores bloqueando a oxidação do citocromo b. Estes autores mostraram que os citocromos a e b são reoxidados no momento da redução do ácido fumárico em ácido succínico, mas observa-se uma repressão da síntese de 60 a 70% dos citocromos b e c em presença de oxigênio. Sone (1972, 1973) confirma a intervenção destas coenzimas na redução do fumarato, no entanto observa que, para a espécie *P. acidipropionici*, a oxidação do lactato não era inibida em presença de oxigênio.

Pritchard e Amundson (1980) demonstraram a existência do citocromo d, característico de vias aeróbias. Estes autores evidenciaram dois tipos de citocromos d: com elevado potencial de oxiredução para a transferência em aerobiose e um outro tipo, com potencial mais fraco, para a transferência de elétrons em anaerobiose em presença de ácido fumárico.

A presença de enzimas do ciclo de Krebs foi demonstrada para *P. freudenreichii* subsp. *shermanii* e para *P. jensenii* por Bonartseva *et al.* (1973). *P. freudenreichii* subsp. *shermanii* manifesta um efeito Pasteur se caracterizando por uma diminuição de 60% do consumo de glucose em aerobiose, efeito reversível se as culturas forem recolocadas em anaerobiose (Schwartz *et al.*, 1976). Em aerobiose *P. freudenreichii* e *P. acidipropionici* não produzem ácido propiônico mas simplesmente ácido acético (Pritchard *et al.*, 1977 e Arnoux, 1991), mas o rendimento biomassa/substrato é três vezes mais elevado do que em anaerobiose com o lactato e a glicose, resultando numa melhor oxidação dos substratos. Em anaerobiose os citocromos a e d, que não participam mais na transferência de elétrons, têm sua síntese reduzida em 70% (Pritchard *et al.*, 1977).

6.2. Fermentação propiônica

O catabolismo da glucose pelas bactérias propiônicas utiliza a via de Embden-Meyerhof-Parnas. Estas bactérias podem também fermentar diretamente o lactato, preferencialmente o lactato L(+), com a formação de piruvato (Crow, 1986). A partir do piruvato estes organismos podem formar

acetato por uma via bioquímica que produz 1 mol de CO₂ e 1 mol de ATP por mol de acetato. Pela reação de transcarboxilação ocorre a conversão do piruvato para oxaloacetato, posteriormente sendo convertido para succinato utilizando as enzimas da via dos ácidos dicarboxílicos. A Figura 2 mostra o esquema complexo para a fermentação propiônica *sensu stricto*. As reações descritas têm sentido duplo.

A enzima piruvato oxidase de *P. freudenreichii* subsp. *shermanii* não necessita de um cofator. Esta enzima não está associada a piruvato desidrogenase que, por outro lado, necessita do magnésio e da tiamina. Não se trata de um complexo enzimático como para outras bactérias (Crow, 1986). Esta estirpe possui uma piruvato decarboxylase independente do magnésio e da tiamina pirofosfato, responsáveis pela produção de CO₂ a partir da piruvato (Brendehaug e Langsrud, 1982).

Os doadores de grupamentos fosfatos, nas propionibactérias, são os polifosfatos no lugar do ATP para a fosfoglucoquinase, e polifosfatos inorgânicos no lugar do ATP para a fosfofrutoquinase e a carboxitransfosforilase (Wood, 1985).

6.3. Metabolismo do aspartato

Este grupo bacteriano utiliza ao mesmo tempo o aspartato e o lactato. Segundo Crow (1986), pode-se observar até 70% de degradação do aspartato presente em um meio como o queijo durante a fermentação do lactato. No entanto num meio sintético esta utilização não passa de 10%.

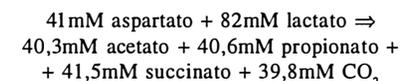
O metabolismo do aspartato interage com a fermentação do lactato modificando a relação propionato/acetato. Em um meio sem aspartato, esta relação é teoricamente, segundo Fitz (1878), de 2/1:



A formação do succinato poderia explicar porque a relação não é de 2/1 em certas circunstâncias (Figura 3).

O CO₂ está implicado na formação do succinato a partir da glucose ou do glicerol. O principal mecanismo de fixação do CO₂ utiliza a carboxitransfosforilase que, em presença de uma concentração elevada em CO₂ no meio, favorece a síntese do succinato como produto da fermentação.

A relação propionato/acetato diminui em presença do aspartato. Em anaerobiose, Crow (1986) obteve com *P. freudenreichii* subsp. *shermanii* ATCC 9614 em um meio complexo, com composição próxima do queijo, a seguinte relação:



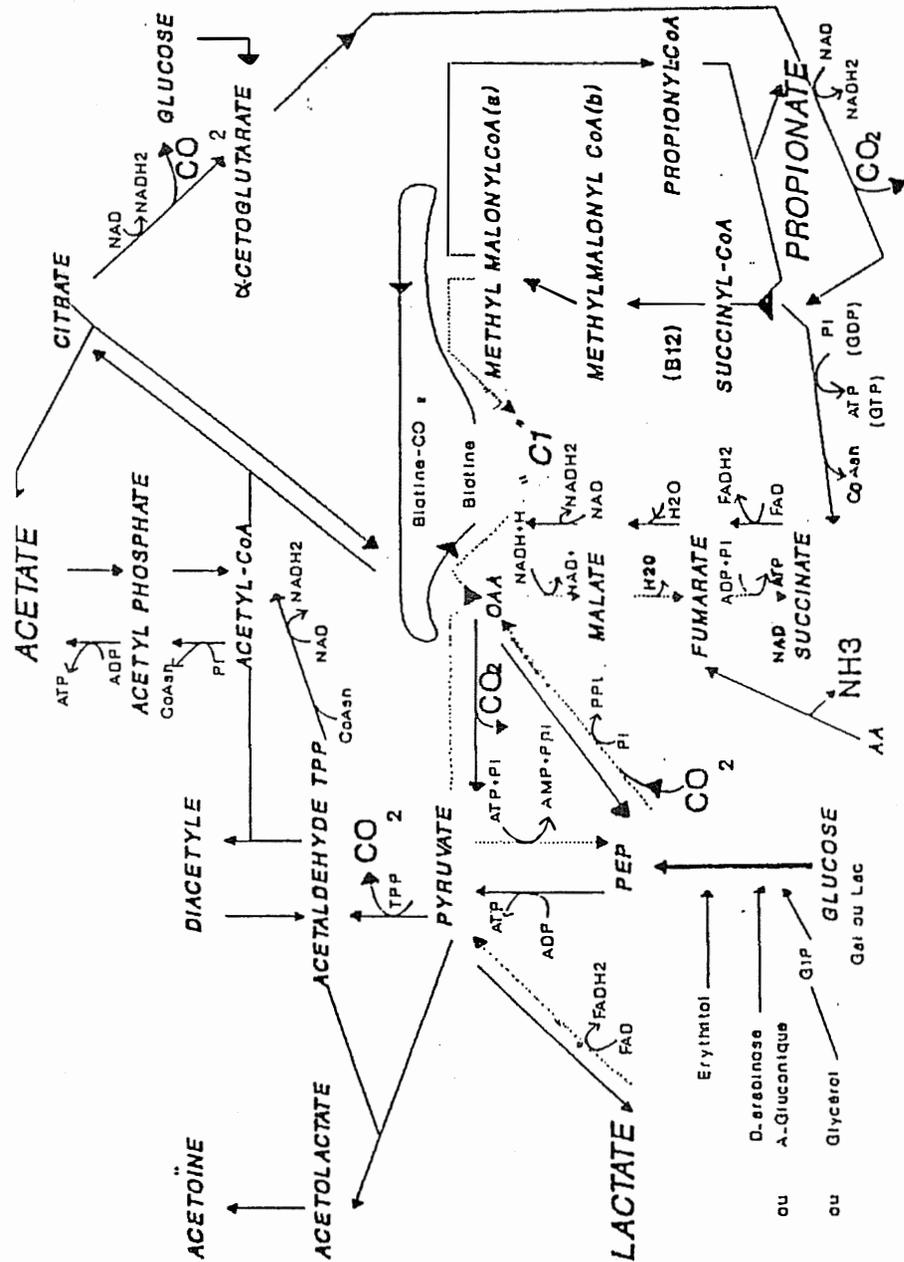


FIGURA 2 - Vias metabólicas das bactérias propiônicas (Adaptado de Crow (1986) por de Carvalho, 1994)

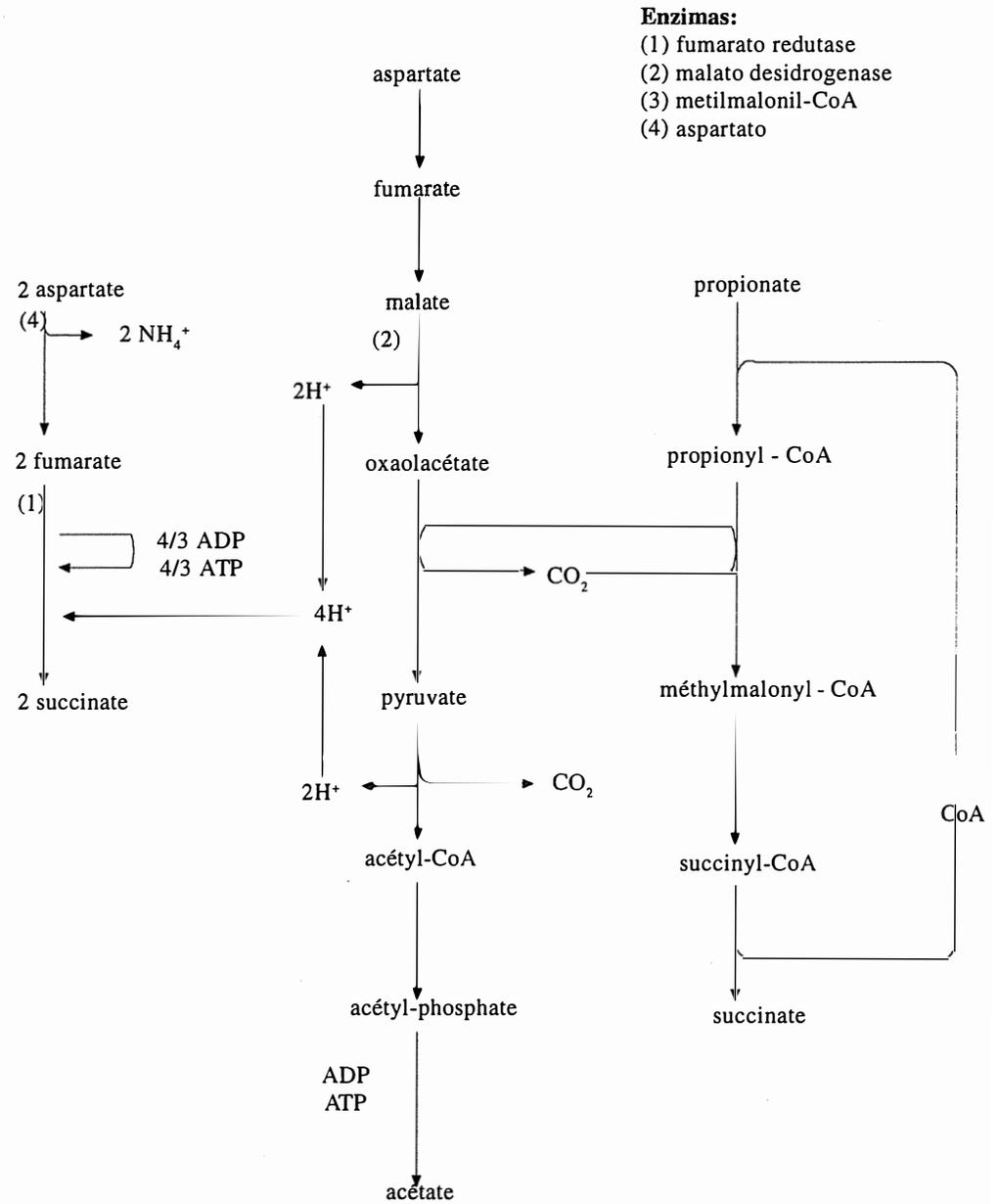
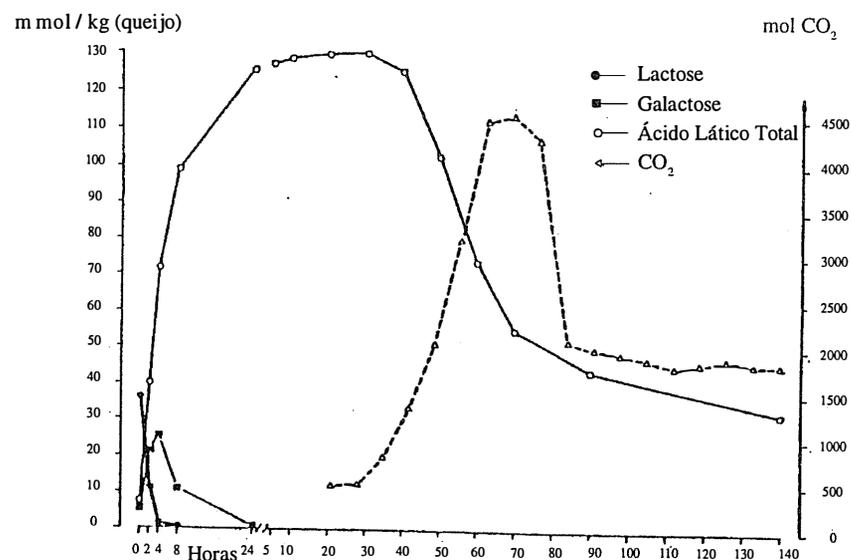


FIGURA 3 - Ciclo fermentativo do aspartato (segundo Rosner e Schink, 1990).



Fabricação	Prensagem	Salga	Cura a 20°-24°C	Cura a 10°-13°C	Estocagem 10°-13°C
------------	-----------	-------	-----------------	-----------------	--------------------

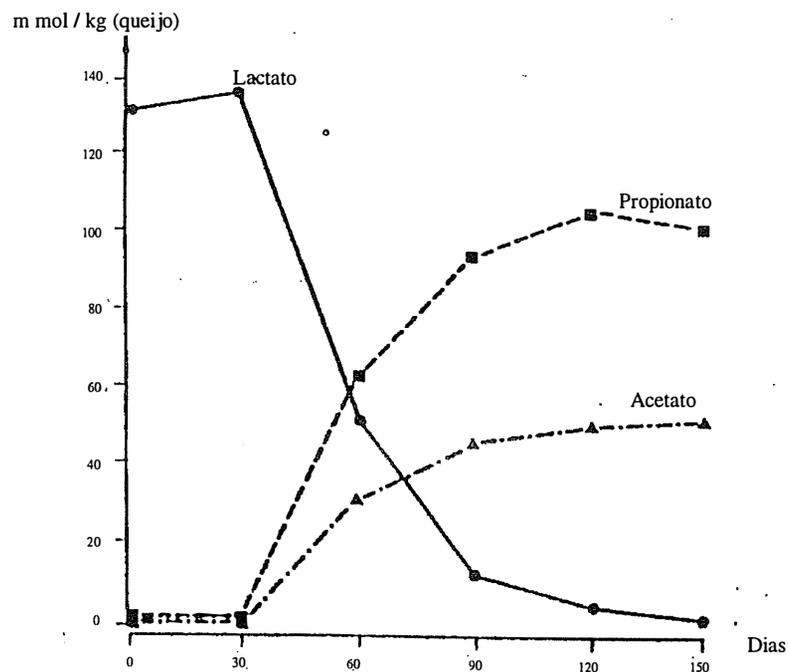
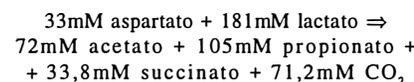


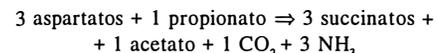
FIGURA 4 - Maturação do queijo emmental, cinética da fermentação láctica, propiônica e da produção de CO₂ (segundo Steffen *et al.*, 1993).

Já num meio sintético, a relação encontrada foi a seguinte:



O metabolismo do aspartato, que é o único aminoácido a ser rapidamente metabolizado durante a maturação do queijo Emmental em câmara quente, provoca um aumento da produção de CO₂ com diminuição do propionato (Crow, 1986).

Rosner e Schink (1990) deram continuidade aos trabalhos de Crow e propuseram um esquema para a utilização do aspartato durante o processo de fermentação (Figura 3). Obtiveram uma redução do aspartato em succinato com um consumo de propionato, e produção de ácido acético, de CO₂ e de NH₃ em um meio sintético contendo somente aspartato e propionato. A partir destes resultados um novo equilíbrio foi proposto :



Esta relação é explicada pelo fato de recorrer em um meio sintético sem lactato. A fermentação do lactato na massa do queijo leva igualmente a produção de succinato. É possível que as condições físico-químicas, da massa do queijo onde se encontra normalmente o lactato, limitem o consumo do propionato e também a quantidade de aspartato disponível.

7. BACTÉRIAS PROPIONICAS NA MATURAÇÃO DE QUEIJOS

As propionibactérias são empregadas na fabricação de queijos tipo suíço como o Emmental, Gruyère de Comté, Leerdamer, onde são em grande parte responsáveis pela formação de olhaduras e pelo "flavor" (Langsrud e Reinbold, 1973). Estas bactérias são também importantes na tecnologia de fabricação de queijos com textura fechada como o Appenzel e o Tilsit (Steffen *et al.*, 1993).

Os queijos tipo suíço são caracterizados por uma etapa de aquecimento da massa no tanque a temperaturas compreendidas entre 50 e 56°C durante 30 minutos (Bergère e Accolas, 1986). A partir deste estágio da fabricação e durante a fase de prensagem, os fermentos lácticos, termófilos (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp *lactis* ou subsp *bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus*) se desenvolvem, produzindo ácido láctico e acidificando a massa (pH em torno de 5,2 a 5,4 após 24 horas) (Figura 4).

Os queijos são salgados sendo depois conservados em câmara fria (10 a 14°C) durante 10 dias a 3 semanas. A flora láctica termofílica entra então em declínio. Os queijos são em seguida colocados em câmara quente (20-25°C para o queijo Emmental) onde ocorre a fermentação propiônica. Esta se traduz por um consumo do lactato, uma produção de ácidos acético e propiônico e pela formação das olhaduras (Steffen *et al.*, 1993). A população propiônica atinge 5x10⁸ a 10⁹ ufc/g no final do período de maturação (Fryer e Peberdy, 1977). As bactérias propiônicas são mais numerosas no centro do queijo do que na periferia, onde o teor em cloreto de sódio é maior.

7.1. Formação das olhaduras

Nas olhaduras, o gás é composto, em média, de 50% de CO₂, 35% de N₂ e de 10 a 13 % de O₂. O mecanismo de formação das olhaduras é mal conhecido. As olhaduras se formam em pontos de nucleação, quando o teor em CO₂ atinge uma pressão crítica. As bactérias propiônicas são responsáveis por grande parte da produção de dióxido de carbono de queijo de 75 kg. O restante é oriundo da fermentação láctica (7,5%), da proteólise (42,8%) e da fermentação butírica (8%), quando esta ocorrer (Flueckiger, 1980).

A formação e a repartição das olhaduras estão diretamente relacionadas com a população propiônica (as olhaduras são concentradas no centro do queijo como as bactérias propiônicas). A textura da massa também é um fator determinante na formação de olhaduras dos queijos suíços.

7.2. Produção de aroma e sabor

Segundo Kosikowski e Mocquot (1958), o aroma dos queijos é devido a um equilíbrio entre diferentes compostos. O ácido propiônico e ácido acético oriundos da fermentação propiônica tem papel importante no balanceamento do 'flavor component' dos queijos.

Além dos ácidos orgânicos, as bactérias propiônicas produzem diacetil e algumas estirpes são capazes de produzir grande quantidade de compostos sulfurados como o sulfato de metil (Dykstra *et al.*, 1971).

O sabor adocicado característico do "flavor" dos queijos tipo suíço se deve principalmente a presença de prolina livre. Os teores elevados de prolina (134 a 253 mg/100g) no queijo Emmental são consequência do potencial enzimático das bactérias propiônicas que degradam os peptídios contendo este aminoácido (Langsrud e Reinbold, 1973, Sahlstrom *et al.*, 1989; Panon, 1990).

7.3. Influência nos parâmetros físicos no queijo

As bactérias propiônicas são na maioria resistentes ao tratamento térmico do leite e ao aquecimento da massa no tanque de fabricação. As estirpes de *Propionibacterium*, presentes no leite ou adicionadas no momento da fabricação do queijo, podem participar da maturação destes queijos. O crescimento destas se dá preferencialmente durante o período da maturação em temperaturas de 20 a 25°C. Por outro lado, com a capacidade de se multiplicar a temperaturas de 2,8 e 7,2°C (Park *et al.*, 1967), uma fermentação propiônica pode acontecer durante uma estocagem longa a baixas temperaturas.

O pH dos queijos varia de 5,4 a 5,6, no final do período de maturação na câmara fria (10 a 14°C), e está longe de ser favorável ao crescimento das bactérias propiônicas que não se desenvolvem a pH inferiores a 5,0 (Hettinga e Reinbold, 1972). Esta constatação mostra a importância do controle do pH durante a fabricação destes queijos.

As bactérias propiônicas não são inibidas pela concentração média de cloreto de sódio dos queijos tipo suíço (1%). Por outro lado, o crescimento é diminuído na periferia da forma onde o teor deste sal chega a 3,5% em média. A resistência ao cloreto de sódio é inversamente proporcional ao pH. Normalmente são capazes de se desenvolver em presença de 6% de NaCl num pH 7,0.

7.4. Proteólise e Lipólise

As bactérias propiônicas catabolizam os peptídios e esta degradação contribui para o desenvolvimento da textura e do aroma dos queijos. Mesmo sendo consideradas pouco proteolíticas, trabalhos recentes demonstraram atividades proteolíticas e várias peptidases (Dupuis, 1994) nestas bactérias. O gênero *Propionibacterium* contém pelo menos duas proteinases, uma associada à parede celular e outra ao citoplasma ou à membrana. Uma grande variedade de peptidases foram descritas e caracterizadas como: amino-peptidase, prolina imino-peptidase, prolina imido-peptidase, X-prolyl-dipeptidyl-aminopeptidase, endopeptidases e carboxipeptidase. Um grande número de aminoácidos, em particular o ácido aspártico, a alanina, a serina e a glicina, pode ser facilmente degradado por *Propionibacterium*, mas existem grandes variações entre as espécies e entre as estirpes de uma mesma espécie estudada (Langsrud *et al.*, 1995).

As atividades lipolíticas das propionibactérias são pouco exploradas e têm um papel importante dos queijos tipo suíço. Otherholm (1967)

mostrou que a atividade lipolítica de *P. freudenreichii* subsp. *shermanii* era 100 vezes maior do que a de bactérias lácticas. Dupuis *et al.* (1993) identificaram um grande número de atividades esterásicas em bactérias desta mesma espécie.

8. CONCLUSÃO

Pode-se concluir que embora existam vários estudos indicando a importância das bactérias propiônicas na maturação de queijos tipo suíço, existe ainda uma lacuna quanto à elucidação de seu metabolismo básico, quanto aos fatores que controlam o desempenho destas bactérias nos vários queijos e mesmo a disponibilidade de meios de cultura seletivos para seu isolamento. Portanto, pesquisas básicas e aplicadas precisam dar continuidade aos aspectos enumerados para que estes vários pontos possam ser elucidados.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Antila, M. Der Aminosäurebau durch Propion-säurebakterien. *Meijerit. Alkakausk.*, v.16, p.1-132. 1956.
- Arnoux, P. Contribution à l'étude du métabolisme énergétique de *Propionibacterium acidipropionici*. Caractérisation des métabolismes aérobies et anaérobies. Compiègne : Université Technologique de Compiègne. 1991. 189p Thèse de Doctorat
- Babuchowski, A., Glatz, B.A. & Hammond, E.G. Growth and acid production by propionibacteria on various carbon sources present in whey. *J. Dairy Sci.*, v.70, p.77-79. 1987.
- Baer, A. Identification and differentiation of propionibacteria by electrophoresis of their proteins. *Milchwissenschaft*, v.42, p.431-433. 1987.
- Baer, A. & Ryba, I. Identification rapide des bactéries propioniques. *Schweiz. Milch. Forschung*, v.17, p.56-57. 1988.
- Baer, A. & Ryba, I. Identification of propionibacteria and streptococci by immunoblotting. *Milchwissenschaft*, v.46, p.292-294. 1991.
- Baer, A. & Ryba, I. Serological identification of *Propionibacterium* in milk and cheese samples. *Int. Dairy J.*, v.2, p.299-310. 1992.

- Bergère, J.L. & Accolas, J.P. (1986). Non-sporing and sporing anaerobes in dairy products. In **Anaerobic bacteria in habitants other than man** (Barnes, E.M. and Mead, G.C. eds.), Blackwell Scientific Publications, London, pp. 373-396.
- Bornatseva, G.A., Krainova, O.A. & Vorob'eva, L.J. The aerobic metabolism of propionic acid bacteria. *Microbiologia*, v.42, p.765-771. 1973.
- Bornatseva, G.A., Krainova, O.A. & Vorob'eva, L.J. Pathways of terminal oxydation in propionic acid bacteria. *Microbiologia*, v.42, p.583-588. 1973.
- Brendehaug, J. & Langsrud, T. Amino acid fermentation from propionibacteria. **XXIst International Dairy Congress**, p.286-287. 1982.
- Britz, T.J. & Jordaan, H.F. The rapid presuntive detection of propionibacterias the causative organisms of defects in Gouda cheese. *J. Dairy Technol.*, v.8, p.79-83. 1976.
- Britz, T.J. & Riedel, K.H.J. A numerical taxonomic study of *Propionibacterium* strains from dairy sources. *J. Appl. Bacteriol.*, v.71, p.407-416. 1991.
- Britz, T.J. & Steyn, P.L. Comparative studies on propionic acid bacteria. *Phytophyllactica*, v.12, p.89-103. 1980.
- Canzi, E., Del Puppo, E., Brusca, T., Galli, A. & Ferrari, A. Influence of oxygen on growth and fermentation activity of propionic acid bacteria. *Ann. Microbiol. Enzymol.*, v.43, p.147-157. 1996.
- Cerning, J. Production of exopolysaccharides by lactic acid bacteria and dairy propionibacteria. *Lait*, v.75, p.463-472. 1995.
- Champagne, C.S. & Lange, M. Analyses sur fromages Mozzarella de type américain ayant montré une production anormale de gaz. *Sc. des Aliments*, v.10, p.43-55. 1990.
- Charfreitag, O. & Stackebrandt, E. Inter and intragenic relationships of the genus *Propionibacterium* as determined by 16S rRNA sequences. *J. Gen. Microbiol.*, v.135, p.2065-2070. 1989.
- Crow, V.L. Utilization of lactate isomers by *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii*:

- regulatory role for intracellular pyruvate. *Appl. Env. Microbiol.*, v.52, p.352-358. 1986.
- Cummins, C.S. & Johnson, J.L. Genus I. *Propionibacterium* Orla-Jensen 1909. In **Bergey's manual of systematic bacteriology** (Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. and Holt, J.G. eds.), Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 1346-1353. 1986.
- Cummins, C.S. & Johnson, J.L. The Genus *Propionibacterium*. In **The Prokaryotes** (Balow, A., Trüper, H.G., Dworkin, M., Harder, W. and Schleifer, K.H. eds.), Springer Verlag, Heidelberg, pp. 834-848. 1991.
- de Carvalho, A.F. Systématique des bactéries propioniques laitières: classification, nomenclature et identification. Rennes : École Nationale Supérieure Agronomique, 1994. 227p. Thèse de doctorat.
- de Carvalho, A.F., Gautier, M. & Grimont, F. Identification of dairy *Propionibacterium* species by rRNA gene restriction patterns. *Res. Microbiol.*, v.145, p.667-676. 1994.
- de Carvalho, A.F., Guezenc, S., Gautier, M. & Grimont, P.A.D. Reclassification of "*Propionibacterium rubrum*" as *P. jensenii*. *Res. Microbiol.*, v.146, p.51-58. 1995.
- De Vries, W., van Wijck-Kapteyn, W.M.C. & Stouthamer, A.H. Influence of oxygen on growth, cytochrome-linked anaerobic electron transport in propionic acid bacteria. *J. Gen. Microbiol.*, v.76, p.31-41. 1972.
- Dellaglio, F., de Roissart, H., Torriani, S., Curk, M.C. & Janssens, D. (1994). Caractéristiques générales des bactéries lactiques. In **Bactéries Lactiques** (Roissart, H. and Luquet, F.M. eds.), Loriga, Uriage, pp. 25-116.
- Delwiche, E.A. Vitamin requirements of the genus *Propionibacterium*. *J. Bacteriol.*, v.58, p.395-398. 1946.
- Dinan, F.D. & Cogan, T.M. Detection of propionic acid bacteria in cheese. *J. Dairy Res.*, v.59, p.56-59. 1992.
- Dupuis, C. Activités protéolytiques et lipolytiques des bactéries propioniques laitières. Rennes : École Nationale Supérieure Agronomique, 1994. 145p. Thèse de doctorat.

- Dupuis, C., Corre, C. & Boyaval P. Lipase and esterase activities of *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *freudenreichii*. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.59, p.4004-4009. 1993.
- Dykstra, G.J., Drerup, D.L., Branen, A.L. & Keenan, T.W. Formation of dimethyl sulfide by *Propionibacterium shermanii* ATCC 9617. **J. Dairy Sci.**, v.54, p.168-172. 1971.
- Fitz, A. Über Spaltpilzgährungen. **Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft**, v.11, p.1890-1899. 1878.
- Flueckiger, E. CO₂ und Lochbildung in Emmentalerkäse. **Schweizerische Milchzeitung**, v.106, p.473-474. 1980.
- Fryer, T.G. & Peberdy, M.F. Growth of propionibacteria in Swiss and Egmont cheese. **N. Z. J. Dairy Sci. Technol.**, v.12, p.133-134. 1977.
- Gautier, M., de Carvalho, A.F. & Rouault, A. DNA fingerprinting of dairy Propionibacteria strains by pulsed-field gel electrophoresis. **Curr. Microbiol.**, v.32, p.17-24. 1996.
- Glatz, B.A. The classical propionibacteria : their past, present and future as industrial organisms. **Features**, v.58, p.197-201. 1992.
- Hatanaka, H., Wang, E., Taniguchi, M., Iijima, S. & Kobayashi, T. Production of vitamin B₁₂ by a fermentor with a hollow-fiber module. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v.27, p.470-473. 1988.
- Hettinga, D.H. & Reinbold, G.W. The propionic-acid bacteria - A review I Growth. **J. Milk Food Technol.**, v.35, p.295-301. 1972.
- Hettinga, D.H. & Reinbold, G.W. The propionic-acid bacteria - A review II Growth Metabolism. **J. Milk Food Technol.**, v.35, p.358-372. 1972.
- Hettinga, D.H., Reinbold, G.W. & Vedamuthu, E.R. Split defect of Swiss cheese : I Effect of strain of *Propionibacterium* and wrapping material. **J. Milk Food Technol.**, v.37, p.322-328. 1974.
- Hettinga, D.H., Reinbold, G.W. & Vedamuthu, E.R. Split defect of Swiss cheese : II Effect of low temperatures on the metabolic activity of *Propionibacterium*. **J. Milk Food Technol.**, p.31-35. 1975.
- Hoefherr, L.A., Hammond, E.G., Glatz, B.A. & Ross, P.F. Relation of growth temperature to fatty acid composition of *Propionibacterium* strains. **J. Dairy Sci.**, v.66, p.1622-1629. 1983.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T. & Williams, S.T. (1994). Genus *Propionibacterium*. In *Bergey's manual of determinative bacteriology* (Anonymous Williams & Wilkins), Baltimore, pp. 580
- Johnson, J.L. & Cummins, C.S. Cell wall composition and deoxyribonucleic acid similarities among the anaerobic Coryneformes, classical Propionibacteria, and of *Arachnia propionica*. **J. Bacteriol.**, v.109, p.1047-1066. 1972.
- Kosikowski, F.V. & Mocquot, G. Advances in cheese technology. U.N. Agricultural Studies nº 38. Roma, Food and Agriculture Organization of the United Nations. 1958.
- Langsrud, T. & Reinbold, G.W. Flavor development and microbiology of Swiss cheese. - A review. III. Ripening and flavor production. **J. Milk Food Technol.**, v.36, p.593-609. 1973.
- Langstrud, T., Sorhaug, T. & Vegarud, G.E. Protein degradation and amino acid metabolism by propionibacteria. **Lait**, v.75, p.325-330. 1995.
- Madec, M.N., Rouault, A., Maubois, J.L. & Thierry, A. Milieu sélectif pour le dénombrement des bactéries propioniques. European Patent nº PCT/FR9400082. 1994.
- Malik, A.C., Reinbold, G.W. & Vedamuthu, E.R. Evaluation of the taxonomy of the *Propionibacterium*. **Can. J. Microbiol.**, v.14 p.1185-1191. 1968.
- Maurer, L. & Stock, H. Teneur en chlorure de sodium de fromage emmental autrichien et son rapport avec les défauts due fromage. XX International Dairy Congress, E 766. 1978.
- Mocquot, G. Reviews of the progress of dairy science: Swiss-type cheese. **J. Dairy Sci.**, v.46, p.133-160. 1979.
- Moore, W.E.C. & Holdeman, L.V. Genus I. *Propionibacterium* Orla-Jensen 1909. In *Bergey's manual of systematic bacteriology* (Buchanan, R.E. and Gibsons, N.E. eds.), Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 633-644. 1974.

- Namba, A., Nukada, R. & Nagai, A.S. Inhibition by acetic and propionic acids of the growth of *Propionibacterium shermanii*. **J. Ferment. Technol.**, v.61, p.551-556. 1983.
- Naud, A.I., Legault-Demare, J. & Cretin-Maitenaz, P. Les bactéries propioniques. In **Les groupes microbiens d'intérêt laitier** (Hemier, J., Lenoir, J. and Weber, F. eds.), Cepil, Paris, p.85-125. 1992.
- Orla-Jensen, S. Die Hauptlinien des natürlichen Bakteriensystems. **Zentralblatt für Bakteriologie usw. Abt. 2**, v.22, p.305-346. 1909.
- Oterholm, A. Glycerol ester hydrolases of some lactic and propionic acid bacteria. University of Illinois, 1967. 180p. Ph.D. Thesis
- Panon, G. Purification and characterization of a proline iminopeptidase from *Propionibacterium shermanii* 13673. **Lait**, v.60, p.439-452. 1990.
- Park, H.S., Reinbold, G.W., Hammond, E.G. & Clark, W.S. Growth of propionibacteria at low temperatures. **J. Dairy Sci.**, v.50, p.589-591. 1967.
- Peberdy, M.F. & Fryer, T.F. Improved selective media for the enumeration of propionibacteria from cheese. **N. Z. J. Dairy Sci. Technol.**, v.11, p.10-15. 1976.
- Pritchard, G.G. & Amundson, V.R. Aerobic electron transport in *Propionibacterium shermanii*. Effects of cyanide. **Arch. Microbiol.** v.126, p.167-173. 1980.
- Pritchard, G.G., Wimponny, J.W.T., Morris, H.A., Lewis, M.W.A. & Hughes, D.E. Effect of oxygen on *Propionibacterium shermanii* grown in continuous culture. **J. General Microbiol.**, v.102, p.223-233. 1977.
- Reinbold, G.W. The propionibacteria: milk products in bacterium starter cultures for foods. In Stanley Gilliland, ed.), CRC Press, p.74-84. 1985.
- Riedel, K.-H., J. & Britz, T.J. Differentiation of "classical" *Propionibacterium* species by numerical analysis of electrophoretic protein profiles. **System. Appl. Microbiol.**, v.15, p.567-572. 1992.
- Rosner, B. & Schink, B. Propionate acts as carboxylic group acceptor in aspartate fermentation by *Propionibacterium freudenreichii*. **Arch. Microbiol.**, v.155, p.46-51. 1990.
- Sahlström, S., Espinosa, C., Langsrud, T. & Sorhaug, T. Cell wall, membrane and intracellular activities of *Propionibacterium shermanii*. **J. Dairy Sci.**, v.72, p.342-350. 1989.
- Sherman, J.M. The cause of eyes and characteristic flavor in Emmental or Swiss cheese. **J. Bacteriol.**, v.6, p.273-279. 1921.
- Sone, N. The redox reactions in propionic acid fermentation : I. Occurrence and nature of an electron transfer system in *Propionibacterium arabinosum*. **J. Biochem.**, v.71, p.931-940. 1972.
- Sone, N. The redox reactions in propionic acid fermentation : III. Enzymatic properties of NAD-independent glycerol-phosphate dehydrogenase from *Propionibacterium arabinosum*. **J. Biochem.**, v.74, p.297-305. 1973.
- Steffen, C., Eberhard, P., Bosset, J.O. & Rüegg, M. Swiss-type varieties. In **Cheese : chemistry, physics, and microbiology** (Fox, P.F. ed.), Chapman & Hall, London, p.83-110. 1993.
- Steffen, C., Schär, H., Eberhard, P., Glättli, H., Nick, B., Rentsch, F., Steiger, G. & Sieber, R. Untersuchungen über den Reifungsverlauf von qualitativ gutem Käse: Tilsiter aus Rohmilch. **Schweiz. Milchw. Forschung**, v.21, p.46-51. 1993.
- Steffen, C., Schär, H., Eberhard, P., Glättli, H., Nick, B., Rentsch, F., Steiger, G. & Sieber, R. Untersuchungen über den Reifungsverlauf von qualitativ gutem Käse: Appenzeller. **Schweiz. Milchw. Forschung**, v.21, p.39-45. 1993.
- Thierry, A. & Madec, M.-N. Enumeration of propionibacteria in raw milk using a new selective medium. **Lait**, v.75, p.315-323. 1995.
- Thierry, A., Madec, M.-N. & Richoux, R. Croissance des bactéries propioniques dans le fromage: comparaison de deux milieux de dénombrement. **Lait**, v.74, p.1-11. 1994.
- van Niel, C.B. The propionic acid bacteria. Haarlem : University of Netherlands, 1928. 120p. Ph.D. Thesis. J.W.Boissevain
- van Niel, C.B. Genus I. *Propionibacterium* Orla-Jensen 1909. In *Bergey's manual of de-*

terminative bacteriology (Breed, R.S., Murray, E.G.D. and Smith, N.R. eds.), Baillièrre, Tindall & Cox. London, p.569-577. 1957.

Vassal, L. & Auclair, J. Aptitude de différentes souches de bactéries propioniques à la formation de l'ouverture dans le fromage de Gruyère. XIX International Dairy Congress, 1F, p.796-797. 1978.

Vaughn, R.H. Lactic acid fermentation of cabbage, cucumbers, olives and other products. In

Industrial Microbiology (Reed, G. ed.), Prescott & Dunn's, Saybrook, p. 220-224. 1996.

Wood, H.G. Metabolic cycles and the fermentation by propionic acid bacteria. *Curr. Topics in Cell. Regul.*, v.18, p.255-287. 1981.

Wood, H.G., Andersen, A.A. & Welkman, C.H. Nutrition of the propionic acid bacteria. *J. Bacteriol.*, v.36, p.201-214. 1938.

Queijos Finos

Do Leite ao Queijo de Cabra

A EPAMIG - Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, através do "Instituto de Laticínios Cândido Tostes", lançou em julho, por ocasião do XIII e XIV Congressos Nacionais de Laticínios, dois livros sobre diversas variedades de queijos de vaca e cabra e a tecnologia de fabricação dos mais afamados queijos do mundo; além de um glossário com mais de 100 variedades de queijos e anexos estatísticos sobre o setor.

Informações

Área de Difusão de Tecnologia

CEPE/ILCT/EPAMIG - Caixa Postal 183 - 36045-560 - Juiz de Fora - MG

Fone: (032) 224-3116 Fax: (032) 224-3113

CARACTERÍSTICAS DE ORIGENS PARA QUEIJOS NATURAIS DE MINAS GERAIS: MUNICÍPIOS DO SERRO E DE SÃO ROQUE DE MINAS¹

Otacílio Lopes Vargas ²
Márcia A. Crivelari Porto ³
Alcy Laender de Brito ⁴

RESUMO

O texto complementa as informações sobre temas que, até o momento, não foram colocados disponíveis para pequenos e médios produtores artesanais de queijos em Minas Gerais. Embora o objetivo principal tenha sido o atendimento à demanda de informações para os pequenos pecuaristas elegíveis nas regiões dos Municípios do Serro e de São Roque de Minas, o trabalho agrupa os conceitos fundamentais de higiene para "leite cru", cujos critérios e normas registradas, se seguidos com responsabilidade e dedicação, permitem a produção de um queijo natural de alta qualidade, além de levar até o consumidor algumas propriedades nutricionais e reológicas que o diferenciam de todos os demais queijos fabricados a partir de leite pasteurizado. O trabalho aborda os seguintes aspectos: (i) demonstra fluxogramas de fabricação recomendados para a produção de queijos artesanais nos municípios do Serro e de São Roque de Minas, (ii) conceitua "higidez de leite cru" fixando as normas de segurança relacionadas com o predomínio de microrganismos da natureza mórbida e, mostra como é possível vencê-los por meio da higiene e do favorecimento de vantagens competitivas para a flora láctico-homofermentativa em substratos naturais, (iii) discute os riscos de contaminações cruzadas na fonte de produção do leite e durante a fabricação artesanal, (iv) discute os fatores causais que podem levar a uma qualidade sanitária inaceitável para os queijos fabricados de leite cru no mercado consumidor, (v) define os limites para os atributos da qualidade do leite cru, indispensáveis na decisão de seleção da matéria-prima destinada à fabricação do queijo, (vi) sugere os parâmetros e os limites de qualidade para o produto acabado no ato da expedição e na data final da validade no mercado, (vii) conceitua e recomenda procedimentos de segurança para a fabricação de queijos a partir de "leite cru", (viii) apresenta e indica os padrões físico-químicos proximais e microbiológicos para os queijos artesanais de "leite cru" fabricados no Município do Serro e de São Roque de Minas, e (ix) descreve método WMT como um recurso simples e barato para determinar, com segurança, o nível de higidez do "leite cru", e recomenda a sua rejeição quando a contagem de células somáticas for superior a 300.000 por mL. O texto indica os pontos críticos para observação e controle visando a melhoria contínua da qualidade dos queijos artesanais. Estes são definidos com a nomenclatura de "queijos naturais, seguindo-se a indicação do município ou da região de origem".

INTRODUÇÃO

CAPÍTULO I INFORMAÇÕES RETROSPECTIVAS DAS REGIÕES

1. A produção artesanal de queijos

As produções de tipos de queijos que se identificam aos do Serro e da Serra da Canastra datam do século XVIII. Hoje, com as pressões de modernização

dos processos de produção, que no curso da história, forçaram a introdução da pasteurização do leite destinado à fabricação de queijos, ainda assim, as práticas tradicionais permanecem vivas e atuantes em Minas Gerais. As estatísticas oficiais não retratam a realidade atual do volume de produção de queijos artesanais no Estado de Minas Gerais. Estima-se existir uma demanda reprimida de dez vezes mais para o consumo destes queijos em grandes centros urbanos.

¹ Relatório oficial da EPAMIG visando subsidiar o deslanche do programa mineiro de incentivo à produção qualitativa de queijos artesanais. O trabalho contou com a colaboração das seguintes representações institucionais: (i) *Accácia Júlia Guimarães Pereira* e *Adriana Rubim Reis* Professora da Faculdade de Farmácia e aluna de Pós-Graduação no período de 1996/97; (ii) *Geraldo Teixeira do Nascimento*, IMA do Serro; (iii) *José Roberto Alves Silvestre* da EMATER/Sede; (iv) *José de Souza Filho*, *José Roberto Correia Miguel*, *Margarida Carvalhaes Barroso*, todos das EMATER(es) regionais do Serro e de São Roque de Minas; (v) *Lúcio José da Silva* da SEAPA; (vi) *Otacílio Lopes Vargas* do CEPE/ILCT da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais.

² Professor e Pesquisador da EPAMIG, autor do relatório corrente responsabilizando-se pelas informações prestadas. Rua Tenente Freitas, 116 - Bairro Santa Terezinha - 36045-560 - Juiz de Fora, 03 de outubro de 1997, Tel. (032) 224 3116, Fax (032) 2243113; vargasgn@nutecnet.com.br.

³ Técnica em Laticínios, analista do Laboratório de Físico-química do CEPE/ILCT-EPAMIG - Juiz de Fora.

⁴ Técnica em Química, analista do Laboratório de Físico-química do CEPE/ILCT-EPAMIG - Juiz de Fora.

Os atuais efetivos da produção dos queijos Minas do Serro e da Canastra estão demonstrados na Quadro 1.

Os dados demonstrados no Quadro 1 representam uma pequena parcela da realidade da produção anual de queijos em natureza do Estado de Minas Gerais. A experiência de visitas aos municípios pela equipe, mostrou ser necessária a intensificação de apoio ao desenvolvimento da agroindustrialização do leite nestas regiões. Este apoio deve incluir: (i) aspectos científicos e tecnológicos sobre práticas de fabricação de queijos naturais, (ii)

aspectos de saúde e de segurança sanitária aplicados à pecuária de leite, (iii) princípios de higiene aplicados à transformação e comercialização de leite e produtos derivados, com ênfase especial centrada nos processos de fabricação artesanal de queijos.

O Quadro 2 demonstra os dados disponíveis sobre as regiões do Serro e da Serra da Canastra, áreas de abrangência pretendida para o programa mineiro de incentivo à produção qualitativa de queijos artesanais com certificados de origens (Silvestre, 1993; EMATER, 1993).

QUADRO 1 - Produção de queijos artesanais nas regiões do Serro e da Serra da Canastra em 1992 (Furtado, 1993; Cooperativa dos Produtores Rurais do Serro, 1993; EMATER, 1993, 1994).

Municípios (MG)	% do Total Estimado	Massa da Produção em kg
Serro	25,36	849 600
São Roque de Minas	41,05	1 375 000
Tapira	11,20	375 000
Medeiros	11,20	375 000
BambuÍ	7,46	250 000
Piumhi	3,73	125 000
Total	100,00	3 349 600

QUADRO 2 - Produção de queijos artesanais em indústrias caseiras nas regiões do Serro e da Serra da Canastra em 1992; (-) dados não disponíveis (Silvestre, 1993; EMATER/MG, 1993).

Região: município	Número de Famílias		Quantidade média anual (kg)
	Existentes	Assistidas	
Região do Serro:			
Alvorada de Minas	-	-	-
Couto de Magalhães	3	3	4.400
Datas	-	-	-
Diamantina	16	5	10.560
Dom Joaquim	54	30	194.400
Presidente Kubitschek	3	-	600
Rio Vermelho	-	-	-
Sto. Antônio do Itambé	40	20	144.000
Serra Azul de Minas	22	6	79.200
Serro	236	78	849.600
Sub-total	374	142	1.282.760
Região Serra da Canastra:			
BambuÍ	45	20	32.850
Delfinópolis	30	15	15.000
João Batista do Glória	-	-	-
Medeiros	-	-	-
Piumhi	-	-	-
Sacramento	-	-	-
Tapira	400	100	1.000.000
Vargem Bonita	-	-	-
São Roque de Minas	-	-	-
Sub-total	475	135	1.047.850
AL	849	277	2.330.610

Sabe-se que os queijos artesanais, quando obtidos do leite higiênico oriundo de vacas sadias mantidas sobre pastos naturais, com abundância de co-fatores das gramíneas verdes e de rebanhos com higidez certificada, apresentam características de segurança sanitária para o consumidor, mesmo quando o tempo de maturação é bem reduzido e a atividade de água no produto acabado é bem elevada. Contudo, a manutenção de vacas sadias depende de fatores como: (i) abundância da massa verde disponível para os animais, (ii) manejos operacional e zoo-veterinário do rebanho e, principalmente, (iii) nível da imunidade conservada e/ou imputada ao rebanho com uma função natural da adaptabilidade de uma raça leiteira regionalmente estável. Este conjunto de fatores depende de um processo de desenvolvimento social holístico. O Quadro 2 mostra dados disponíveis para a área de abrangência deste programa de desenvolvimento rural.

A indústria caseira tem uma grande importância social. Não são conhecidos os quantitativos da produção artesanal de queijos no contexto da indústria caseira e não há uma metodologia que viabilize as diferenciações de autenticidades e de

origens para os queijos artesanais. Este documento apresenta os primeiros resultados no sentido de uma possível viabilização de diferenciação química da origem de queijos artesanais.

O acelerado desenvolvimento tecnológico de processos para fabricação de queijos, hoje já empregando membranas minerais para microfiltração de leite desnatado, tem viabilizado a remoção física e esporos bacterianos e a redução significativa da carga biológica contaminante do leite, ao mesmo tempo, garantindo um maior rendimento na transformação. As membranas de cerâmica apresentam vida útil permanente e já estão sendo empregadas na fabricação de queijos. Este avanço recente tem viabilizado a fabricação de queijos diferenciados, como demonstra o Quadro 3. No futuro, os queijos de alta tecnologia serão fabricados com leite cru (fosfatase e peroxidase positivas), não somente por interesse de maiores rendimentos na fabricação, mas, sobretudo, para disponibilizar um produto nativo com distintas propriedades nutricionais que não se encontram presentes nos queijos obtidos a partir de leite aquecido às temperaturas acima de 55° C.

QUADRO 3 - Composição química proximal e comparativa para os queijos Suíço Americano (SA), Suíço Europeu (SE) e "Experimental" Analisada pelo Centro de Pesquisa e Ensino Instituto de Laticínios Cândido Tostes em 1991 (TE), para 17 parâmetros de importância alimentar (Vargas, 1991).

Queijo	Água	E	Prot.	Lip.	CHO	RMF	Ca	P
SA ⁵	39	370	27,3	28,0	1,7	3,8	923	363
SE ⁶	40	355	28,4	26,0	1,8	5,1	887	367
TE ⁷	35	399	28,0	31,0	1,9	3,7	830	1.080

Queijo	Fe	Na	K	Vit.A	Tia.	Rib	Ni	AA
SA ⁵	0,9	710	104	1.140	0,01	0,40	0,10	0,00
SE ⁶	0,9	1.167	100	1.100	0,01	0,40	0,10	0,00
TE ⁷	4,0	1.250	130	956	0,11	0,43	10,5	0,00

⁵ Dados publicados por Watt & Merrill (1963:22);

⁶ Dados publicados por Watt & Merrill (1963:22);

⁷ Queijo tipo "Experimental" - TE, analisado em 08/01/91, no CEPE/ILCT/EPAMIG, para os aspectos sensoriais e para: (i) água em g%, (ii) E = energia alimentar em kcal por cem gramas, (iii) Prot.= proteína bruta em g% (com 15,675% de nitrogênio), (iv) Lip.= lípidos totais em g%, (v) CHO= açúcares redutores totais em g%, (vi) RMF = resíduo mineral fixo a 550° C, (vii) Ca = cálcio em mg%, (viii) P = fósforo em mg%, (ix) Fe=ferro em mg%, (x)Na =sódio em mg%, (xi) K=potássio em mg%, (xii) Vit.A = vitamina A em UI (unidades internacionais) por 100 g., (xiii) Tia.= tiamina ou vitamina B1 em mg%, (xiv) Rib.= riboflavina ou vitamina B2, (xv) Ni=niacina ou vitamina PP, (xvi) AA = ácido ascórbico ou vitamina C em mg%. As determinações realizadas em laboratórios externos correspondem aos documentos: a) laudo nº 17 para o queijo "TE"; protocolo nº 1373 de 27/02/91; OR-2119; Talão OR-09 de 18 de março de 1991, do Instituto Adolfo Lutz - Divisão de Bromatologia e Química TL-BQ; (b) laudo de análises químicas complementares do DQA - Diretoria de Química Agrícola de 15/04/91

QUADRO 4 - Perfil da composição físico-química esperada para o queijo Minas do Serro, em função de 12 amostras analisadas (Cerqueira & Nascimento, 1993).

Amostra	pH	Sal	Acidez	Gordura	Umidade	Cinzas	Amido	Fosfatase	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>
1	5,50	2,19	0,972	25,5	48,80	-	(-)	(+)	(-)	(-)
2	5,30	2,46	0,990	26,0	46,90	-	(-)	(+)	(+)	(-)
3	5,70	-	0,864	25,0	51,73	4,00	(-)	(+)	(-)	(-)
4	5,50	4,39	0,810	22,0	50,56	-	(-)	(+)	(-)	(-)
5	5,70	4,42	0,830	30,0	46,80	-	(-)	(+)	(-)	(-)
6	5,00	1,70	1,690	26,0	45,18	-	(-)	(+)	(-)	(-)
7	6,00	-	0,702	20,0	53,79	6,78	(-)	(+)	(+)	(-)
8	5,70	3,16	0,900	23,0	47,10	-	(-)	(+)	(+)	(-)
9	5,80	-	1,260	27,0	45,80	5,95	(-)	(+)	(+)	(-)
10	5,70	-	1,080	23,0	52,65	7,60	(-)	(+)	(+)	(-)
11	5,90	-	0,720	26,5	47,00	4,38	(-)	(+)	(-)	(-)
12	5,70	-	0,540	24,5	46,77	4,53	(-)	(+)	(-)	(-)
L.I.	5,40	2,00	0,659	22,0	45,84	4,21	(-)	(+)	(-)	(-)
Média	5,60	3,05	0,947	25,0	48,59	5,54	(-)	(+)	(+)	(-)
L.S.	5,90	4,10	1,234	27,0	51,34	6,87	(-)	(+)	(+)	(-)
σ	0,30	1,05	0,287	3,0	2,75	1,33	(0)	(0)	(∞)	(0)

Observações:

L.I.= limite inferior aceitável; M=média observada; L.S=limite superior aceitável; σ = desvio padrão.

A análise detalhada de um queijo natural permite "definir as condições ecológicas de uma região e o grau de desenvolvimento do seu povo" (Ribeiro, 1958; 1959). Da mesma forma que um paleontologista pode descrever um animal pelo exame detalhado de seus ossos, os queijos naturais, como os tipos Minas Canastra e Serro, contêm, na intimidade de seus atributos de identidade e de qualidade, características tipológicas regionais.

"Por volta da segunda metade do século XVIII, durante a corrida ao ouro nas regiões mineiras do Brasil Central, para lá se dirigiram" grandes contingentes de exploradores que introduziram as fabricações de queijos nas fazendas, "queijo minas", seguindo técnica portuguesa da "Serra da Estrela" (Ribeiro, 1959). Enquanto em 1956 o Brasil produzia 60% de seus queijos minas e variedades, a partir de leite "in natura", em 1959, esta produção passou a representar 85%, elevando-se de 12.000 toneladas/ano em 1956 para 17.000 toneladas/ano em 1959.

Hoje, a Cooperativa dos Produtores Rurais do

de apenas 31 produtores do queijo Minas do Serro, que ainda mantêm o processo artesanal assemelhado ao adotado no século XVIII (Cooperativa dos Produtores Rurais do Serro, 1993). Porém, esta produção recebida pela Cooperativa representa apenas 17% do total da produção "indústria caseira" de queijos do município do Serro. No município do Serro, estima-se que a produção artesanal de queijos representa 52,17% da produção total. Com base em informações colhidas no município do Serro, análises realizadas na Escola de Veterinária da UFMG (Cerqueira & Nascimento, 1993), doze amostras de queijos mostraram os resultados citados no Quadro 4.

O município do Serro, correspondente a uma área de 1.990 km², situa-se na região do Alto Jequetinhonha e está localizado a 940 metros de altitude e a 200 km de Belo Horizonte. Antiga Vila do Príncipe, a cidade do Serro foi elevada à categoria de município em 6 de março de 1738, tornando-se uma das cidades históricas do Estado de Minas Gerais (Furtado, 1980).

As características do queijo do Serro, o processo tradicional de obtenção do fermento-coagulante natural e a técnica de fabricação foram documentadas por Furtado (1980; 1981). A metodologia de fabricação para o queijo Serro foi resumida no Fluxograma 1. O Fluxograma 2 refere-se à metodologia para o queijo Canastra, diferindo-se do anterior apenas pela prática original do preparo do coalho a partir do estômago do tatu canastra (família dos *Dasipodídeos*, taxon: *Priodontes giganteus*). Esta prática, definitivamente, não é recomendável por tratar-se do mamífero veiculador primário do agente causador da lepra. Mesmo considerando que a pesquisa brasileira ainda não tenha documentos sobre tal veiculação, é seguro proibir a prática artesanal do coalho de tatu para reduzir os riscos de disseminação da doença nas populações regionais.

O queijo Minas da Canastra é produzido adotando-se tecnologia muito similar àquela adotada no Serro. Na região da Serra da Canastra, com as suas características de clima e solo especiais, hoje, somente no município de São Roque de Minas existem 1.250 produtores rurais, 90% dos quais são produtores do queijo Canastra e do queijo Minas Meia Cura. Na região, os produtores se distribuem ao longo de um raio de aproximadamente 100 km, incluindo vários municípios limítrofes. A produção semanal de queijos é transportada para São Roque de Minas e, de acordo com informações colhidas, soma uma média anual de 3.120.000 kg comercializados principalmente no Estado de São Paulo. Enquanto no município do Serro foi observada a adoção do salitre (nitratos) no processo de fabricação do queijo, em São Roque de Minas os produtores adotam apenas os ingredientes naturais (sal marinho grosso, coalho industrializado, e leite cru). Nesta região, os produtores são homogeneamente de pequeno porte, podendo variar de 80 a 200 litros de leite industrializados por dia. O termo "canastra" refere-se a um tipo de mala quadrada, de couro, que foi muito utilizada como utensílio da cavalgadura de tropas.

O queijo Minas da Serra da Canastra vem sendo fabricado com leite "in natura" por décadas a fio. Com características muito similares ao queijo Minas do Serro, a fabricação do queijo Minas da Serra da Canastra sempre esteve centralizada no município de São Roque de Minas, a 60 Km de Bambuí e de Piumhi e a uns 300 Km de Belo Horizonte, próximo dos limites do Parque Nacional da Serra da Canastra.

As características do queijo Minas da Serra da Canastra, o processo tradicional de obtenção do fermento-coagulante natural e técnica de fabricação foram observadas e documentadas durante recente viagem do professor Múcio (Furtado, 1993). O

detalhamento do processo foi resumido e está demonstrado no Fluxograma 2. Este documento, após uma análise das práticas artesanais em suas respectivas origens históricas, não pode recomendar a adoção do coalho diretamente obtido dos estômagos de bezerro ou de tatu, por ser impossível controlar a higidez dos animais abatidos em ambientes rurais.

Como foi observado nos Fluxogramas 1 e 2 (anexos), as técnicas usuais para as fabricações dos queijos "Minas do Serro" e "Minas da Canastra" são muito similares. O esforço de busca da aproximação das práticas ligadas às próprias origens biotipológicas dos queijos, permite a conclusão de que melhorias podem ser introduzidas sem alterar as características naturais dos produtos finais. Muitas destas melhorias podem ser extraídas do documento prático de Munck *et alii* (1986) e da melhor referência histórica que nos deixa o Professor Eolo Albino de Souza, referente à tecnologia de fabricação de queijos no Brasil (Souza, 1960).

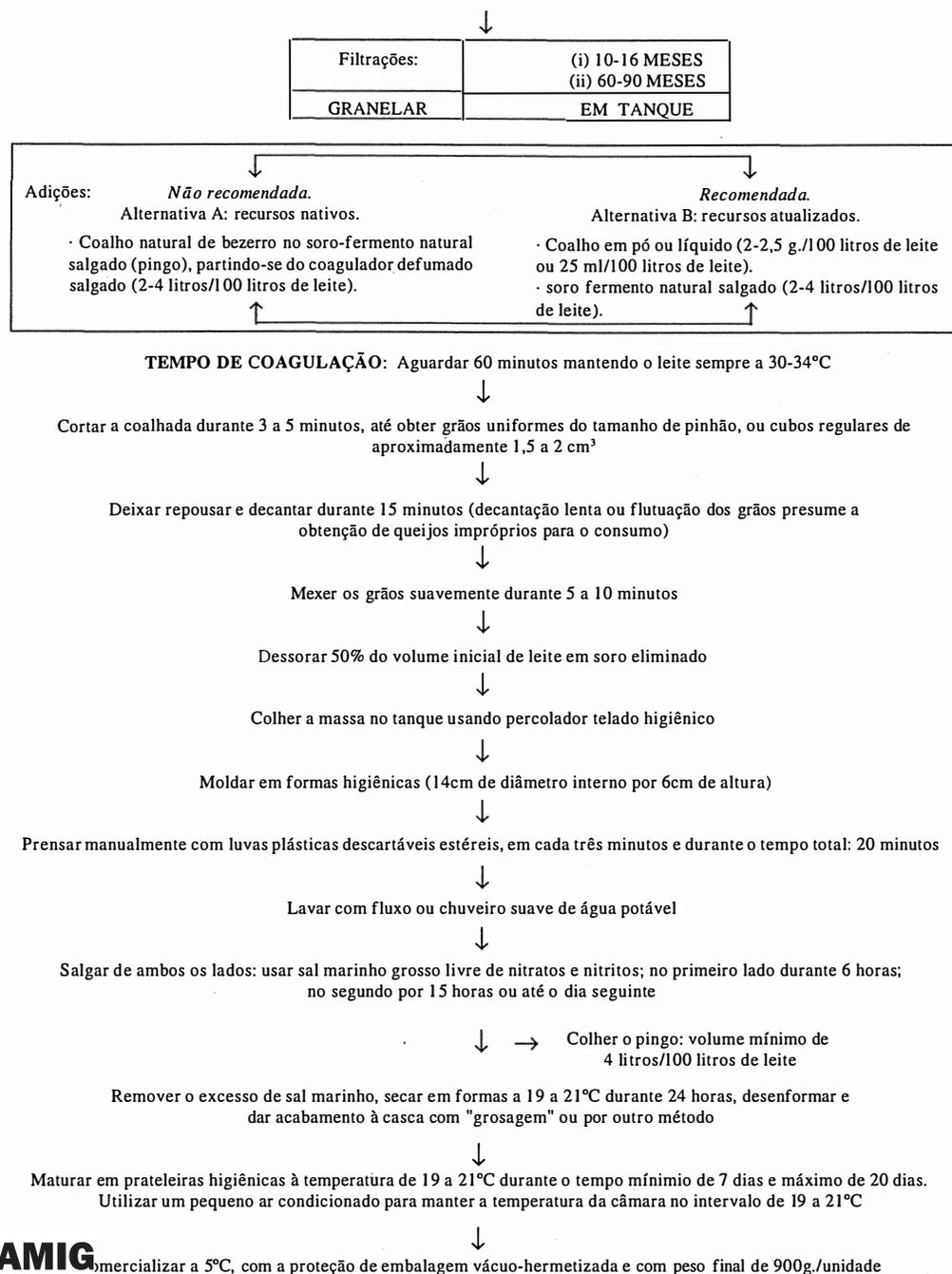
2. Aspectos pedológicos das regiões**2.1. Geologia das regiões**

A Serra do Espinhaço (p.ee) representa a unidade geológica Proterozóica do Supergrupo Espinhaço, que se inicia a partir de Caeté e que predomina na Região do Serro. O conjunto de rochas inclui uma sequência quartzosa: quartzitos, filitos, metaconglomerados, metavulcânicas e itabiritos. Os minerais que compõem esses tipos de rochas são: quartzo, feldspato, óxido de ferro, hematita, anfibólio, clorita, sericita e caulinita. Além destes, são encontrados no Serro: diamante, bauxita, ferro, cromita; em Alvorada de Minas: cromita; em Sabinópolis: o ferro; em Diamantina: diamante, ouro, bauxita, mármore; em Datas: diamante; em Presidente Kubitschek: diamante e ouro. O conglomerado limítrofe do Município do Serro é constituído pelos municípios de Alvorada de Minas, Dom Joaquim, Sabinópolis, Santo Antônio do Itambé, Serra Azul de Minas, Rio Vermelho, Couto de Magalhães de Minas, Diamantina, Datas e Presidente Kubitschek. A estrutura geológica do conjunto encontra-se intensamente dobrada e falhada, cujas orientações das falhas se apresentam dirigidas segundo a orientação da Serra do Espinhaço. A destruição físico-biológica e a decomposição mineral das rochas produzem um solo argiloso avermelhado sobre as rochas vulcânicas e filiticas, um solo arenoso nas rochas quartzosas. Nestas regiões, as cotas altimétricas variam de 1.000-1.400 metros, encontrando-se a cida de do Serro a 940 metros. A Serra do Espinhaço apresenta-se ladeada por antigas superfícies aplainadas e ornamentadas por picos e cristais elaborados

FLUXOGRAMA 1 - Fabricação artesanal do Queijo do Serro

(Furtado, 1981; com modificações justificadas pelo autor deste texto).

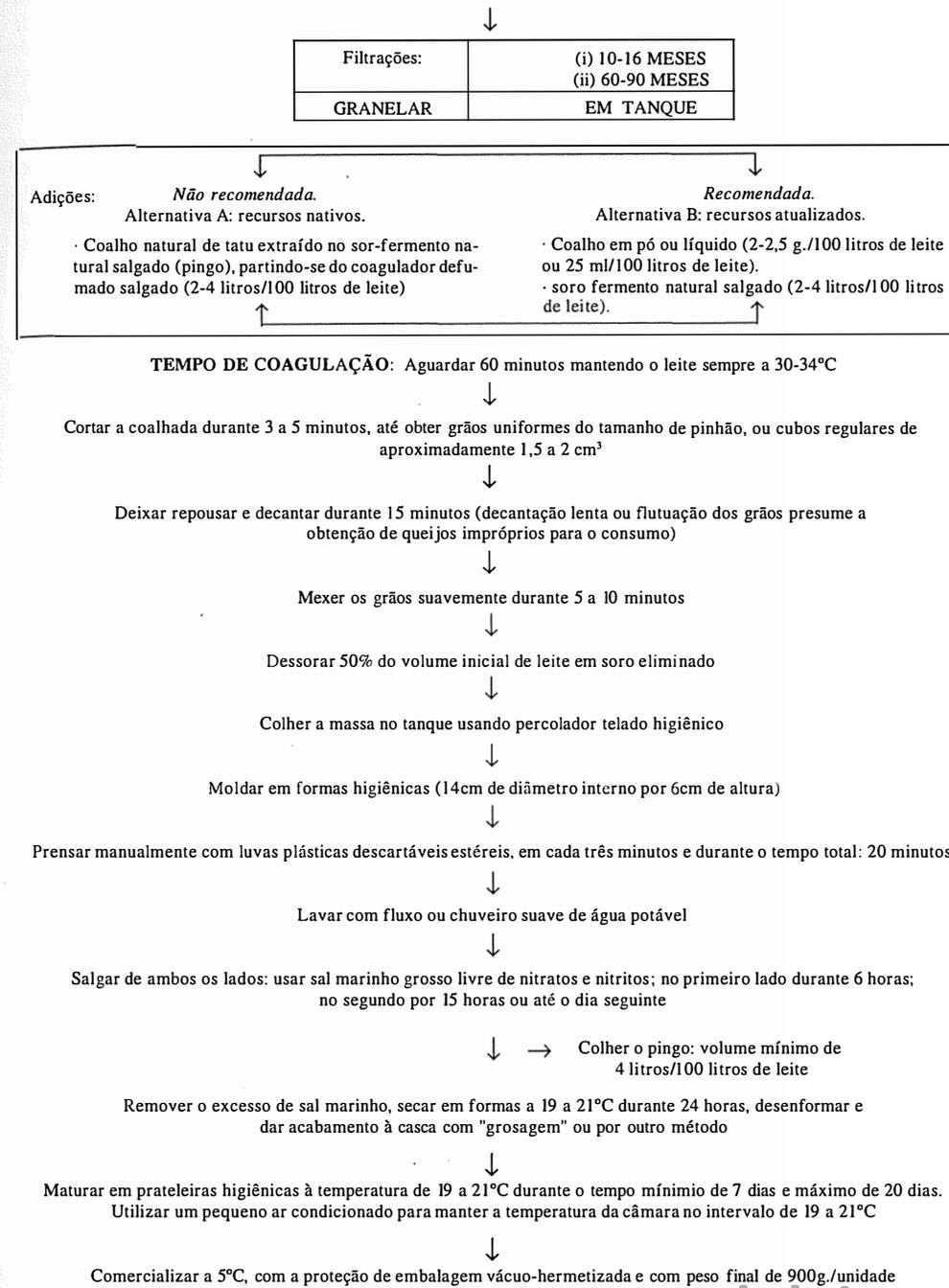
Leite cru hígido, integral (3,5 - 3,7% Gb), recém ordenhado e, a partir de um rebanho certificado único, granelado em tanque a menos de 2 horas do pós-ordenha (32°C).



FLUXOGRAMA 2 - Fabricação artesanal do Queijo do Canastra

(Furtado, 1981; com modificações justificadas pelo autor deste texto).

Leite cru hígido, integral (3,5 - 3,7% Gb), recém ordenhado e, a partir de um rebanho certificado único, granelado em tanque a menos de 2 horas do pós-ordenha (32°C).



em quartzitos, com grandes escarpamentos, geralmente orientados por fraturas (Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais, 1983).

O solo no Serro e em seus municípios limítrofes, apresenta-se com uma diversidade relativamente baixa, incluindo: (i) afloramento de rochas do tipo AR2; (ii) latossolo vermelho escuro do tipo LE_d9; (iii) latossolo vermelho amarelo dos tipos LV_d2 e LV_d3; (iv) cambissolo do tipo Cd2, com horizonte B incipiente; de acordo com a Secretaria de Ciência e Tecnologia, Comissão de Política Ambiental-COPAM/CETEC, mapa 3, segunda aproximação e legenda, 1982 (Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais, 1983).

Nesta região há um predomínio de vegetação de campo e capoeira. As cotas altimétricas variando entre 900 e 1.400 metros fazem com que as temperaturas, nos vales, girem em torno de 18 a 22° Célcius e a umidade seja sempre alta.

A Serra da Canastra, P_{eaac}(q), é representada pelo Grupo Araxá-Andrelândia-Canastra-Muscovita-Biotita-Rochas Básicas e Ultrabásicas-Anfibolitos-Calcários, com aflorações de Quartzitos. No município de Bambuí, distingue-se o Grupo Bambuí (P_{ib} e Q_d), com coberturas Detríticas-Areias Finas-Argilas Silticas localmente laterizadas e freqüentemente com espessas casca-lheiras. Na interface de (P_{eaac}) com (P_{eb}), particularmente no município de Piumhi, observa-se o afloramento da Cromita Cristalina. Na Serra da Canastra, junto aos afloramentos de Quartzitos, observa-se também a ocorrência de Xistos e Gnaisses. Em síntese, as regiões limítrofes de São Roque de Minas caracterizam-se por uma grande diversidade de rochas, incluindo rochas básicas e ultra-básicas, Gnaisses ou Feldspato Xistoso, Ardósia e outras Rochas Foliadas, Biotita incluindo Silicatos de Fe, Mg, K, Al, Muscovita incluindo Silicatos Al e K. O Grupo Bambuí e Piumhi inclui a Cromita, os tipos petrográficos Siltitos, Ardósia, Filitos Calcíferos, Filitos Dolomitos incluindo minerais de argila, sericita, hemimorfita, galena, benda, fluorita, apatita, wavelita. Nestas regiões pode ocorrer a presença de elementos pesados como o Chumbo, Zinco e, outros como Prata, Vanádio, Fósforo, Níobio e Titânio. Deste modo, a Região de municípios limítrofes de São Roque de Minas apresenta uma grande variabilidade de rochas e de solos, criando assim, uma grande diversidade biológica, particularmente no contexto microbiológico. Do ponto de vista econômico, a região da Canastra destaca-se, principalmente, com grandes reservas de cianita e por depósitos de ilmenita e por faixas manganíferas.

O município de São Roque de Minas localiza-se na base mediana da Serra da Canastra, com altitude próxima de 900 metros e que se eleva

para o intervalo de 1.000 a 1.450 metros, com predomínio acima de 1.300 metros. A Serra da Canastra situa-se no interflúvio dos rios São Francisco, Paranaíba e Grande. O rio São Francisco nasce nas elevações altimétricas entre São Roque de Minas e os picos frontais da Serra da Canastra. Esta unidade geomorfológica apresenta-se, geralmente, envolvida por altos e extensos escarpamentos, a maioria deles controlados por fraturas e falhas de direções gerais Noroeste-Sudeste e Este-Oeste.

Próximo à região da nascente do São Francisco, há predominância de estruturas resultantes da dissecação fluvio-ativa e na parte setentrional apresenta-se como grande compacto de relevos, destacando-se a chaminé alcalina de Tapira, a escarpa para a Depressão do Rio Quebra Anzol, ao sul, a Depressão do Paranaíba e o Chapadão da Zagaia, que mais ao sul é envolvido por escarpa erosiva abrupta e elevada que dá origem à queda d'água Casca d'Anta, e à nascente do Rio São Francisco.

O solo nas regiões limítrofes de São Roque de Minas apresenta-se, notadamente, com tipologias quimo-diversas, incluindo: (i) solos pouco desenvolvidos, do tipo Liólicos (Ral) fracos; (ii) solos com horizontes B incipiente, dos tipos (Ca2 e Ca3) Cambissolo fracos; (iii) Latossolo Vermelho-Escuro (LE_d2 e LE_d5) argilosos de fracos a moderados, ou em alternância com (LE_a3) em relevo plano e suave ondulado; (iv) Latossolo Vermelho-Amarelo (LV_d1 e LV_d2) fraco e argiloso a forte e ondulado; (v) Solos com horizonte B incipiente, Cambissolo (Ce2 e Ce3) fraco e fortemente ondulado; Cambissolo (Cd5) argiloso fraco, ondulado a fortemente ondulado. Deste modo, pode-se observar uma diversidade de solos muito maior do que na região do Serro.

Na região e limítrofes do município de São Roque de Minas há o predomínio das vegetações de Campo e Atuações Atrópicas. Este pré-estudo considerou os municípios de Piumhi, Bambuí, Medeiros e Tapira.

As cotas altimétricas variando entre 900 e 1450 metros faz com que as temperaturas, nos vales, anualmente girem em torno de 18 a 22 graus Célcius e a umidade seja relativamente alta.

O estudo das características pedológicas, comparando-se as regiões do Serro e de São Roque de Minas, permitiu agrupar informações de alta relevância para o desenvolvimento e para a melhoria das práticas de fabricação artesanal de queijos.

2.2. Identidade de queijos artesanais com base na origem geológica.

A identificação da origem de um queijo, com base em sua composição química em termos de elementos metálicos críticos, é uma função que se estabelece sob o domínio do arraçoamento do

rebanho e, principalmente, do complexo ambiental constituído por fatores de clima, altitude e solo. Variações da ingesta alimentar tendem a não influenciar significativamente a composição mineral dos queijos.

Como proposto no projeto original, o Grupo de Trabalho buscou dados científicos sobre os fatores geológicos que vinculam as identidades para as origens dos queijos Serro e Canastra. O grupo já possui as informações sobre a composição química detalhada, em termos de elementos metálicos, para os citados queijos. A metodologia de Fluorescência de Raio X foi adotada para quantificar 20 elementos que, provavelmente, em associações com os respectivos padrões de identidade físico-química (Quadros 6 e 7), permitirão a identificação da origem dos queijos Serro e Canastra, em amostras coletadas em qualquer ponto da cadeia ou em qualquer mercado de venda direta ao consumidor.

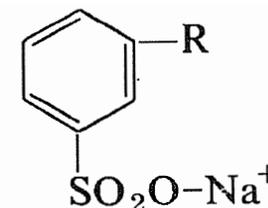
Contudo, em um momento mais oportuno, a análise final destes aspectos será objeto de relatório.

3. Conceituação e controle da higidez na produção de queijos de leite cru

3.1. Estado sanitário do rebanho

A partir de 1964, os estudos relativos à presença de células eucarióticas começaram a demonstrar que certos detergentes aniônicos neutros são capazes de penetrar os invólucros celulares criando uma nova estabilização DNA/carioteca nuclear/célula, isto é, uma partícula "célula-morta" com altíssima capacidade de associar-se e de demandar por água. Observou-se que este fenômeno foi capaz de induzir um grande aumento da viscosidade de um líquido, quando nele as células eucarióticas, particularmente as portadoras de carioteca bem desenvolvidas, a exemplo dos leucócitos e dos linfócitos, encontravam-se dispersas. Parece que a presença de uma carioteca bem desenvolvida é importante para a existência de uma boa correlação entre o aumento de viscosidade e o número de células somáticas, visto que, quando o leite se contamina com hemácias (que, nos mamíferos não possuem carioteca), não há interferência nos resultados. Neste caso, o detergente aniônico é o Triton X-100 que apresenta uma alta capacidade de penetrar células e estabilizar uma nova estrutura de altíssima solubilidade. Este processo foi significativamente facilitado com a fabricação dos detergentes de uso doméstico, a exemplo das formulações baseadas em sais completamente neutros, ou parcialmente neutros como a família de compostos alcil benzeno sulfonatos (derivados dos alcanos), como demonstrado na Figura 1. O grupamento 'R' pode ser constituído por uma cadeia alifática longa, podendo possuir polinsaturações ou não.

FIGURA 1 - Fórmula estrutural geral, responsável pelo poder de limpeza da maioria dos detergentes iônico-aniônicos de uso doméstico, como por exemplo o Limpol®.



[Alcilbenzenosulfonato de sódio]

(Linstromberg, 1966)

De fato, o que há é uma solubilização dos leucócitos e, como consequência, há um grande aumento de viscosidade do líquido. Este princípio permitiu o desenvolvimento de métodos tecnologicamente precisos, de baixo custo e extremamente simples de serem conduzidos em qualquer ambiente. Com freqüência, os resultados obtidos de forma padrão se equiparam aos obtidos com instrumentações sofisticadas e totalmente automatizadas, como por exemplo, o sistema Fossomatic 4000 que apresenta uma capacidade analítica de 500 a 1000 amostras por dia, além da contagem de leucócitos, incluindo outros cinco parâmetros analisados em 8 segundos e por uma única unidade analítica.

Deste modo, quando se mistura uma amostra de "leite cru" com um detergente, numa proporção volumétrica de 1:1 e na concentração ideal, existe uma excelente correlação entre incrementos de viscosidade e o número de células somáticas presentes na amostra. Como a viscosidade pode ser medida indiretamente em função do tempo de escoamento do líquido através de um orifício padrão, podemos utilizar um simples tubo plástico, provido de orifício de escoamento calibrado (1,2 mm de diâmetro), para medir a variável tempo de escoamento total ou mm da mistura escoada em um tempo padrão e, estatisticamente correlacioná-lo com o número de células somáticas, que se deseja conhecer na amostra de "leite cru".

Partindo-se de rebanhos "certificados", isto é, livres de tuberculose, brucelose, listeriose, aftose e outras fisiopatologias, admitindo-se, como tolerância para a soma de todas as doenças ocorriáveis em rebanhos lactantes, é seguro afirmar que: (i) a higidez necessária para a produção de queijos a partir de leite cru exige, para todas estas fisiopatologias ocorrentes, a busca do limite ideário inferior, representado por um nível de incidência e/ou de prevalência de 1% das vacas e do limite superior de

tolerância representado por 3% das vacas, acima do qual o produtor deve perder o direito à fabricação de queijos de leite cru e por um tempo estabelecido em legislação específica.

O leite de tetas, glândulas ou úberes mamíferos não poderá ser aproveitado para a granelagem do volume útil que será destinado à produção do queijo. O exame diário, aqui conceituado com um pré-diagnóstico da mastite, poderá ser realizado pelo teste do viscosímetro artesanal, de acordo com as recomendações registradas nos itens

subseqüentes (Veiga *et alii*. 1995a,b). No contexto deste documento, define-se uma vaca leiteira portando mastite quando a determinação no número de células somáticas resultar superior a 300.000 SCC/mL, empregando-se a Tabela indicada neste texto (Quadro 5 e de acordo com a metodologia descrita em itens subseqüentes). Estes critérios já foram suficientemente testados por Veiga *et alii*. (1995a,b) e podem ser aplicados para garantir a higidez do leite cru que se destina à fabricação de queijos artesanais.

QUADRO 5 - Tabela de correlação entre os testes CMT, WMT, Contagem de Células Somáticas / mL (método Fossomatic 90, eletrônico) e as perdas correspondentes experimentadas pelo produtor de leite: abaixo de 300.000/ml = Leite Hígido; MSC = mastite sub-clínica; MCE = mastite clínica em evolução; MCA = mastite clínica fase aguda; os níveis de risco indicados referem-se à ingestão de queijos a partir de leite cru.

CMT (visual)	WMT(mm)	CCS/mL Fossomatic	Perdas na Produção	
0	3	140.000	LEITE HÍGIDO	
	4	165.000	5% LEITE HÍGIDO	
	5	195.000	LEITE HÍGIDO	
	6	225.000	a BAIXO RISCO	
	7	260.000	BAIXO RISCO	
	Traços(visuais)	8	300.000	8% RISCO TOLERÁVEL
		9	340.000	
		10	380.000	
		11	420.000	M.S.C.
		12	465.000	
13		515.000		
14		565.000		
15		620.000	9%	
16		675.000		
+		17	730.000	a M.C.E.
	18	780.000		
	19	855.000	13%	
	20	920.000		
	21	990.000		
	22	1.055.000		
	23	1.130.000		
	24	1.200.000	19%	
	25	1.289.000		
	26	1.380.000		
++	27	1.440.000		
	28	1.525.000	a M.C.A.	
	29	1.610.000		
	30	1.700.000		
	31	1.800.000		
	32	1.920.000		
	33	2.030.000	25%	
	34	2.180.000		
	35	2.280.000		

3.2. Determinação do número de células somáticas pelo "viscosímetro" artesanal: teste WMT

Este método foi desenvolvido nos EEUU a partir do método CMT. A referência, junto da documentação original do seu desenvolvimento, encontra-se registrada na décima terceira edição do "Standard methods for the examination of dairy products" publicada pela "American Public Health Association" APHA (1972).

O método WMT pode ser realizado com um único tubo plástico padrão, provido de duas tampinhas de cobre, sendo uma com orifício padrão de 1,2 mm de diâmetro e a outra hermetizante. O tubo deve ser transparente, ter o diâmetro interno padrão e deve possuir uma escala volumétrica de 0 a 35 mm. No interior do tubo, cada cm de altura deve corresponder ao volume de 1cm³. Portanto, o tubo deve possuir um Ø interno exato de 1,1284 cm e a escala em mm deverá estender-se no mínimo por 6,00 cm de altura. O tubo transparente recomendado tem uma parede fina com um respirador lateral para uniformizar a pressão interna com a pressão atmosférica, não deve ser de vidro apenas por ser facilmente quebrável e poderá ter 15 cm de comprimento total. A tampinha metálica possuindo um orifício padrão centralizado, deve ser de cobre e construída por pressão hidráulica utilizando chapas com a espessura mais fina possível (0,15 a 0,20 mm). Esta fina espessura ajuda a reduzir o coeficiente de variação e melhora a repetibilidade dentro de um conjunto de dados para uma mesma amostra de "leite cru". Alternativamente, estes tubos padronizados, em conjunto com um dispositivo instrumental que permite a análise simultânea de 24 ou 48 amostras, podem ser importados de Winsconsin - USA (*Rhinehart Development Corp.*: itens: 'plastic tubes n° 28036 costing US \$ 0,43 each; metal cap n° 28035 costing US \$ 0,90 each; aluminium rack n° 28037 costing US \$ 13,99 each; fax: 2192384447; and tel. 2192384442").

O método pode ser executado com um único tubo ou com um conjunto de tubos em múltiplo de quatro (4, 8, 12, 16, ... 24, 48 tubos). A marcha protocolar do método foi descrita (abaixo) considerando um único tubo e sem qualquer artifício instrumental para realização de múltiplas amostras:

- (i) retirar a tampinha perfurada do tubo e colocar 2 ± 0,01 mL de leite cru (amostra homogênea) à temperatura de 25 ° C;
- (ii) juntar ao leite exatamente 2 ± 0,01 mL do reativo CMT previamente diluído na proporção de 1:1 com água destilada e à temperatura de 35 ° C;

- (iii) recolocar a tampinha perfurada (orifício de 1,20 ± 0,01 mm de diâmetro);
- (iv) vedar ambos os orifícios com os dedos, isto é, o orifício da tampinha perfurada e o respirador lateral do tubo;
- (v) para homogeneizar a mistura dos líquidos no interior do tubo, invertê-lo girando até 90° por 20 vezes e em ambos os sentidos, isto é, a favor e contra o movimento dos ponteiros de um relógio;
- (vi) interromper a homogeneização posicionando o tubo com a tampinha perfurada para cima;
- (vii) com um cronômetro à mão, inverter o tubo girando 180° deixando-o escoar durante 10 segundo e, rapidamente, voltá-lo à posição original paralisando o escoamento ao final dos 10 segundos já citados;
- (viii) anotar o nível final do líquido que restou no interior do tubo e registrar o resultado em mm, e;
- (ix) *interpretação*: quanto maior for o volume de líquido retido no interior do tubo, maior será o número de células somáticas contido na amostra de "leite cru"; para a interpretação final do dado, consultar a Tabela 5 demonstrada anteriormente.

Este método, quando executado com rigor, permite obter uma correlação próxima de 1 (0,978) com o equipamento eletrônico de contagem celular, pelo menos para o intervalo de 300.000 a 1.500.000 células somáticas / mL.

O "reativo CMT", já diluído na proporção 1:1 com: água, pode ser preparado do seguinte modo:

- (i) Preparar 100 ml da solução de *Púrpura de bromocresol* na concentração de 0,5% em água destilada,
- (ii) preparar 100 ml da solução de *Verde de bromocresol* na concentração de 0,5% em água destilada,
- (iii) juntar os seguintes componentes para preparar o diluente/detergente: 300 ml de *Limpol*®, simples sem perfume, neutro, não biodegradável e em concentração comercial padrão; + 1520 ml de água destilada; + 15 ml da solução de *Púrpura de bromocresol* a 0,5%; + 5 ml da solução de *Verde de bromocresol* a 0,5%;
- (iv) ajustar o pH 7,00 ± 0,10, utilizando hidróxido de sódio em solução a 10%;
- (v) a solução já diluída, preparada do modo acima, está pronta para utilização no teste WMT na forma descrita anteriormente. O produto diluído, preferencialmente de preparo recente, pode ser conservado em geladeira durante 30 dias.

3.3. Higidez - O leite cru é considerado hígido quando, no ato de sua coleta ou no momento de sua utilização artesanal, atender às exigências e aos limites de tolerância seguintes:

3.3.1. Como limite superior de tolerância:

- 3.3.1.1. Flora microbiana total \leq 100.000 ufc/ml.
- 3.3.1.2. Células somáticas \leq 300.000 unidades/ml
- 3.3.1.3. *Staphylococcus aureus* \leq 1.000 ufc/ml
- 3.3.1.4. *Escherichia coli* \leq 1.000 ufc/ml
- 3.3.1.5. *Salmonella* ausência/1.000 ml
- 3.3.1.6. *Streptococcus* β - hemolíticos (Lancefield A, B, C, G e L) ausência/0,1 ml.

3.3.2. Como limite inferior desejável a longo prazo, por meio da melhoria contínua de qualidade e higidez:

- 3.3.2.1. Flora microbiana total \leq 10.000 ufc/ml.
- 3.3.2.2. Células somáticas \leq 100.000 unidades/ml.
- 3.3.2.3. *Staphylococcus aureus* \leq 100 ufc/ml.
- 3.3.2.4. *Escherichia coli* \leq 100 ufc/ml.
- 3.3.2.5. *Salmonella* ausência/1.000 ml.
- 3.3.2.6. *Streptococcus* β - hemolíticos (Lancefield A, B, C, G e L) ausência/0,1 ml.

3.3.3. For obtido de rebanhos certificados por imunizações contra tuberculose, brucelose, listeriose e serem livres de zoonoses no universo delimitado do manejo controlado. Pela aplicação dos princípios recomendados por Vargas (1996) o nível de imunidade do rebanho será sempre favorecido pela adoção preferencial da alimentação que emprega Gramíneas frescas e verdes na composição da massa alimentar para vacas em lactação.

CAPÍTULO II NORMAS MÍNIMAS PARA PRODUÇÃO E CONTROLE DO LEITE DESTINADO À FABRICAÇÃO DE QUEIJOS ARTESANAIS

1. Do retiro, sua localização e instalação

O retiro deve apresentar as seguintes condições:

- 1.1 - Estar localizado em pontos distantes de fontes produtoras de mau cheiro;
- 1.2 - Dispor de dimensões mínimas diretamente proporcionais ao número de animais a serem ordenhados, recomendando-se 2,5 m²/animal;
- 1.3 - Dispor de piso impermeável, revestido ou rejuntado de cimento áspero, com declive não inferior a 2% e provido de canaletas sem cantos arredondados de largura, profundidade e inclinação su-

ficientes, de modo a permitir fácil escoamento das águas e resíduos orgânicos;

1.4 - Dispor de água potável, preferencialmente água potável-natural, com os níveis recomendados para os microelementos de importância nutricional, com qualidade e quantidade necessárias à manutenção do ambiente em condições satisfatórias de higiene, antes, durante e após a ordenha, bem como à limpeza de utensílios utilizados e para a ingestão de animais e pessoas (a água potável ideal para um sistema de produção de leite integrado à fabricação de queijo não deve conter cloro residual acima de 0,1 ppm, porém, esta condição nem sempre é tecnicamente viável);

1.5 - Ter pé-direito mínimo de 2,50 m a contar da face inferior do tensor da tesoura até o piso do retiro;

1.6 - Ter cobertura com telhas comuns, zinco, alumínio ou outro material aceito pelo SIE, não sendo permitido o emprego do amianto em qualquer aplicação;

1.7 - Ter instalações sanitárias para ordenhadores (pia, vaso sanitário, chuveiro, etc.), induzindo a prática contínua da higiene pessoal e do ambiente.

2. Da higiene na produção

2.1. Manter o rebanho leiteiro sob assistência de médico veterinário, que será responsável pelo controle de endo e ectoparasitas, mamites, brucelose, tuberculose e outras doenças que venham afetar o seu estado sanitário e a qualidade do leite. Uma atenção especial deverá ser dada às práticas de defesa animal e vegetal, para evitar qualquer possibilidade de resíduos quimioterápicos veiculados para o leite ou para o queijo que se destina ao consumo humano;

2.2. O pessoal que trabalha no retiro deverá ser portador de carteira de saúde fornecida por autoridade sanitária competente e apresentar hábitos higiênicos;

2.3. Antes de iniciar-se a ordenha, os tetos devem ser cuidadosamente limpos, recomendando-se o uso de solução sanitizante aprovada pelo SIE e nas concentrações recomendadas pelos fabricantes;

2.4. No ato da ordenha manual deve ser preferentemente usado o balde de abertura lateral, sem costuras e soldas que venham a dificultar sua limpeza;

2.5. Deve haver o cuidado de rejeição dos três primeiros jatos de cada teta, preferentemente sobre uma caneca de fundo escuro, com a finalidade de se eliminar o leite de maior contaminação e se constatar mamites;

2.6. O animal com mamite deve ser ordenhado por último e seu leite não pode ser aproveitado;

2.7. O animal tratado com antibióticos, antihelmínticos e outros medicamentos somente poderá ter o seu leite destinado à alimentação humana após

sua eliminação e de conformidade com as precauções de uso do produto.

2.8. O leite deve ser coado logo após a ordenha em coador apropriado (10 a 15 meshes), de aço inoxidável, plástico ou ferro estanho, abolindo-se o uso de panos;

2.9. O leite da segunda e/ou terceira ordenhas deve ser mantido sob refrigeração a 4° C quando for destinado à fabricação de queijo no dia seguinte;

2.10. Admite-se a mistura de leites das diversas ordenhas da propriedade, desde que seja o mesmo imediatamente resfriado (máximo 4°C) e acondicionado em recipiente adequado até o momento da fabricação do queijo. A mistura de leites de duas ou mais propriedades deve ser procedida de coleta de amostras para análise, de forma a permitir a apuração da higiene praticada na origem.

3. Do transporte do local de ordenha à sala ou à unidade de fabricação distante

3.1. O vasilhame contendo leite, a ser transportado para o local de fabricação, deve permanecer resguardado da poeira, dos raios solares e das chuvas, devendo estar sempre protegido, pelo menos, em abrigos rústicos;

3.2. O "veículo coletor", se for o caso, deve ser provido de toldo protetor (lona). Este terá a finalidade de resguardar os vasilhames contendo leite, dos raios solares e chuvas;

3.3. A medição e/ou transvase de leite não deve ocorrer em ambiente que o exponha a contaminação;

3.4. A chegada do leite, oriundo do local de produção, deve ocorrer dentro de no máximo duas horas do pós-ordenha, para as situações em que o leite não tenha sido rapidamente resfriado a 4°C. O leite da segunda ordenha poderá ser utilizado para fabricação no dia seguinte quando for rapidamente resfriado a 4°C num prazo máximo de 1,5 horas do pós-ordenha.

3.5. As operações de transferência do leite resfriado aos locais distantes, devem cercar-se dos indispensáveis cuidados de higiene, visando a preservação das condições de obtenção e de manutenção da matéria prima. A temperatura máxima a ser observada na chegada do leite cru a qualquer destino será sempre de 7°C.

4. Do controle em condomínios de produtores associados

4.1. Recepção

Diariamente, o produtor deve testar a higidez do leite granelado pela determinação do número de células somáticas aplicando o método exatificado do

viscosímetro artesanal; caso esta contagem supere 300.000 células somáticas / mL, o Veterinário será responsável pela identificação das tetas e dos animais que devem ser isolados para um ritual de ordenha em separado dos demais.

4.1.1. Realização diária da seleção, lata por lata, ou tanque por tanque pelo teste de alizárol com o mínimo de 72°GL, é procedida de homogeneização com agitador apropriado, podendo ser realizadas outras provas a juízo do Serviço de Inspeção Estadual.

4.1.2. Coleta de amostra por produtor, no mínimo 2 (duas) vezes por mês, para análise completa, inclusive redutase, (pesquisas de conservador e/ou inibidor, neutralizante de acidez, reconstituente da densidade, contagem de mesófilos a 30°C e "Ring Test" a cada 3 meses.

4.1.3. O leite que for desclassificado deve ter destino conveniente, conforme os critérios de inspeção baixados pela Inspeção Estadual.

4.1.4. Os latões e sua higienização devem merecer atenção especial, devendo ser afastados aqueles avariados ou que necessitem reparos. A última etapa da higienização deverá ser com ar quente e seco.

4.1.5. Recomendações para desenvolvimento de qualidade de leite.

O "leite cru" é um produto altamente sensível e, nesta condição, não é capaz de suportar certos tratamentos físicos agressivos, particularmente quando o processo implica na sua exposição à dissolução de oxigênio molecular do ambiente. Deste modo, os tanques de resfriamento que possuem agitadores mecânicos, no que se referem aos desenhos, devem possuir agitadores helicoidais de diâmetro reduzido e, além disto, devem operar com especificações de rpm entre 20 e 40. A agitação do "leite cru" mantido na fazenda deve ser realizada apenas quando for necessária, isto é, durante a primeira hora de resfriamento, até que a temperatura seja reduzida para 4°C, ou antes da realização de tomadas de amostras representativas do conjunto.

O "leite cru" não deve ser submetido às bombas centrífugas ou às bombas de alta velocidade, capazes de imputar ao produto uma agitação turbulenta. As lipases naturais do leite, pelo efeito de agitação turbulenta, podem ser prematuramente ativadas e os produtos finais poderão apresentar-se com inúmeros defeitos consecuentes. Recomenda-se, para "leite cru", as bombas positivas que operam com velocidades inferiores a 700 rpm.

O "leite cru" deve ser coletado e transportado em continentes completamente cheios, para que se possa evitar danos às membranas dos glóbulos de lípidos e, conseqüentemente, ativação de lipases e liberação de gordura livre.

4.2. Granelagem e dupla filtração (10 a 15 e 60 a 70 meshes)

4.2.1. O leite que se destinar à granelagem para fabricação de queijos artesanais deverá ser filtrado através de malha grossa (10 a 15 meshes) e de malha fina (60 a 70 meshes), preferencialmente tecida em fios de aço inoxidável, aceitando-se os tecidos em fios de plásticos inertes e resistentes aos produtos de limpeza;

4.2.2. A estocagem do leite cru deverá ser realizada em tanques à temperatura máxima de 4°C e não inferior a 1°C;

4.2.3. Para o controle microbiológico do leite cru, deverão ser colhidas amostras nos pontos indicados, numa frequência que garanta a avaliação representativa da produção diária:

- (i) no tanque de fabricação de queijo antes da adição do fermento ou do soro-fermento;
- (ii) no tanque de fabricação de queijo após a adição do soro-fermento e do coalho;

O queijo produzido deverá ser controlado quanto:

- (iii) ao pH ou à acidez 18 horas após a fabricação do dia;
- (iv) à enumeração de coliformes totais e fecais antes da entrada na câmara de maturação, sempre com termostato para controle da temperatura no intervalo de 19 a 21°C; o controle desta temperatura de câmara pode

ser facilmente mantido com um pequeno sistema de condicionamento de ar, neste caso, após desmontado e ter os componentes elétricos protegidos ou removidos a cada dois meses, a instrumentação deve ser cuidadosamente lavada com água e detergente neutro e reinstalada;

- (v) à enumeração de *Staphylococcus aureus* e Coliformes fecais ao final do período de maturação, no máximo 20 dias após a fabricação, tendo o queijo sempre manutenção à temperatura de 19 a 21°C durante este período.

4.2.4. O queijo embalado e hermetizado a vácuo, após completado o período de maturação, deverá ser estocado, transportado e, em qualquer tempo, ser sempre mantido à temperatura de 4 a 7°C.

CAPÍTULO III PADRÕES DE IDENTIDADE E QUALIDADE DOS QUEIJOS

Os dados originais, resultantes de amostras coletadas nos Municípios do Serro e de São Roque de Minas, estão documentados no Anexo 1 deste documento. Os Quadros 6 e 7 demonstram sínteses de estatísticas descritivas de acordo com Bonilla (1995).

1. Limites da composição físico-química do queijo do Serro

QUADRO 6 - Limites para a composição físico-química do queijo Serro, com base em 25 amostras coletadas em 25 produtores do Município do Serro em 1997⁸.

Parâmetro N=25 em (g %)	Σx_i	Média	σ	Limite Inferior	Limite Superior	Limites Observados	ρ
Acidez	27,223	1,089	±0,327	0,954	1,224	0,76 a 1,42	0,05
Cinzas (550°)	99,973	3,999	±0,826	3,659	4,339	3,17 a 4,82	0,05
Cloretos	35,848	1,434	±0,683	1,153	1,715	0,75 a 2,12	0,05
EST	1.123,2	44,928	±2,497	43,899	45,957	42,4 a 47,4	0,05
Gordura	529,91	21,196	±1,966	20,386	22,006	19,2 a 23,2	0,05
Lactose	61,129	2,449	±0,613	2,192	2,698	1,83 a 3,06	0,05
NPN (massa)	16,319	0,653	±0,131	0,599	0,707	0,52 a 0,78	0,05
NS (N.6,35)	36,140	1,446	±0,324	1,313	1,579	1,12 a 1,77	0,05
Proteínas _B	379,57	15,18	±1,179	14,697	15,669	14,0 a 16,4	0,05
pH	131,72	5,269	±0,273	5,157	5,381	5,00 a 5,50	0,05
Umidade	1370,7	54,83	±2,666	53,731	55,927	52,2 a 57,5	0,05

⁸ Dados obtidos no Laboratório de Físico-química do Centro de Pesquisa e Ensino Instituto de Laticínios do Tostes em 1997.

2. Limites da composição físico-química do queijo Canastra

Os dados originais, resultantes de amostras coletadas nos Municípios do Serro e de São Roque de Minas, estão documentados no Anexo 1 deste documento. Os Quadros 6 e 7 demonstram sínteses de estatísticas descritivas de acordo com Bonilla (1995).

3. Limites para higidez do produto acabado

O processo de fabricação de queijos a partir do "leite cru" deve incluir vários testes de segurança do processamento e relatórios informando tanto a origem da matéria-prima por lote fabricado quanto os dados da contabilidade física e os parâmetros que garantem a evolução segura do processamento. Os registros mais importantes são: (i) o progresso da acidificação do leite a partir da adição do fermento naturalmente selecionado no soro ácido, pela elevação de 2 a 3° D no tempo compreendido entre a adição do soro-fermento e a moldagem, (ii) a coagulabilidade do leite, expressa pelo tempo de formação do coágulo a partir da adição da quimosina de bezerro, que deve girar em torno de 45 ± 5 minutos, e (iii) registros de temperaturas, medidas de pH ou acidez e anotações dos ingredientes lacto-alimentares incorporados ao processamento no decorrer de todo o fluxo operacional da fabricação, até atingir a fase final do acabamento. Ao final de

18 horas após a enformagem, os queijos devem apresentar um pH de 5,20 ± 0,10, indicando que a cultura láctica foi capaz de atuar efetivamente, competindo com outros microrganismos indesejáveis.

O queijo de "leite cru" poderá ser fabricado em uma unidade de produção e transportado para uma outra com a finalidade de análise, acabamento e embalagem final. Dar-se-á preferência, para a embalagem final, à aplicação de películas plásticas herméticas com a eliminação total do ar pela aplicação de vácuo e pelo encolhimento térmico a 85°C. Entretanto, para a comercialização dos queijos artesanais fabricados de "leite cru", pode-se admitir três tipos de embalagens: (i) película plástica simples, 100% hermética e acabada com a aplicação de vácuo e calor para encolhimento, (ii) película permeável ao ar, desde que associada com uma segunda camada externa capaz de filtrar partículas e microrganismos contaminantes do ambiente, bloqueando o acesso ao produto, e (iii) embalagem inflada com atmosfera de gases controlados (CO₂ : N₂ = 1:1) protegida por um continente externo mais rígido. Nestas três hipóteses, o queijo deve ser distribuído e comercializado à temperatura de 4°C. O tempo máximo de vida-de-prateleira não deve ultrapassar 30 dias contados a partir da data de fabricação. A partir do final da maturação, o queijo deve ser estocado, conservado, transportado ou comercializado sempre no intervalo de temperatura de 1 a 7 °C.

Os queijos acabados e adequadamente embalados com películas 100% herméticas, quando

QUADRO 7 - Limites para a composição físico-química do queijo Canastra, com base em 28 amostras coletadas em 28 produtores do Município de São Roque de Minas em 1997⁹.

Parâmetro N=28 em (g %)	Σx_i	Média	σ	Limite Inferior	Limite Superior	Intervalos Observados	ρ
Acidez	24,654	0,880	±0,216	0,7966	0,9644	0,416 a 1,410	0,05
Cinzas (550°)	121,78	4,350	±0,781	4,0467	4,6533	2,783 a 5,816	0,05
Cloretos	52,684	1,882	±0,590	1,6525	2,1107	0,773 a 3,203	0,05
EST	1461,0	52,18	±3,422	50,851	53,509	43,84 a 58,81	0,05
Gordura	721,82	25,78	±3,126	24,566	26,994	19,00 a 33,17	0,05
Lactose	70,481	2,517	±0,726	2,2352	2,7991	1,410 a 3,806	0,05
NPN (massa)	23,950	0,855	±0,477	0,6701	1,0406	0,350 a 1,853	0,05
NS (N.6,35)	26,918	0,961	±0,900	0,6119	1,3108	0,186 a 4,356	0,05
Proteínas _B	527,48	18,84	±2,179	17,992	19,685	14,99 a 22,56	0,05
pH	156,01	5,572	±0,427	5,4063	5,7377	4,913 a 5,986	0,05
Umidade	1339,0	47,82	±3,443	46,483	49,158	41,19 a 56,41	0,05

⁹ Dados obtidos no Laboratório de Físico-química do Centro de Pesquisa e Ensino Instituto de Laticínios Cândido Tostes em 1997.

necessário o transporte a distâncias longas e quando for imperativo um longo processo de comercialização, poderão ser comercializados à temperatura de -20°C durante um período de até três meses, desde que mantidos sob congelamento contínuo durante todo o período. O congelamento de queijos, embora seja um procedimento caro e potencialmente capaz de modificar o corpo e a textura dos queijos, por outro lado, é significativamente interessante por constituir-se em um processo capaz de destruir células Gram (-)¹⁰, reduzindo a probabilidade de veiculação de patogênicos no produto final.

Os queijos fabricados de "leite cru" devem, obrigatoriamente, apresentarem-se positivos aos testes de peroxidase e fosfatase.

O produtor, proprietário da unidade de fabricação de queijos, será responsável pelo processo

de controle de qualidade. O diagnóstico da presença de *Salmonella* e dos *Streptococcus* deverá ser realizado a cada três meses. O NMP de coliformes fecais deve ser determinado diariamente e imediatamente após o processo de embalagem e/ou expedição, periodicamente, no término do período de validade.

Em todas as unidades onde existe a fabricação de queijos a partir de "leite cru", há que se dispor de pessoal treinado e de pelo menos um Técnico em Laticínios responsável, ou um queijeiro capacitado na arte e na ciência do processo.

Durante os dez primeiros dias de estocagem dos queijos em ambientes higiênicos e refrigerados, a temperatura não pode superar 21°C. Para os casos em que o tempo de maturação superar os 10 dias, a temperatura de maturação não deve ser superior a 19°C. Ao longo deste processo, os queijos devem

QUADRO 8 - Padrões de identidade e qualidade microbiológica, provisivos, como ponto de partida para melhoria contínua de qualidade para os queijos Serro e Canastra fabricados de leite cru nos Municípios do Serro e de São Roque de Minas¹¹.

C. microbiológica (data expedida)	Limites de higidez: (fim da validade)	Limites de higidez: (queijos naturais)	Método indicado:
Aeróbios a 30°C/g ¹²	10 ⁵	10 ⁶	FIL 100B:1991
Coliformes 45° C/g ¹³	10 ²	10 ³	APHA (1992)
<i>Salmonella</i> em 25g ¹⁴	ausência	ausência	FIL 93A:1985
<i>Staphy. aureus</i> /g ¹⁵	10 ²	10 ³	FIL 145:1990
<i>Streptococcus</i> b hemolíticos A, B, C, G e L ¹⁶	ausências em 0,10 g	ausência em 0,10 g	France, DGAL/SV HA /N°87/N°8149; 02/11/87(1985)
<i>L. monocytogenes</i> ¹⁷	ausência em 25 g	ausência em 25 g	FIL 143: 1990
Mofos e Lêvedos/g ¹⁸	5 x 10 ²	5 x 10 ³	FIL. 94B:1991

¹⁰ As bactérias Gram (-) possuem envoltórios altamente delicados e de finas espessuras e, deste modo, suas organizações celulares podem ser destruídas por congelamento lento.

¹¹ Este quadro faz referência aos queijos com a atividade de água $A_w > 0,970$ na escala divulgada por Van Dender (1995) onde: $A_w = 1,024321 - 1,157 \cdot 10^{-4} \text{ DPC}$, ou com a umidade superior 50 a 58%, em qualquer momento do período de validade; estes queijos devem apresentar fosfatase e peroxidase positivas (+++), em qualquer fase da comercialização e, além disto, devem estar em conformidade com os requisitos microbiológicos de segurança e qualidade recomendados no Quadro 8. Devem também se apresentar totalmente livres de pelos, partículas estranhas ou de contaminação com fragmentos de insetos.¹¹

¹² Microrganismos aeróbios quantificados à temperatura de incubação de 30° C/48 a 72 horas.

¹³ n = 5; c = 2; m = 50; M = 500 (Brasil, MAARA, 1996).

¹⁴ n = 5; c = 0; m = 0 (Brasil, MAARA, 1996).

¹⁵ n = 5; c = 1; m = 500; M = 500 (Brasil, MAARA, 1996).

¹⁶ n = 5; c = 0; m = 0. Quando a contagem de *Streptococcus* no primeiro plaqueamento em ágar sangue for inferior a 5 ufc/mL de uma diluição correspondente a 10% (peso/volume), considera-se apenas a contagem de coliformes fecais.

¹⁷ n = 5; c = 0; m = 0 (Brasil, MAARA, 1996).

¹⁸ n = 5; c = 2; m = 50; M = 500.

ser examinados e testados para verificar se o processo segue o curso normal e se o produto final não irá apresentar defeitos ou contaminações indesejáveis.

Quando o produto apresentar características anormais, tais como: (i) *excesso de proteólise*, que na prática pode ser verificado pelo amolecimento e a perda do corpo e da textura do queijo com consequentes deformações, (ii) deriva de odores e sabores amargos em relação à expectativa para o tipo tradicional de queijo, e (iii) ocorrência de manchas superficiais indicadoras de contaminações indesejáveis e/ou do efeito de agentes oxidantes tóxicos, o produto final não poderá ser expedido para consumo humano. É normal que o pH do queijo se eleve até 5,40 aos 15 dias após a fabricação e até 5,50 aos 30 dias de maturação-estocagem pós-prensagem. Este pH de 5,50 corresponde a aproximadamente 13% das proteínas parcialmente proteolisadas.

A prática da requeija, isto é, o reprocessamento de queijos com defeitos visando o consumo humano, exige que o produto esteja isento de toxinas microbianas termo-estáveis. Estas toxinas, em geral, são liberadas quando os queijos com $A_w \geq 0,940$ e com contagem total de aeróbios a 30°C $\geq 10^6$, são mantidos em estocagem ou maturação por um longo período (≥ 40 dias no intervalo de 19 a 21° C). Entre as toxinas que podem ser acumuladas estão incluídas: (i) lipases, (ii) proteases, (iii) sacaridasas e polisacaridasas, e (iv) amins biogênicas oriundas do metabolismo de bactérias decarboxilantes.

O queijo fabricado com leite cru, seja o Serro ou o Canastra, deve estar em conformidade com os padrões microbiológicos demonstrados no Quadro 8.

CAPÍTULO IV PLANO DE MELHORIA CONTÍNUA DA QUALIDADE

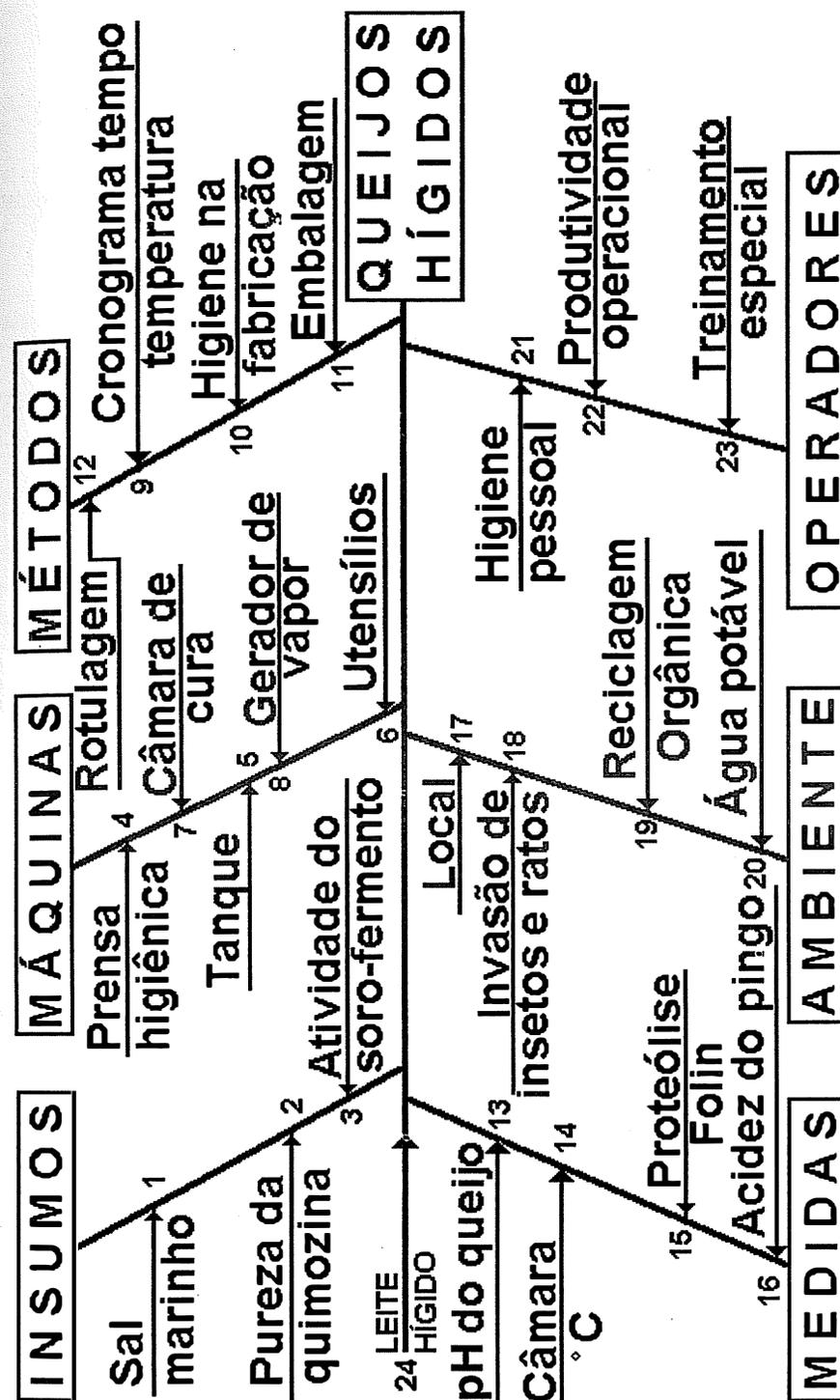
1. Metodologia para melhoria contínua da qualidade de queijos artesanais (uma porposta orientativa como ponto de partida)¹⁹

PDCA	Fluxograma	Fase	Objetivo
P	1	Os consumidores de queijos frescos de leite cru estão sujeitos a dois grupos de riscos (i) queijos não hígidos; (ii) queijos comercializados sem as fiscalizações tributária e sanitária.	Desenvolver, normatizar e regulamentar a comercialização e o processo produtivo dos queijos artesanais do Estado, criando um plano de desenvolvimento contínuo de qualidade e higidez nos mercados.
	2	1)- <u>Não há padronização</u> : (i) de umidade; (ii) de gordura; (iii) de proteínas; (iv) o pH não se reduz rapidamente para 5.2 em 18 horas. 2)- <u>Baixos níveis de higidez</u> : (i) as vacas não recebem um trato zootécnico padronizado; (ii) o leite apresenta uma alta carga biológica; (iii) o processo de fabricação é precário do ponto de vista higiênico.	1)- Divulgar uma técnica de fabricação padrão, viabilizando e exigindo o cumprimento de tempo, temperatura e tamanho de grão constantes e adequados, assegurando a padronização da umidade no queijo acabado. 1)- Padronizar, de acordo com as disponibilidades alimentares regionais, a complementação alimentar de vacas lactantes e a redução na variabilidade de gordura e proteínas nos queijos. 3)- Reduzir a carga biológica do leite cru implementando o controle da mastite e as práticas de higiene no processo. 4)- Introduzir práticas racionais de embalagem de proteção comercial para o produto acabado.
	3	1)-Isolamento sócio-econômico do produtor rural. 2)- Escala produtiva em volume abaixo do mínimo considerado viável pela maioria dos órgãos oficiais de fomento ao desenvolvimento de processos mais tecnificados	1)Criar associações ou condomínios de produtores artesanais de queijos objetivando: (i) integrar os objetivos sociais e econômicos visando a maximização dos potenciais de renda disponíveis na produção de queijos artesanais no meio rural; (ii) buscar o desenvolvimento contínuo da qualidade total.

¹⁹ Seguir os métodos de solução de problemas "QC STORY" (Bonilla, 1994).

Metodologia para melhoria contínua da qualidade de queijos artesanais (continuação).

PDCA	Fluxograma	Fase	Objetivo
	4	1)- Formular o programa Pró-queijo de incentivo à produção de queijos artesanais por meio de associações de produtores independentes. 2)- Criar uma programação de fomento técnico e financeiro especificamente voltada para as associações independentes de produtores artesanais de queijos.	1)-Gerar e disponibilizar dados técnico-científicos para implementar a qualidade total na produção artesanal de queijos a partir de leite cru. 2)-Padronizar procedimentos e criar uma legislação especial e abrangendo origens específicas no Estado. 3)-Regulamentar o programa de produção qualitativa de queijos artesanais por meio de associações independentes de produtores.
D	5	Implementação do programa; 1º Ciclo de PDCA:	1)-Reunião com a participação de grupos de produtores e de técnicos da SEAPA. 2)-Mostrar a visão preliminar da SEAPA sobre o programa idealizado. 3)-Captar as expectativas e os anseios dos produtores visando a concepção de um planejamento efetivo do programa de qualidade total para a produção de queijos artesanais.
C	6	Verificar a probabilidade de sucesso da concepção original do programa. Caso as sugestões apresentadas pelos produtores sejam favoráveis: aceitá-las? ou se desfavoráveis: não aceitá-las? Caso resultem positivas: atenderão às expectativas e aos anseios do produtores?	Incorporar as expectativas e os anseios expressos pelos produtores à concepção original do programa, desde que aquelas atendam às expectativas do mercado consumidor e sejam economicamente viáveis.
A	7	Reavaliar, em uma concepção aperfeiçoada pelos atores interessados no sucesso do programa e reajustar às exigências de um consumidor de queijos cada vez mais exigente de qualidade e segurança sanitária.	Buscar a conformidade com a legislação sanitária que protege a saúde do consumidor. Criar nova legislação específica, se for o caso. Introduzir novos conceitos de padronização, identidade de composição, qualidade sanitária e embalagem diferencial capaz de aumentar o valor agregado ao produto final e incrementar a renda de pequenos produtores rurais de queijos. Disponibilizar novas alternativas para a implementação do plano de desenvolvimento programado.
	8	Refletir sobre o plano e concluir:	Buscar uma estratégia que possa complementar o plano e aumentar a probabilidade de sucesso do plano de qualidade e segurança sanitária pelo selo azul, em um novo ciclo PDCA



2. Diagrama geral de causa e efeito para a baixa qualidade dos queijos artesanais

DEFEITO	FATOR CAUSAL	ÍTEM DE CONTROLE	VERIFICAÇÃO
1.0. Sal: 1.1. Queijo com excesso de sal 1.2. Crescimento de fungo no queijo. 1.3. Queijo com partículas estranhas. 1.4. Composição química que provoca manchas no queijo.	Falta de controle de peso do sal aplicado. Sal impróprio para uso. Sal impuro ou sujo. Nitratos, nitritos e outras impurezas orgânicas.	Cálculo de formulação e controle do peso do sal aplicado. Contagem de fungos e leveduras no sal. Filtração de uma solução a 10% através de filtro de papel lento. Buscar melhor qualidade de sal, em emergência, aquecê-lo à temperatura de 200 a 300° C em fornos comuns ou até 550° C em fornos especiais, para eliminar algumas impurezas e fungos. Dar preferência à utilização de sal marinho cristalizado e de alta pureza.	Teste sensorial - padrão de aceitabilidade no mercado. O sal não deve apresentar nenhum gosto amargo e granulometria média de 8 a 10 Mesh/Tyler. ≤ 1 ufc/ mL Observação da natureza das partículas contaminantes. Solicitar a determinação da concentração de Cloreto de sódio que deve estar sempre no intervalo de 99,86 a 99,97 % e apresentando uma umidade máxima de 0,1 a 0,3%.
2.0. Coalho. 2.1. Coagulação muito rápida ou muito lenta, impossibilitando uma boa padronização do queijo	Força ou pureza do coalho; Coalho não quimozínico ou com misturas de outras proteases inadequadas.	Tempo de coagulação do leite; Presença de gosto amargo no queijo pronto.	Adquirir coalho de boa procedência que possibilite manter o tempo de coagulação do leite em 45 a 55 minutos utilizando-se 2,5 g /100 litros ou 25 mL/100 litro de leite a 32° C.
3.0. Ativ. do Soro-F. 3.1. Equilíbrio da flora láctica natural incapaz de competir com outros microrganismos indesejáveis.	Baixa seletividade de microrganismos homofermentativos produtores de ácido láctico em alta velocidade.	Fazer pré-ropicagens do soro-fermento, partindo-se de um leite hígido obtido de um animal sadio, até que seja possível obter um soro-fermento que, em 18 horas à temperatura de 21°C, resulte numa acidez mínima de 80° C	Determinar a acidez do soro - fermento (pingo) antes de sua utilização para fabricação do queijo. Caso a acidez seja de 80° D após 18 horas a 21°C, aceitar a sua atividade como ótima.
4.0. Prensa higiênica 4.1. Grande contaminação resultante do processo de prensagem manual, que além de expor o queijo ao ambiente por muito tempo, incorpora a contaminação veiculada pelas mãos do operador.	Práticas de higiene ambiental, manual e pessoal inadequadas para proteger o produto de contaminações perigosas.	Adotar o sistema de prensagem vertical e adaptado com um dispositivo inferior para coleta higiênica do soro para o soro-fermento (pingo) do dia seguinte.	Avaliar a eficiência do método de prensagem vertical pela aparência do produto moldado.

DEFEITO	FATOR CAUSAL	ÍTEM DE CONTROLE	VERIFICAÇÃO
5.0. Tanque 5.1. Continentes de fabricação constituídos por tinas ou tambores plásticos difíceis de serem adequadamente higienizados.	Higiene inadequada e resíduos orgânicos incrustados no continente ou na tina plástica, resultantes de fabricações anteriores.	Adoção de tanques de aço inoxidável 316, moldados sem a formação de cantos vivos ou de soldas irregulares.	Limpeza da superfície diariamente com detergente alcalino forte ou NaOH (0,5%) e com escovas apropriadas; enxague com água potável; limpeza com ácido nítrico (0,5%) com escovas e enxague abundante; esterilização da superfície com 200 ml de água sanitária/100 litros de água potável. Uma vez por ano é recomendável o polimento da superfície com pasta ultra-fina de ácido nítrico a 30%, até a obtenção de acabamento espelho.
6.0. Utensílios. 6.1. Utensílios impróprios e difíceis de serem lavados e esterilizados, contribuindo para uma alta contaminação do leite e conseqüentemente do queijo.	Contaminação microbiana veiculada por utensílios com depósitos orgânicos incrustados	Adoção de aço-inoxidável 316 como material para fabricação de utensílios; limpeza e esterilização dos mesmos como recomendado no item 5.0.	Observação sensorial da qualidade da limpeza realizada.
7.0. Câmara. 7.1. A inexistência de câmara com a temperatura controlada em 19 a 21° C, para favorecer o progresso da fermentação láctica pós-prensagem e durante 72 horas no mínimo, resulta em queijos com pH acima de 5,3.	Salas-depósitos impróprios para maturar queijos, sem climatização e sem controle da higiene ambiental.	Construção de salas de maturação higiênicas, com controle de temperatura e de umidade.	Observação diária da temperatura (19 a 21° C) e da umidade relativa (80 a 90%) na sala de maturação.
8.0. Ger. de vapor. 8.1. Variação na temperatura do leite durante as fases de coagulação e fabricação; 8.2. Lavagem de utensílios apenas com água fria.	Inexistência de meios de aquecimento, tanto para manter a temperatura do leite a 32° C durante a coagulação e fabricação, quanto para aquecer água e soluções de limpeza ou de enxague.	Introduzir instrumentação de geração e distribuição de vapor, de pequena capacidade, nas dependências de fabricação do queijo	Manter a temperatura do leite em 32°C durante a coagulação e ao longo da fabricação. Aquecer a água para enxague de utensílios a 45°C. Aquecer as soluções a 55 °C para a limpeza manual.

DEFEITO	FATOR CAUSAL	ÍTEM DE CONTROLE	VERIFICAÇÃO
9.0. Cronograma 9.1. Queijos com grandes variações de umidade e com o corpo e textura irregulares.	O descumprimento do cronograma de tempo e temperatura de acordo com as recomendações de padronização para o tipo de queijo.	Tempo para as diferentes fases do processo e controle de temperatura.	Para minimizar a variação da umidade final do queijo, além de cortar a coalhada em grãos uniformes de 2 cm ³ , manter a temperatura do sistema soro-grãos em 32°C por meio de um pequeno fluxo de vapor na camisa interna do tanque de fabricação. Controlar e padronizar o tempo de duração para cada uma das fases de fabricação. Ter o cuidado de verificar o ponto final da mexedura observado a firmeza dos grãos.
10. Higiene 10.1. Queijos que oferecem riscos microbiológicos para o consumidor: (i) contaminantes do ambiente impróprio; (ii) agentes etiológicos de doenças animais.	Relaxamento com boas práticas de higiene e de segurança de qualidade. Práticas de ordenha e de manejo zootécnico inadequados. Alta incidência de doenças no rebanho.	Rotina de limpeza, sanificação e esterilização de utensílios e equipamentos diariamente. Rotina de manutenção da qualidade higiênica do ambiente interno da dependência e de seus arredores. Introdução de barreiras de proteção contra a invasão de microrganismos.	Examinar clinicamente os animais antes da ordenha e observá-los quanto aos indicadores biológicos conhecidos. Realizar o "ring test" a cada três meses. Conduzir o teste WMT antes da ordenha. Isolar os animais doentes para ordenha em separado. Manter a qualidade da higiene ambiental e pessoal em todas as dependências. Construir a unidade de fabricação distanciada a 3 50 metros do local de ordenha.
11. Embalagem 11.1. Queijos comercializados sem estarem contidos em embalagens capazes de proteger o produto durante os processos de transporte e estocagens de vendas.	Queijos desprotegidos ou sem barreiras contra microrganismos invasores.	Introdução de embalagem hermetizante, preferencialmente com a aplicação do encolhimento a vácuo a 80°C.	Determinações físico-químicas e microbiológicas de acordo com as recomendações indicadas nos Quadros 6, 7 e 8 deste documento.

DEFEITO	FATOR CAUSAL	ÍTEM DE CONTROLE	VERIFICAÇÃO
12. Rotulagem 12.1. Queijos comercializados sem qualquer rotulagem identificando a pessoa responsável ou o proprietário produtor.	A falsa concepção de que na clandestinidade é possível conquistar o consumidor e auferir lucros. Falta de informação do produtor e falta de apoio do Governo para tirar os produtores da clandestinidade.	Fiscalização e credenciamento de produtores elegíveis a um programa autêntico de qualidade e produtividade de queijos artesanais.	Controle da qualidade e da quantidade de queijos artesanaismente produzidos por meio de associações de produtores independentes apoiadas por cooperativas de maturação e acabamento.
13. pH do queijo 13.1. Queijos com discreta redução de pH, oferecendo grande risco para o consumidor.	Utilização de soro-fermento com baixa atividade ácido-lática. Ausência de controle da atividade do soro-fermento antes da aplicação.	pH do soro-fermento após 18 horas à temperatura de 21 ° C.	pH ≤ 5,30 no queijo após 18 horas contadas a partir do final da fabricação.
14. Câmara Queijos expostos em ambiente impróprio para maturação e sem controle de temperatura.	Temperatura de maturação variando de acordo com as variações climáticas da localidade. Temperaturas frequentemente acima de 21°C.	Temperatura em °C e umidade relativa no ambiente de maturação.	Controle da temperatura da câmara no intervalo ideal de 19 a 21°C a todo momento. A umidade pode ficar entre 80 a 85%. Pode-se adotar uma pequena unidade de condicionador de ar doméstico para este controle. Um sistema de filtro de ar da Trox permite manter o número de partículas bem baixo.
15. Proteólise Queijos veiculando um grande número de microrganismos patogênicos de alta morbidade ou oportunistas patogênicos. Queijos com elevado progresso de proteólise podendo apresentar a formação de amins biogênicas em níveis de toxidez elevada.	Falta de higidez da matéria-prima e do rebanho. Alta incidência de mastite no rebanho. Ordenha de animais com brucelose, tuberculose, listeriose e outras fisiopatologias. Baixo nível de higidez no processo de fabricação. Altos níveis de células somáticas na matéria-prima.	Contagem de células somáticas no leite antes de liberá-lo para a fabricação do queijo. Introdução de práticas zootécnicas naturais e modernas e seleção de vacas bem estabilizadas para a região e para a altitude considerada.	A contagem de células somáticas deve estar sempre abaixo de 300.000/ mL no leite cru que se destina à fabricação do queijo. Qualquer fisiopatologia da vaca irá provocar aumento desta contagem, servindo como alerta para a não utilização do leite e informação para o Veterinário tomar rápidas providências. É também indispensável a condução do "ring test" em todos os animais a cada três meses para garantir um universo de rebanho livre de brucelose.

DEFEITO	FATOR CAUSAL	ÍTEM DE CONTROLE	VERIFICAÇÃO
16. Pingo-fermento 16.1. Queijos com discreto abaixamento de pH ($\geq 5,30$), favorecendo uma lenta evolução de microrganismos indesejáveis durante a maturação dos mesmos.	Falta de seletividade natural de bactérias ácido-láticas durante a produção do soro-fermento inóculo. Tempo e condições de fermentação inadequados. Presença de antibióticos no leite original. Ordenha de animais em tratamento ou recém tratados com antibióticos.	Acidez em graus Dornica ou medida do pH do soro-fermento a o final de 18 horas à temperatura de 21° C.	Acidez $\geq 80^{\circ}D$, ou pH $\leq 4,70$.
17. Local 17.1. Queijos que absorvem odores de estábulos, silagem contaminante, cheiro de esgoto, e aspecto impuro.	Unidade de fabricação muito próxima de estábulos, esgotos, lixeiras, silagem e com grande abundância de insetos e roedores.	Escolha do local adequado para construir a unidade de fabricação de queijo artesanal, preferencialmente distante da produção de silagem ou da alimentação dos animais.	Distância mínima do estábulo deve ser de 50 m em qualquer das direções. Local fresco e bem ventilado. Local distanciado de comportamentos habituais de pássaros, insetos e roedores.
18. Invasores 18.1. Queijos sujeitos aos contatos com insetos, pássaros e roedores, oferecendo grandes riscos aos consumidores.	Unidade de fabricação aberta à livre circulação de insetos, pássaros e roedores. Falta de barreiras de controle para insetos, pássaros e roedores.	Introdução de telas de proteção. Hermetização de ambientes com controle de circulação de ar interno. Emprego de filtração de partículas do ar e controle hermetizado do ambiente interno.	Medida ou contagem de partículas no ar. O número de partículas no ar não deve ser superior a 10 unidades por / m ³ de ar.
19. Reciclagem 19.1. Queijos expostos aos cheiros e odores estranhos que resultam de misturas de esgoto humano com os efluentes de estábulos.	Inexistência de infraestrutura sanitária de esgotos, separando-se a efluência de origem humana dos excrementos animais. Construção de fossa humana separada do sistema animal.	Introdução da reciclagem racional dos excrementos animais e a construção de fossas para as fezes humanas. Dependências de fabricação distanciadas da residência humana.	Cura das fezes bovinas em digestores por um tempo mínimo =40 dias. Construção de fossa com a cura periódica pela adição de cal a cada 15 dias. Construção da residência a uma distância mínima de 50 metros.
20. Água potável 20.1. Queijos que são expostos às lavagens com água imprópria para consumo humano e que podem veicular Salmonellas spp. para o produto, oferecendo grande risco pela infecção de uma bactéria de alta	Indisponibilidade de água potável no local ou ausência de processos de filtração adequada.	Busca de água de boa procedência ou com potabilidade natural. Utilização de filtração dupla, incluindo membrana mineral filtrante e carvão ativado. O tratamento com cloração (1 ppm) deve ser considerado o último recurso, na impossibilidade dos anteriormente citados.	Análise físico-química e microbiológica da água. Os resultados devem se mostrar em conformidade com as recomendações da Organização Mundial de Saúde para potabilidade de água para beber.

DEFEITO	FATOR CAUSAL	ÍTEM DE CONTROLE	VERIFICAÇÃO
21. Higiene pessoal 21.1. Queijos fabricados e manipulados por operadores que não possuem hábitos pessoais de higiene, podendo oferecer riscos de graves contaminações.	Falta de oportunidade de educação sanitária durante a formação natural, da infância até a adultidade.	Programação de reeducação para operadores artesanais de queijos.	Mudança de hábitos e práticas na operacionalização do processo de fabricação de queijos.
22. Produtividade 21.1. Operadores da unidade de fabricação de queijos sem incentivos de produtividade e sem qualquer apoio técnico ou fomento institucional.	Unidades de fabricação de queijos em escalas econômicas inviáveis. Falta da associatividade de produtores e empreendedores isolados.	Implementar programas de fomento às associações que integram objetivos de produtores artesanais de queijos.	Criar um programa de fomento e de informação técnico-científica voltado para o objeto em foco. Criar um programa de crédito para médias associações de produtores de queijos visando a construção de fábricas com um volume mínimo de 10.000 litros por dia.
23. Treinamento 23.1. Queijarias sem a presença de queijeiros treinados.	Falta de oportunidade de educação e formação, com interiorização de conhecimentos práticos sobre fabricação de queijos.	Programação de conteúdos práticos sobre fabricação artesanal de queijos. Organização de um programa de treinamento especial no CEPE/ILCT.	Prova de avaliação prática do rendimento em curso.
24. Higidez da M.P. 24.1. Leite cru contendo alta carga microbiana arrastada do meio-ambiente e com alta contagem de células somáticas.	Rebanhos não certificados. Alta incidência de mastite. Práticas zootécnicas e agrônomicas inadequadas. Falta de práticas higiênicas no processo de fabricação de queijos.	Certificação do rebanho para brucelose, tuberculose, listeriose e contra zoonoses. Contagem de células somáticas presentes no leite antes de liberá-lo para a fabricação de queijos. Os princípios que devem ser adotados para orientar as práticas zootécnicas capazes de permitir a produção de um leite hígido foram documentadas por Vargas (1995).	Rebanhos certificados pelo IMA. Aproveitamento de leite apenas quando a contagem de células somáticas for inferior a 300.000/mL, deste modo, garantindo um nível de higidez mínimo para fabricação de queijos. Para o propósito da produção de queijos frescos a partir de leite cru, define-se como um leite <i>cru hígido</i> "ao produto granelado, fluido, nativo e cru, obtido de um ou mais rebanhos sanitariamente certificados, que não contenha mais que 300.000 células somáticas por mL e que se ja utilizado para fabricação de queijo no estado cru e dentro de um prazo máximo de 60 minutos do pós-ordenha. Para dar maior garantia de higidez ao leite cru, o "ring test" deverá ser conduzido em todos os animais a cada três meses. Pequenas contaminações por bactérias do gênero <i>Clostridium</i> spp. podem ser competitivamente suprimidas pela padronização ideária de ácidos graxos poli- e monoinsaturados nos lípidos do leite (origens aceitas são milho e canola).

3. Especificações da matéria-prima e para os principais ingredientes adotados na produção de queijos artesanais a partir de leite cru

3.1. *Leite cru hígido* como as especificações dos itens 3.0 a 3.3 (Capítulo I).

3.2. *Sal marinho natural* (Refinaria Nacional de Sal S/A, Cisne, 1997) de acordo com as especificações registradas a seguir (Quadro 9).

3.3. *Coalho de bezerro*: o coalho deve ser quimozina de bezerro 100% pura, nos estados líquido ou em pó. Em caso de dúvida quanto à qualidade e pureza do coalho, recomenda-se solicitar análise do mesmo seguindo os critérios metodológicos da Federação Internacional de Laticínios (FIL, 1977). Queijos de leite cru não devem ser fabricados com misturas de coagulantes de múltiplas origens. Deve-se solicitar aos fornecedores comerciais os respectivos Certificados de Análise e Pureza do coalho antes do fechamento da transação comercial. Caso contrário, o produtor poderá ter que custear análises de alto custo em institutos especializados.

4. Nomenclatura e rotulagem para queijos frescos e naturais a partir de leite cru

4.1. "*Queijo Serro Natural*" ou "*Queijo Canastra Natural*"; o rótulo deve especificar: "*Fabricado com leite cru e processo hígidos*", além

QUADRO 9 - Especificações químicas para o sal recomendado para fabricação de queijos artesanais a partir de leite cru (Refinaria Nacional de Sal, Cisne, 1997).

ANÁLISE QUÍMICA DE SAL PADRÃO PARA QUEIJOS ARTESANAIS

COMPONENTES	UNIDADES	FAIXA TÍPICA DE COMPOSIÇÃO		
Cloreto de sódio (B.S.)	%	99,87	99,93	99,98
Umidade (120 ° C/2horas)	%	0,1	0,2	0,3
Cálcio (como Ca ⁺⁺)	%	0,006	0,009	0,015
Magnésio (como Mg ⁺⁺)	%	0,004	0,006	0,010
Sulfatos (como SO ₄ ⁻)	%	0,025	0,035	0,040
Insolúveis em água	%	0,006	0,015	0,050
pH de uma solução a 10% (p/v)	-	6,500	7,200	7,800
Ferrocianeto de sódio (A.U. VI)	ppm	-	-	5
Iodo metalóide	ppm	40	50	60
Sulfato aluminato de sódio (A.U.VII)	%	Isento	Isento	Isento
Acidez titulométrica aproximada	Mesh/Tyler	6	9	12

de todas as informações exigidas pela legislação do Ministério da Agricultura.

4.2. Laboratórios capacitados para realizarem análises de queijos no Brasil:

4.2.1. Centro de Pesquisa e Ensino Instituto de Laticínios Cândido Tostes
Rua Tenente Freitas, 116
Bairro Santa Terezinha
36045-560 - Juiz de Fora - MG
Tel (032) 2243116
Fax (032) 2243113
Contato: Dra. *Heloiza Maria de Souza*, para programação e protocolo de análises.

4.2.2. Outras instituições:

- Instituto Adolfo Lutz, *São Paulo - SP*.
- Fundação Ezequiel Dias, *Belo Horizonte - MG*
- Centro de Tecnologia Agrícola e Alimentar, EMBRAPA, *Rio de Janeiro - RJ*
- Faculdade de Farmácia da UFMG, *Belo Horizonte - MG*
- Centro Tecnológico do Estado de Minas Gerais, *Belo Horizonte - MG*
- Laboratório de Referência Animal - LARA do Ministério da Agricultura, *Pedro Leopoldo - MG*
- Instituto de Tecnologia de Alimentos, *Campinas - SP*
- Escola de Engenharia Química da UFMG, *Belo Horizonte - MG*

QUADRO 10 - Exemplo e modelo das informações para a rotulagem de queijos fabricados de leite cru (Burton, 1976; IALI, 1994; Anção et alii. 1995), complementares à nutrição humana e aditivas às exigências de rotulagem do Ministério da Agricultura²⁰.

INFORMAÇÕES PARA NUTRIÇÃO					
Porção Padrão: 100 g					
Peso Líquido : 900 g ou 9 Porções Alimentares					
Quantidade em Cada Porção:			Calorias a Partir da Gordura 191 kcal		
Calorias Totais 261kcal					
% da Concessão Diária Recomendada ou RDA					
Lípides Totais:	21 g		32% RDA		
Ácidos Graxos Saturados	13g		65% RDA		
Colesterol	0,0665 g		22 % RDA		
Ácidos Graxos Polinsaturados	0,60 g		3 % RDA		
Ácidos Graxos Monoinsaturados	5,95 g		10 % RDA		
Proteína Bruta:			15 g		
Hidratos de Carbono:					
Lactose	2,5 g		0,83 % RDA		
Fibras Dietéticas	0 g				
Açúcar (Sacarose)	0 g				
Sódio	0,915 g		38 % RDA		
Vitamina A	1200 UI	24% RDA	Tiamina	0,03 mg	2% RDA
Cálcio	388 mg	39% RDA	Niacina	0,63 mg	3% RDA
Magnésio	20 mg	5% RDA	Riboflavina	0,49 mg	29% RDA
Fósforo	350 mg	35% RDA	Vitamina B ₁₂	1,5 mg	25% RDA
Zinco	2,38mg	16% RDA	Ácido ascórbico	40 mg	67% RDA
Ferro	0,33mg	1,8% RDA	Ácido fólico	62 mg	15% RDA
Fluor	90 mg	26% RDA	Ácido pantotênico	1,4 mg	14% RDA
As porcentagens de Concessões Diárias Recomendadas (RDA) são baseadas em uma dieta mediana de 2000 kcal/dia. Os valores especificamente ideais para você podem ser mais elevados ou mais baixos dependendo de sua própria necessidade calórica.					
Componente	Calorias	2.000 kcal	2.500 kcal		
Gordura Total	Menos que	65 g	80 g		
Gordura Saturada	Menos que	20 g	25 g		
Colesterol	Menos que	300 mg	300 mg		
Sódio	Menos que	2.400 mg	2.400 mg		
Carboidratos Totais		300 g	375 g		
Fibras		25 g	30g		
Calorias por g.:	Gordura 9 kcal	Carboidratos 4 kcal	Proteínas 4 kcal.		

²⁰ Este exemplo de dados foi baseado nos resultados conhecidos para o Queijo Serro. Contudo, para efetivar os registros de rótulos e a conquista do Selo Azul da SEAPA, deve ser compulsória a realização de análises completas do queijo, sendo também exigida a exibição de laudos periódicos.

QUADRO 11 - Exemplo e modelo das informações que devem constar na rotulagem de queijos fabricados de leite cru, exigências de rotulagem em conformidade com as normas do Ministério da Agricultura em vigência.

<h2 style="margin: 0;">QUEIJO NATURAL SERRO</h2> <p style="margin: 0;">Peso Líquido: 900 g</p> <p style="margin: 0;">Peso Bruto: 1kg</p>	
<p>Produto natural fabricado com leite cru a partir da ordenha de animais hígidos e de rebanho certificado pelo Instituto Mineiro de Agropecuária, fabricado sob rígido controle de processamento, embalado e comercializado sob modernos critérios de higiene.</p>	
<p style="text-align: center;">DECLARAÇÃO DE INGREDIENTES</p> <p>Leite cru hígido, coalho constituído por quimo-zina de bezerro 100% pura, sal marinho certificado e purificado de acordo com a legislação brasileira.</p>	<p style="text-align: center;">PROPRIETÁRIO OU RESPONSÁVEL</p> <p>Fabricado pela Fazenda Serra Azul de Minas - S.A. - Rua A, nº 33 - Bairro da Floresta - Município do Serro - MG. SIE nº 2266 - CGC (MF) nº 99.999.999/0009-99. Registro no Ministério da Agricultura ou no Instituto Mineiro de Agropecuária sob o nº 9999/9999 - Indústria Brasileira.</p>
<div style="border: 1px solid black; height: 40px; width: 100%; text-align: center; margin-top: 20px;"> <p>CÓDIGO DE BARRA</p> </div>	<p style="text-align: center;">SELO AZUL DE QUALIDADE</p> <div style="text-align: center; height: 100px;"> </div>
<p style="text-align: center;">ORIENTAÇÃO DE CONSUMO</p> <p>Conservar o produto sempre à temperatura de 4° C em geladeira. Os queijos naturais devem ser consumidos dentro de um prazo máximo de 20 dias após a data expressa na embalagem desde que esta seja mantida lacrada. A partir da abertura da embalagem, o produto permanece bom para consumo por 10 dias quando for mantido, ininterruptamente, à temperatura de 4° C.</p>	<p style="text-align: center;">ESPECIFICAÇÕES DO PROCESSO DE FABRICAÇÃO E DE VALIDADE</p> <p>Data de Fabricação: ____/____/____.</p> <p>Data de Expedição: ____/____/____.</p> <p>Limite de validade: ____/____/____.</p> <p style="text-align: center; margin-top: 10px;">Técnico Responsável pelo Controle:</p> <hr style="width: 100%;"/>
<p style="text-align: center;">CARIMBO DE INSPEÇÃO DO IMA</p> <p style="text-align: center;">INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA</p>	

AGRADECIMENTOS

Os autores deste trabalho agradecem a inestimável contribuição da EMATER, sem a qual este trabalho não teria sido realizado. Agradecem também a todos os colaboradores dos Escritórios Regionais da EMATER, referindo-se, em particular, ao Engenheiro Agrônomo José Roberto Alves Silvestre da EMATER/ Sede e aos responsáveis nos Municípios do Serro, Sr. José de Souza Filho e de São Roque de Minas, Sr. José Roberto Correia Miguel. Agradecem também à Profª. Accácia Júlia Guimarães Pereira, da UFMG, na época lotada na Escola de Engenharia Química, hoje Profa. da Faculdade de Farmácia. De fato, os autores gostariam de compartilhar a co-autoria deste relatório, o que não o fazem por indisponibilidade de tempo para que todos pudessem revisá-lo e atuariá-lo com texto de co-autoria.

CONCLUSÃO

Sem considerar pequenas diferenças quanto às tradições originais para os processos de fabricação dos queijos Serro e Canastra, pode-se assumir um único fluxograma para a tecnologia de fabricação de ambos os queijos naturais.

Os queijos naturais de leite cru, quando produzidos a partir da matéria-prima hígida obtida de animais certificados e por meio da transformação onde se aplicam todos os critérios de higiene, oferecem ao consumidor algumas propriedades nutricionais e reológicas diferenciadas dos demais queijos obtidos a partir de leite pasteurizado.

O leite cru é considerado hígido quando, no ato de sua coleta ou no momento de sua utilização artesanal, atender às exigências e aos limites de tolerância seguintes:

- **Como limite superior de tolerância:**
- 1. Flora microbiana total ≤ 100.000 ufc/ml
- 2. Células somáticas ≤ 300.000 unidades/ml
- 3. *Staphylococcus aureus* ≤ 1.000 ufc/ml
- 4. *Escherichia coli* ≤ 1.000 ufc/ml
- 5. *Salmonella* ausência/1.000 ml
- 6. *Streptococcus* β - hemolíticos (Lancefield A, B, C, G e L) ausência/0,1 ml.

· **Como limite inferior desejável a longo prazo, por meio da melhoria contínua de qualidade e higidez:**

- 1. Flora microbiana total ≤ 10.000 ufc/ml
- 2. Células somáticas ≤ 100.000 unidades/ml
- 3. *Staphylococcus aureus* ≤ 100 ufc/ml
- 4. *Escherichia coli* ≤ 100 ufc/ml
- 5. *Salmonella* ausência/1.000 ml
- 6. *Streptococcus* β - hemolíticos (Lancefield A, B, C, G e L) ausência/0,1 ml.

Além destes, quando for obtido de rebanhos certificados por imunizações contra tuberculose, brucelose, listeriose e serem livres de zoonoses no universo delimitado do manejo controlado. Pela aplicação dos princípios recomendados por Vargas (1996) o nível de imunidade do rebanho será sempre favorecido pela adoção preferencial da alimentação que emprega Gramíneas frescas e verdes na composição da massa alimentar para vacas em lactação. Com esta filosofia, não é difícil produzir um leite hígido e fabricar um queijo de alto valor agregado para consumidores específicos.

Contudo, para o sucesso de um programa de melhoria contínua de qualidade para os queijos artesanais de Minas Gerais, é indispensável o estabelecimento de critérios de seleção, incluindo apenas produtores elegíveis que apresentem um potencial concreto de responsabilidade social e de dedicação ao empreendimento.

As indicações de pontos críticos para observação e controle, visando a melhoria contínua da qualidade dos queijos artesanais, devem ser protocolarmente seguidas para garantir a sanidade comercial do produto final.

Os queijos artesanais do Serro e da Canastra são definidos com a nomenclatura de 'Queijo Natural Serro' e 'Queijo Natural Canastra', respectivamente, podendo ser produzidos por qualquer proprietário rural localizado nos Municípios do Serro e de São Roque de Minas. Por meio de um acordo com os municípios próximos, este conceito poderá ser estendido para as áreas limítrofes ao Serro e a São Roque de Minas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Anção, Meide S.; Cuppari, Lilian; Tudisco, Eliete S.; Draibe, Sérgio A.; Sigulem, Daniel; Cebukin, Alberto; Simões, Andréa Pereira; Cardoso, Orlando Lima; Gimenes, Silvana S. F. X., *Programa de apoio à nutrição: sistema de apoio à decisão em nutrição*, ed. CIS-EPM, versão 2.5, UNIFESP, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 1995, 1-130, pp.

APHA, American Public Health Association. Standard methods for the examination of dairy products. American Public Health Association 13ed., Washington, DC., 1972, 1- 345, 105 - 132, pp.

Bonilla, José A. *Qualidade total na agricultura: fundamentos e aplicações*. Secretaria de Agricultura, Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais / Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão, Centro de Estudos da Qualidade Total na Agricultura, Editora Littera Maciel Ltda., Contagem, 1994, 1-344, 193-215, pp.



Bonilla, José A. *Métodos quantitativos para qualidade total na agricultura*. Departamento Nacional de Cooperativismo, Associativismo e Infra-estrutura do Ministério da Agricultura, Abastecimento e Reforma Agrária, Organização das Cooperativas do Estado de Minas Gerais, Centro de Estudos da Qualidade Total na Agricultura, Editora Littera Maciel, Contagem, 1995, 1-249, pp.

Brasil, MAARA, Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária - MAARA, Secretaria de Defesa Agropecuária - SDA, Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal - DIPOA, Divisão de Normas Técnicas, *Regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos*, Comitê de Normas Técnicas do Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal: Portaria N° 150, de 12.09. 94, *Diário Oficial da União*, 19 de outubro de 1994; impressão de divulgação, 1-50, pp.

Burton, Benjamin T. *Human nutrition; formerly: The Heinz handbook of nutrition*. 3rd. edition: a Textbook of nutrition in health and disease. Blakiston Publication / H.J.Heinz Company / McGraw-Hill Book Company, London, 1976, 1-530, pp.

Cerqueira, Mônica Maria Oliveira Pinho & Nascimento, Geraldo Teixeira do, *Informação pessoal; Dias de Campo: 22-24 de novembro de 1993: Serra*, EMATER/SEAPA/EEUFMG/EPAMIG, Serro, 1993, 1 p.

Cooperativa dos Produtores Rurais do Serro, *Informação pessoal*, Juiz de Fora/Serro, CEPE/ILCT-EPAMIG, grupo em visita de estudos., 1993.

Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais / CPLAN / NIDOC. *Produção de queijos: indústria caseira*, dados, 1992, Belo Horizonte, 1993, 1, p.

Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais, SEAPA, EE/UFMG, CEPE/ILCT-EPAMIG, *Dias de campo: Serra e em São Roque de Minas*, 22 a 24 de novembro de 1993 e 21 - 24 de março de 1994, São Roque de Minas, 1994, ag., sp.

FIL - Federação Internacional de Laticínios. *Identification of rennet and rennet substitutes*. Commission F - Science and Education, 61st Sessions in Stockholm, Sweden, 13-17 77, F-Doc 62, 1977, 1-6, pp.

FIL - Federação Internacional de Laticínios. *Milk and milk products: methods of sampling*, Brussels, Belgium, 50B:1-19, 1985. FIL - Federação Internacional de Laticínios. *Lait et produits laitiers; denombrement des microorganismes: comptage des colonies a 30° C.*, Bruxelles, Belgique, 100B, 199: 1-3, 1991.

FIL - Federação Internacional de Laticínios. *Lait et produits laitiers: recherche des Salmonella*, Bruxelles, Belgique, 93A: 1-9, annexe, pp.

FIL - Federação Internacional de Laticínios. *Lait et produits laitiers: recherche de Listeria monocytogenes*. Bruxelles, Belgique, 143: 1-8, 1990.

FIL - Federação Internacional de Laticínios. *Lait et produits laitiers; denombrement des levures et moisissures: comptage des colonies a 25° C*. Bruxelles, Belgique, 94B:1-3, 1991.

FIL - Federação Internacional de Laticínios. *Lait et produits a base de lait; denombrement de Staphylococcus aureus: technique de comptage des colonies a 37° C.*, Bruxelles, Belgique, 145: 1-4, 1990.

FIL - Federação Internacional de Laticínios. *General code of hygienic practices for the dairy industry*, Paris, June, 1978, B-Dco., 62: 1-12, pp.

France, Ministre de l'Agriculture & Ministre de la Consommation; note de service: DGAL/SVHA/N° 87/N° 8149 du 2 novembre, 1987, *Liste des textes réglementaires applicables aux produits laitiers; liste des instructions spécifiques applicables aux produits laitiers: arrêté du 6 aout 1985 relatif aux normes d'hygiène et de salubrité auxquelles doit répondre le lait cru livré en l'état et destiné à la consommation humaine*; Dufrene, P. & Schaefer, B., Paris, 6 août 1985, (4):33-61-B, (4):33-61-C & (4):33-62, pp.

Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais / CETEC. *Diagnóstico ambiental do Estado de Minas Gerais*. Documento elaborado para a Comissão de Política Ambiental / COPAM, série de publicações técnicas / SPT-010, ed. Paula, Tugo Nogueira de, 1v., 8 mapas, Editora Gráfica de Engenharia Santa Hefigênia Ltda., Belo Horizonte, 1983, 1-158, pp.

Furtado, Múcio Mansur, Queijo do Serro: tradição na história do povo mineiro, *Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes*, Juiz de Fora, 35(04):33-36, 1980.

Furtado, Múcio Mansur, Queijo do Serro: tradição na história do povo mineiro, *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, maio n° 7, (05):18-21, 1981.

Furtado, Múcio Mansur, *Queijo minas da Serra da Canastra: Programa Ha-La Biotec.*, Ha-La do Brasil / Chr. Hansen Ind. e Com. Ltda., Valinhos, 1993, 1-5, pp.,(ip.).

IALI - Irvine Analytical Laboratory, Inc., 1994;from: US Federal Register, 6th of January, 1993, v. 58(03), US Government Printing Office, Superintendent of Documents, Washington DC - 20402, n.069-001-00045-9, 1993, p.

Linstromberg, Walter W. *Organic chemistry*. D.C. ill. Allen, Winston M. and Gans, Judith, Heath and Company, Boston, 1966, 1-432,238, pp.

Munck, Alberto Valentim; Leal, Andréa Martins; Fonseca, Carlos Henrique; Castilho, Cristina Mara Correia de; Souza, Eolo Albino de; Freitas, Luiz Cláudio Gomes de; Albuquerque, Luiza Carvalhaes de; Vargas, Otacílio Lopes. *Queijos no Brasil*, Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais/Centro de Pesquisa e Ensino/ Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Esdeva Empresa Gráfica, Juiz de Fora, 1986, 102, p.

Refinaria Nacional de Sal S/A, Cisne. *Sal refinado Cisne especial para churrasco*. Cabo Frio, 1997, 1 - 4, pp.

Ribeiro, José de Assis, Evolução da tecnologia queijeira, *Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes*. Juiz de Fora, 13(05):27-36, 1958.

Ribeiro, José de Assis, Queijos do Brasil, *Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes*, Juiz de Fora, 14(05):33-34, 1959.

Souza, Eolo Albino de. *Tecnologia de fabricação de queijos*. ed. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Esdeva Empresa Gráfica S.A., Juiz de Fora, 1960, 1-116, pp.

Silvestre, José Roberto Alves, *Produção de queijo-Indústria caseira:1992*, Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1993, 1, p.

Vargas, Otacílio Lopes. *Caracterização físico-química e sensorial do queijo Fol-Epi: diferenciação de identidade e tipologia da origem*. Informação de Prestação de Serviço Privado à Polenghi Indústria Brasileira de Produtos Alimentícios Ltda, São Paulo, 1991.

Vargas, Otacílio Lopes. Como deve ser produzido e transformado o leite para consumo humano; *apud in: Conceitos modernos de exploração leiteira*. Anais do Segundo Congresso Brasileiro de Gado Leiteiro - (2: 1995: Piracicaba); Moura, J. C. de; Faria, V. P. de; Mattos, W. R. S., editores; Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1996, 1-270, 169 - 244, pp.

Watt, B. K.; Merrill, A. *Composition of foods: raw, processed, prepared*, Agriculture Handbook n° 8, Consumer and Food Economics Research Division, Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture, 1963,1-191, 22, pp.

Veiga, Vânia Maria de Oliveira; Vargas, Otacílio Lopes; Brito, Maria Aparecida Vasconcelos Piva; Ribeiro, Marlice Teixeira; Souza, Heloiza Maria de; Verneque, Rui da Silva. Viabilidade técnica do uso do "Wisconsin Mastitis Test" (viscosímetro) na avaliação do número das células somáticas na indústria de laticínios. *Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes*, Juiz de Fora, n° 293, 50(03):42-47, 1995a.

Veiga, Vânia Maria de Oliveira; Langenegger, Jerome; Ribeiro, Marlice Teixeira & Ferreira de Sá, Wanderlei. Controle da mastite bovina em rebanhos com elevado índice de infecção. *Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes*, Juiz de Fora, jul./ago., n° 294, 50(04):9-14, 1995b.

INSTITUTO DE LATICÍNIOS CÂNDIDO TOSTES

"A tradição que desenvolve a tecnologia".

EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE CLORETO DE SÓDIO NAS CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS DO QUEIJO MINAS FRESCAL¹

Effect of Sodium Chloride Concentration on Minas Frescal Cheese Sensorial Characteristics

Jacira dos Santos Isepon²
Antonio Joaquim Oliveira³

RESUMO

Estudou-se a influência da concentração de cloreto de sódio nas características sensoriais do queijo Minas Frescal, processado com ácido láctico industrial 85% de pureza e grau alimentício e culturas lácticas (*Lactococcus lactis* ssp *lactis* e *Lactococcus lactis* ssp *cremoris*) variando-se o tipo de salga (no leite e nos queijos). Os queijos foram preparados com leite pasteurizado, seguindo-se a metodologia indicada pelo Instituto de Laticínios "Cândido Tostes". Os parâmetros analisados foram: teor de cloreto de sódio e análise sensorial (aceitabilidade, sabor, textura e aparência), aos zero, 6ª e 12ª dias de armazenamento sob refrigeração (5,0° ± 1,0°C). A análise dos dados mostrou que o queijo Minas Frescal, elaborado por salga no leite ou salga nos queijos, sofreu alterações significativas nas características sensoriais. O queijo Minas Frescal processado com adição de 0,5% de cloreto de sódio em relação ao leite e salga complementar em salmoura (18-20%) apresentou maior aceitabilidade. Embora o emprego de culturas lácticas seja um fator importante na qualidade do queijo, a acidificação direta do leite favorece o processamento desse tipo de queijo, diminuindo a mão-de-obra na elaboração do mesmo e induzindo maior preferência.

1. INTRODUÇÃO

O conhecimento da porcentagem de cloreto de sódio (sal) no queijo é de grande valor tecnológico. O cloreto de sódio, além de conferir sabor à massa, intervém na dessoragem do queijo, na formação da casca, no desenvolvimento microbiano e na textura (Wegner, 1987). Os métodos de salga e a quantidade de sal depende da espécie e do tipo de queijo à salgar (Fonseca, 1986).

Para Samuelson (1944), a salga em salmoura, proporciona um bom endurecimento da casca, enquanto que a salga seca é muito incômoda e trabalhosa, sendo empregada especialmente para os queijos nos quais se devem formar olhaduras redondas e grandes. De acordo com Ribeiro (1946), a salga a seco é o processo mais antigo e menos econômico, dada a grande quantidade de sal perdida nas manipulações e na dessoragem, sendo ainda mais trabalhosa. Tem a vantagem de facultar melhor controle sobre as fermentações, permitindo a obtenção de massa mais ou menos úmida e de crosta mais ou menos grossa, conforme a conveniência. A salga

úmida é mais econômica e por isso mais usada. Fonseca (1986) descreve que a salga no leite tem como objetivo fazer uma distribuição do sal mais uniforme, aumentar o tempo de coagulação, podendo ser completada com a salga em salmoura.

Lawrence et al. (1987), citam que as mudanças de textura são determinadas pela taxa de proteólise, que por sua vez é controlada pela proporção de coalho residual, plasma no queijo, taxa de cloreto de sódio e temperatura de conservação. Law et al. (1992), estudando o desenvolvimento de proteólise e sabor em queijos Cheddar processado com culturas simples de *Lactococcus lactis* ssp *lactis* VC317 ou *Lactococcus lactis* ssp *cremoris*, concluíram que os queijos processados com *Lactococcus lactis* ssp *lactis* foram mais aceitos quanto aos caracteres organolépticos, e que apresentaram uma maior porcentagem de nitrogênio solúvel e de aminoácidos livres do começo ao fim da maturação. Os autores observaram ainda que o *Lactococcus lactis* ssp *cremoris* não provocou amargor nos queijos, mesmo quando se diminuiu a temperatura de cozimento e/ou a concentração de sal.

¹ Parte do trabalho de tese para obtenção do título de Doutor, apresentado no Curso de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos do Departamento de Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica da FCF/USP.

² Docente do Departamento de Horticultura e Tecnologia de Alimentos da UNESP/FE - Caixa Postal 31 - CEP 15385-000 - Ilha Solteira-SP

³ te do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da USP/ESALQ - Caixa Postal 9 - CEP 13506-900 - Piracicaba-SP.

Este trabalho teve como objetivo principal estudar a quantificação do cloreto de sódio em queijos Minas Frescal e a relação com as características sensoriais.

de salga e o tipo de cultura em cada caso específico (Bonassi et al., 1978). O processo utilizado está representado no Fluxograma I.

2.2. Tratamentos

O experimento constou de quatro tratamentos e cinco repetições, variando o tipo de salga, assim discriminados:

- I - Adição de ácido láctico (ácido láctico industrial 85% de pureza e de grau alimentício, preparado em solução à 2,0%, na proporção de 25ml/100 litros de leite)
- II - 1,0% de *Lactococcus lactis* ssp *lactis*
- III - 1,0% de *Lactococcus lactis* ssp *cremoris*
- IV - 1,0% da combinação de *Lactococcus lactis* ssp *lactis* + *Lactococcus lactis* ssp *cremoris*

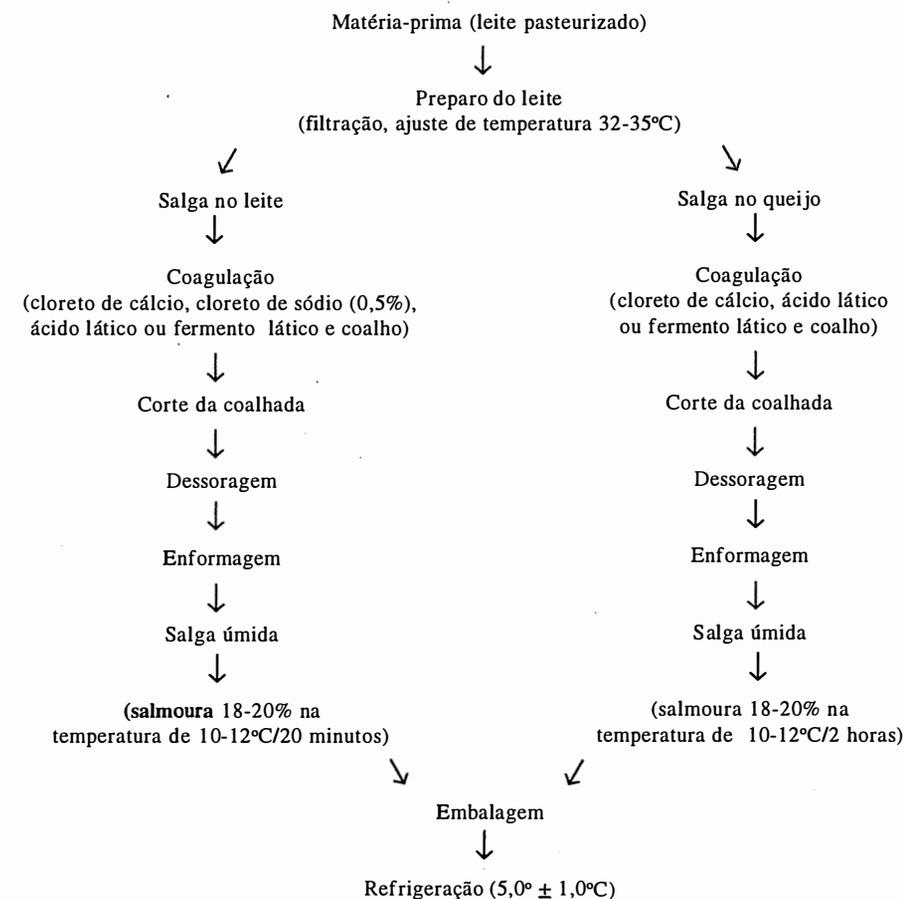
2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Biotecnologia do Departamento de Horticultura e Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira.

2.1. Fabricação do queijo Minas Frescal

Os queijos foram elaborados de acordo com a técnica padrão para o queijo Minas Frescal, indicada pelo Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", segundo Vieira & Loureço (1982), variando o tipo

FLUXOGRAMA I - Processo para obtenção do queijo Minas Frescal



2.3. Acompanhamento da concentração de cloreto de sódio e avaliação sensorial

De cada lote de fabricação foram retiradas amostras após zero, 6 e 12 dias de armazenamento e os seguintes parâmetros foram analisados:

- Cloreto de sódio (sal) - foi determinado pela titulação com tiocianato de potássio, do excesso de nitrato de prata adicionado, seguindo-se uma modificação do método de Volhard (Pereira, 1975).
- Análise sensorial - foi aplicado o teste do perfil de características (sabor, textura, coloração e aspecto) e para verificar a aceitabilidade do produto, adotou-se a escala

hedônica (variando de 1 a 9), por uma equipe de 10 degustadores previamente treinados (Teixeira et al., 1987).

Os resultados foram submetidos à análise estatística (análise de variância, regressão e correlação) pelos programas Sanest (1989) e Sas (1993).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados obtidos para cloreto de sódio nos queijos para os diferentes tratamentos e suas interações são apresentados na Tabela 1. O teor de cloreto de sódio variou entre os tipos de salga, apresentando-se significativamente maior (1,54%)

TABELA 1 - Análise de interação tratamentos x salga x tempo de armazenamento em relação ao cloreto de sódio (gramas de cloreto de sódio/100g de queijo).

Tratamentos	Salga		Médias
	Leite	Queijo	
I	1,26	1,60	1,43 A
II	1,24	1,54	1,39 A
III	1,24	1,52	1,38 A
IV	1,16	1,48	1,32 A
Médias	1,22 b	1,54 a	

Tratamentos	Tempo (dias)			Médias
	0	6	12	
I	1,56	1,40	1,40	1,43 A
II	1,47	1,40	1,40	1,39 A
III	1,47	1,39	1,39	1,38 A
IV	1,41	1,35	1,35	1,32 A
Médias	1,47 a	1,38 ab	1,29 b	

Salga	Tempo (dias)			Médias
	0	6	12	
Leite	1,56	1,40	1,35	1,22 B
Queijo	1,47	1,40	1,30	1,54 A
Médias	1,47 a	1,38 ab	1,29 b	

DMS 5% (cultura) = 0,140% I - Acidificação direta
 DMS 5% (salga) = 0,075% II - *Lactococcus lactis ssp lactis*
 DMS 5% (tempo) = 0,110% III - *Lactococcus lactis ssp cremoris*
 DMS 5% (salga d. cultura) = 0,516 IV - *Lact. lactis ssp lactis* + *Lact. lactis ssp cremoris*
 Letras iguais na mesma coluna e letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

para salga no queijo, quando comparado com o tratamento salga no leite (1,22%). Entre tempos de armazenamento, o teor de cloreto de sódio diminuiu significativamente à medida que se aumentou o tempo de armazenamento, como pode ser verificado pela Tabela 1, e as médias variaram de 1,47 a 1,29%.

Os teores médios de cloreto de sódio (1,16 a 1,60%) observados neste trabalho (Tabela 1) são inferiores aos encontrados por Bonassi (1979), que variaram de 2,3 a 3,01% para queijo integral, determinados aos 10, 20 e 30 dias, e abaixo dos 2%, indicados por Oliveira (1986). O teor de sal na umidade além de sua importância organoléptica, é de extrema importância na vida microbiana do queijo, inibindo o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis.

As matrizes de correlação para diferentes tipos de salga (salga no leite e salga no queijo) encontram-se nas Tabelas 2 e 3. As correlações entre cloreto de sódio e as características sensoriais foram significativas entre os diferentes tipos de salga. Quando se destacou cloreto de sódio em função da aceitabilidade e textura, observou-se que as correlações variaram com o tipo de salga, sendo que para a salga II ($r = 0,7242$ e $r = 0,7572$, respectivamente), as correlações foram altamente significativas ($p < 0,01$), enquanto que para salga I ($r = 0,6094$ e $r = 0,6386$,

respectivamente), foram significativa somente a 5%. Para cloreto de sódio e sabor, observou-se que as correlações para salga I e II ($r = 0,6361$ e $r = 0,6270$, respectivamente), foram significativas somente a 5%. No entanto, para cloreto de sódio e aparência, observou-se que as correlações para salga I e II ($r = 0,8180$ e $r = 0,7411$, respectivamente) foram altamente significativas ($p < 0,01$). Estas diferenças podem estar relacionadas com o tipo de salga utilizada. Na Tabela 04 observa-se que a aceitabilidade variou entre os tipos de salga, apresentando-se significativamente maior (6,74) para salga I, quando comparado com a salga II (6,42). A aceitabilidade variou entre os tratamentos, apresentando-se significativamente maior para acidificação direta, em relação aos demais tratamentos.

Furtado & Lourenço (1979) citam que é fato comprovado que acima de determinadas porcentagens de sal na umidade dos queijos, as bactérias do fermento láctico (*Lactococcus lactis ssp lactis* e *Lactococcus lactis ssp cremoris*) são inibidas, o que provoca diversos danos no produto, sobretudo no período de maturação. LESAGE et al. (1992), observaram que durante a maturação de queijos Camembert, a aparência e a textura foram altamente modificadas com cloreto de sódio nas concentrações de 0,0, 0,4 e 0,8%, e as mesmas características não

TABELA 2 - Matriz de correlação entre o teor de cloreto de sódio e as análises sensoriais dos queijos Minas Frescal com salga no leite (salga I).

	Cl. Sódio	Aceitab.	Sabor	Textura	Aparência
Cl. sódio	1,00	0,6094*	0,6361*	0,6386*	0,8180**
Aceitab.		1,00	0,9119**	0,8726**	0,8976**
Sabor			1,00	0,8117**	0,8791**
Textura				1,00	0,8032**
Aparência					1,00

* ($p < 0,05$) ** ($p < 0,01$)

TABELA 3 - Matriz de correlação entre o teor de cloreto de sódio e as análises sensoriais dos queijos Minas Frescal com salga no queijo (salga II).

	Cl. Sódio	Aceitab.	Sabor	Textura	Aparência
Cl. sódio	1,00	0,7242**	0,6270*	0,7572**	0,7411**
Aceitab.		1,00	0,9582**	0,9095**	0,9552**
Sabor			1,00	0,9122**	0,9319**
Textura				1,00	0,9626**
Aparência					1,00

* ($p < 0,05$) ** ($p < 0,01$)

foram observadas com concentrações acima. No presente trabalho os resultados encontrados discordam dessa afirmação, uma vez que as nossas concentrações variaram de 1,16 a 1,60% (Tabela 1).

Schrijver et al. (1972) observaram nos queijos fabricados com *Lactococcus lactis* ssp *lactis* os menores teores de cloreto de sódio e nos fabricados com *Lactococcus lactis* ssp *cremoris* teores mais elevados, fato este não ocorrido no presente trabalho, como pode ser observado na Tabela 1.

As bactérias lácticas utilizadas nesta pesquisa não apresentaram diferentes sensibilidades ao teor

de cloreto de sódio. Segundo Cox(1977), o *Lactococcus lactis* ssp *cremoris* apresenta menor sensibilidade, sendo inibida se o meio contiver 4% de NaCl. Esta porcentagem não foi atingida em nenhum dos tratamentos (Tabela 1), o que explica a observação acima. Deve-se entretanto salientar que o crescimento das bactérias lácticas na massa do queijo, ocorre anteriormente à salga (Dawson & Feagen, 1957 e LAW et al., 1977) e as bactérias lácticas continuam a ter participação na maturação dos queijos mesmo após sua autólise (Law et al., 1976 e Law et al., 1974).

TABELA 4 - Análise de interação tratamentos x salga x tempo de armazenamento em relação a aceitabilidade.

Tratamentos	Salga		Médias
	Leite	Queijo	
I	7,35 Aa	6,87 Aa	7,11 A
II	6,91 ABa	6,03 Bb	6,47 B
III	6,22 Ca	6,61 ABa	6,42 B
IV	6,49 BCa	6,18 Ba	6,33 B
Médias	6,74 a	6,42 b	

Tratamentos	Tempo (dias)			Médias
	0	6	12	
I	7,22	7,05	7,06	7,11 A
II	6,86	6,73	5,82	6,47 B
III	7,08	6,24	5,93	6,42 B
IV	6,78	6,36	5,87	6,33 B
Médias	6,98 a	6,59 b	6,17 c	

Salga	Tempo(dias)			Médias
	0	6	12	
Leite	7,02	6,67	6,53	6,74 A
Queijo	6,94	6,51	5,81	6,42 B
Médias	6,98 a	6,59 b	6,17 c	

DMS 5% (cultura) = 0,478 I - Acidificação direta

DMS 5% (salga) = 0,258 II - *Lactococcus lactis* ssp *lactis*

DMS 5% (tempo) = 0,378 III - *Lactococcus lactis* ssp *cremoris*

DMS 5% (salga d. salga) = 0,677 IV - *Lact. lactis* ssp *lactis* + *Lact. lactis* ssp *cremoris*

DMS 5% (salga d. cultura) = 0,516

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna e letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

m-97 (ww)

4. CONCLUSÕES

É sabido que a concentração de cloreto de sódio interfere nas características sensoriais dos queijos.

Os resultados deste trabalho mostra que o queijo Minas Frescal elaborado por salga no leite ou salga nos queijos sofrem alterações significativas nas características sensoriais.

O queijo Minas Frescal processado com adição de 0,5% de cloreto de sódio em relação ao leite e salga complementar em salmoura, apresentou maior aceitabilidade.

A acidificação direta no leite pode ser empregada na elaboração do queijo Minas Frescal, sem prejuízo da qualidade do produto e com economia de mão-de-obra, uma vez que dispensa todo o trabalho com manutenção de cultura e preparo de inóculos.

5. ABSTRACT

It was studied the influence of sodium chloride concentration on Minas Frescal sensorial characteristics, processed with industrial lactic acid 85% of purity and nourishing degree and lactic cultures (*Lactococcus lactis* ssp *lactis* and *Lactococcus lactis* ssp *cremoris*) varying the type of salting (on milk and on cheese). The cheeses were prepared with pasteurized milk, following the methodology indicated by Instituto de Laticínios Cândido Tostes. The analyzed parameters were: tenor of sodium chloride and sensorial analysis (acceptability, flavour, texture and appearance), at zero, 6^o and 12^o days of storage under refrigeration (5,0^o ± 1,0^oC). The data analysis shown that the Minas Frescal cheese, elaborated by salting on milk or salting on cheeses, suffered significative alterations on sensorial characteristics. The Minas Frescal cheese processed with addition of 0,5% sodium chloride in relation to the milk and complement salting in brine (18-20%) presented bigger acceptability. Although the use of lactic cultures is a important factor on the quality of cheese, the milk direct acidification favours the procedure of this type of cheese, decreasing the hand labour of its elaboration and induceing bigger preference.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bonassi, I.A. **Influência de algumas espécies de bactérias lácticas na elaboração do queijo tipo Minas**. Botucatu: FCA, 1979. 133p. (Tese Livre-Docência) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.

Bonassi, J.A., Lima, V.A., Goldoni, J.S. Efeito da variação da quantidade de bactérias lácticas na

fabricação do queijo tipo Minas. *Ciênc. Cult.*, São Paulo, v.30, n.11, p.1317-1320, 1978.

Cox, W.A. Characteristics and use of starter cultures in the manufacture of hard processed cheese. *J. Soc. Dairy Technol.*, London, v.30, n.1, p.5-15, 1977.

Dawson, D.J., Feagan, J.T. Bacteriology of cheddar cheese. A study of starter organism in manufacture and maturing. *J. Dairy Res.*, Cambridge, v.24, n.2, p.210-24, 1957.

Fonseca, C.F. **Processos de salga e sua interação nos queijos**. Juiz de Fora: EPAMIG/ILCT, 1986. 23p. (Apostila)

Furtado, M.M., Lourenço Neto, J.P.M. Estudo rápido sobre a composição média dos queijos

Prato e Minas no mercado. *Bol. Leite Seus Deriv.*, Rio de Janeiro, n.605, p.4-38, 1979.

Law, B.A., Sharpe, M.E. The influence of the microflora of cheddar cheese on flavour development. *Dairy Ind. Int.*, London, v.42, p.10-14, 1977.

Law, B.A., Castanon, M.J., Sharpe, E. The contribution of starter streptococci to flavour development in cheddar cheese. *J. Dairy Res.*, Cambridge, v.43, n.2, p.301-311, 1976.

Law, B.A., Sharpe, M.E., Reiter, B. The release of intracellular dipeptidase from starter streptococci during Cheddar cheese ripening. *J. Dairy Res.*, Cambridge, v.41, n.1, p.137-146, 1974.

Law, J. et al. Proteolysis and flavour development in cheddar cheese made with the single starter strains *Lactococcus lactis* ssp *lactis* VC317 or *Lactococcus lactis* ssp *cremoris* H.P. *J. Dairy Sci.*, Champaign, v.75, p.1173-1185, 1992.

Lawrence, R.C., Creamer, L.K., Gilles, J. Texture development during cheese ripening. *J. Dairy Sci.*, Champaign, v.70, n.8, p.1748-1760, 1987. (Symposium: Cheese ripening technology).

Lesage, L., Sauvageot, F., voilley, A., Lorient, D. Influence de la teneur en NaCl et de la dureté d'affinage sur les caractéristiques sensorielles d'un fromage type camembert enrichi en magnésium. *Lait*, Paris, v.72, p.73-85, 1992.

Oliveira, J.S. **Queijos: fundamentos tecnológicos**. 2^a ed. São Paulo: Cone, 1986. 146p.

Pereira, J.F. **Análises bromatológicas.** Juiz de Fora: UFJF, 1975. 79p. (Apostila)

Ribeiro, J.A. Vamos fazer queijos? *Rev. Criadora*, São Paulo, v.17, n.2, p.33-35, 1946.

Samuelsson, E. Notas sobre a salgadura dos queijos. *Bol. Comm. Exec. leite*, Rio de Janeiro, v.3, n.26, p.29-32, 1944.

SANEST - Sistema de Análises Estatísticas. Zonta, E.P., Machado, A.A. 1989.

SAS - Statistical Analysis Sistem, 1993, 192p.

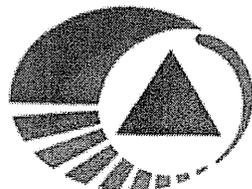
Schrijver, R., Martens, J.R., Weckx, M. La fabrication de cheddar sans crôte an moyen de fer-

ments lactiqueus monosouches. *Rev. Agri.*, Noumea, v.25, n.6/7, p.935-945, 1972.

Teixeira, E., Meijert, E.M., Barbeta, P.A. **Análise sensorial de alimentos.** Florianópolis: Editora da UFSC, 1987. 180p.

Vieira, S.D.A., Lourenço Neto, J.R.N. Elaboração de queijos frescais em pequena escala. *Inf. Agropecuário*, Belo Horizonte, v.8, n.88, p.28-29, 1982.

Wegner, W. Relatório prático sobre a elaboração dos queijos estepe e montanheseis com características de emmenthal e gruyere em queijarias do Rio Grande do Sul no período de 1980-83. *Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v.42, n.251, p.29-38, 1987.



EPAMIG

A Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais — EPAMIG — criada em 1974, é uma empresa pública de direito privado vinculada à Secretaria de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais. Para desempenhar suas atividades e desenvolver seus programas, a EPAMIG mantém a sede em Belo Horizonte e uma estrutura administrativa descentralizada, composta por centros tecnológicos, fazendas e campos experimentais, localizados nas diversas regiões de Minas.

INFLUÊNCIA DO TIPO DE SALGA NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E ACEITABILIDADE DO QUEIJO MINAS FRESCAL

Influency of the Type of Salting on the Physicochemical Characteristics and Acceptability of the Minas Frescal Cheese.

Catia Alexandra Batista da Silva ¹
Jacira dos Santos Isepon ²

RESUMO

Devido a importância do queijo tipo Minas Frescal, diversas tecnologia alternativas tem sido desenvolvidas por pesquisadores e técnicos de indústria de laticínios, sempre visando melhorar o rendimento do processo, a padronizar o queijo e principalmente aumentar a vida de prateleira. Este trabalho teve como objetivo estudar as características físico-químicas e a análise sensorial (aceitabilidade) do queijo Minas Frescal, variando o tipo de salga (seca, úmida e no leite + úmida). Os queijos foram preparados seguindo-se a metodologia indicada pelo Instituto de Laticínios "Cândido Tostes". Os parâmetros analisados foram: acidez titulável, teor de umidade, teor de matéria seca, teor de cloreto de sódio e análise sensorial (aceitabilidade) aos zero, 7^a e 14^a dias de armazenamento sob refrigeração (5,0°C ± 1,0°C). As análises dos dados mostraram que os diferentes tipos de salga não influenciaram nas características físico-químicas e na aceitabilidade do queijo tipo Minas Frescal.

1. INTRODUÇÃO

A fabricação de queijo no Brasil é relativamente recente, tendo sido implantada no início deste século, a partir da década de 20, com o estabelecimento de imigrantes dinamarqueses no sul de Minas Gerais e holandeses na região de Santos Dumont e Barbacena, também em Minas Gerais.

Em 1987, a produção nacional foi de 240.789 toneladas, o que corresponde a um consumo "percapita" de cerca de apenas 1,7 kg de queijo anualmente (Furtado, 1990). Contudo, este dado se refere à produção em estabelecimento sob Controle do Serviço de Inspeção Federal. A produção de queijos não é conhecida, pois dados relativos às fábricas sob inspeção estadual ou municipal não estão disponíveis, e além disso, não estão computados dados relativos à produção artesanal de queijos, as quais são de difícil avaliação. Sabe-se, entretanto, que a produção de queijos sob estas condições é substancial e estima-se que pode chegar a 30% ou 40% da produção oficial (Furtado, 1987).

O queijo Minas Frescal é um dos produtos lácteos brasileiros mais importantes, podendo ser encontrado praticamente em todo país (Isepon, 1994). Este tipo de queijo tem uma tecnologia das

mais simples e por isso mesmo, muito difundida. Sua origem, na verdade, como da grande maioria dos queijos está ligada a fabricação artesanal (Furtado, 1980, citado por Isepon, 1989).

A hidrólise das proteínas dos queijos, é de importância primária para o desenvolvimento apropriado da textura, caracteres organolépticas e o amadurecimento dos queijos. A proteólise em queijos é afetada por inúmeros fatores, incluindo atividade residual do coagulante, proteases próprias do leite, proteinases da cultura, peptidases, pH, caseína, sal na umidade, taxas de umidade e temperatura de maturação (Farkey et al., 1981, citado por Isepon, 1994).

Devido a importância do queijo Minas Frescal, diversas tecnologias alternativas tem sido desenvolvidas, por pesquisadores e técnicos de indústria de laticínios, sempre visando melhorar o rendimento do processo, a padronizar o queijo e principalmente aumentar sua durabilidade (Isepon, 1989).

O cloreto de sódio (sal), além de conferir sabor à massa, intervêm na dessoragem do queijo, formação da casca, no desenvolvimento microbiano e textura (Wegner, 1987).

Este trabalho teve como objetivo principal estudar o efeito de diferentes tipos de salga nas características físico-químicas e aceitabilidade do

¹ Discente do Curso de Agronomia da Faculdade de Engenharia - Câmpus de Ilha Solteira / UNESP - CEP 15385-000 - Ilha Solteira-SP.

² Docente do Departamento de Horticultura e Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia - Câmpus de Ilha Solteira / UNESP - Caixa Postal 31 - CEP 15385-000 - Ilha Solteira-SP.

queijo Minas Frescal nos dias zero, 7 e 14 quando mantido sob refrigeração ($5,0^{\circ}\text{C} \pm 1,0^{\circ}\text{C}$).

2. MATERIAL E MÉTODOS

1. Material

O trabalho foi realizado no laboratório de Horticultura e Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia - Campus de Ilha Solteira - SP.

1.1. Matéria-prima

A matéria prima utilizada foi leite pasteurizado, fornecido pelo "Laticínio Ilha Comércio Ltda", localizado no município de Ilha Solteira e pela Fazenda de Ensino e Pesquisa-Bovinos, localizada no município de Selvíria-MS.

1.2. Cloreto de Cálcio

Utilizou-se Cloreto de Cálcio (CaCl_2) em solução aquosa esterilizada a 50% (p/v), na razão de 25g/100l de leite (Vieira e Lourenço, 1982).

1.3. Ácido Láctico

Utilizou-se ácido láctico industrial 85% de pureza e grau alimentício preparado em solução à 20%, na razão de 25 ml/100 litros de leite (Wolfschoon-Pombo et al., 1978).

1.4. Agente de Coagulação

O agente de coagulação empregado foi o coalho-enzima líquido de origem animal, diluído na proporção de 1:5 com água previamente destilada, fervida e resfriada aproximadamente a 32°C .

1.5. Cloreto de Sódio

Utilizou-se cloreto de sódio de granulação fina, para a salga do queijo no leite e salga nos queijos (salmoura).

1.6. Embalagem

A embalagem utilizada foi o invólucro de polietileno de baixa densidade que é a embalagem normalmente usada pelos fabricantes desse tipo de queijos.

2. MÉTODOS

2.1. Processamento dos Queijos

Os queijos foram elaborados de acordo com a receita para o queijo Minas Frescal indicada

pelo Instituto de Laticínios "Cândido Tostes" (Departamento de Tecnologia de Alimentos da EPAMIG) segundo Vieira e Lourenço (1982), variando o tipo de salga em cada caso específico, uso de ácido láctico e o coalho em quantidades suficientes para haver coagulação em 60 minutos, conforme a Figura 01.

2.2. Tratamentos

O experimento constou de três tratamentos, variando o tipo de salga, assim discriminados:

- I - Salga seca;
- II - Salga úmida;
- III - Salga no leite + salga úmida, com 5 repetições para cada tratamento.

Para cada tratamento foram fabricados 2 queijos que variaram de 371 a 599 gramas.

2.3. Análises dos queijos

Para se verificar o índice de proteólise e aceitabilidade dos produtos as análises foram feitas aos zero, 7^a e 14^a dias, tomando-se um terço (1/3) da peça de cada queijo em cada amostragem. Após coletadas as amostras eram maceradas em cápsulas de porcelana com o auxílio de pistilo, para maior homogeneização.

Em todas as amostras, as análises foram feitas em duplicata.

2.3.1. Análises Físico-Químicas

- Acidez Titulável: Acidez titulável foi determinada pelo método da A.O.A.C. (1980).
- Umidade e matéria seca: As determinações de umidade e matéria seca foram realizadas segundo o método recomendado pelo Brasil... (1981).
- Cloreto de Sódio (sal): para queijo foi determinado pela titulação com tiocianato de potássio, do excesso de nitrato de prata adicionado, seguindo-se uma modificação do método de Volhard (Furtado, 1975).

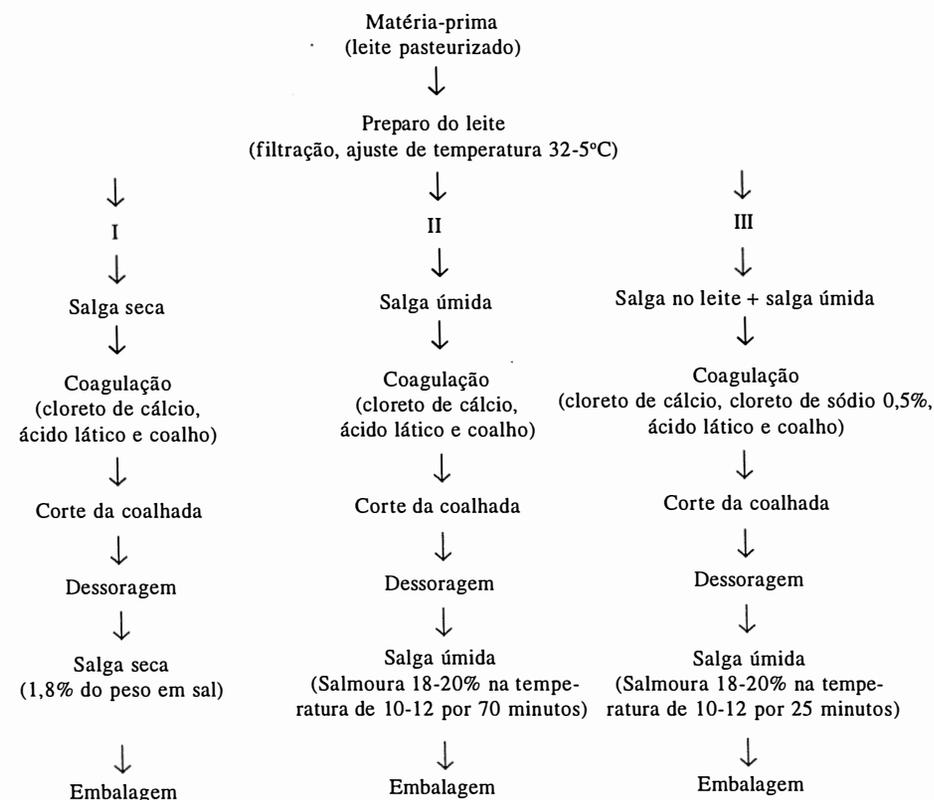
2.3.2. Avaliação do produto (Análise sensorial)

Para verificar a aceitabilidade do produto, adotou-se a escala hedônica (variando de 1 a 9), por uma equipe de 10 degustadores previamente treinados (Teixeira et al., 1987).

2.3.3. Delineamento Experimental

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, num esquema fatorial, 3×3 , para as análises físico-químicas e avaliação sensorial. Para se constatar diferenças entre as médias foi utilizado o teste de Tukey a 5% de probabilidade (Pimentel-Gomes, 1985).

FIGURA 01 - Fluxograma de processamento



3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância (Tabela 01) e interações (Tabelas 02 a 06) mostram que existe uma interação entre alguns parâmetros estudados nos diferentes tratamentos empregados. Os valores de F (Tabela 01) para acidez titulável e aceitabilidade foram significativos entre os tratamentos.

Na Tabela 02 encontram-se os resultados médios obtidos para acidez titulável nos queijos. A acidez titulável não variou entre os tratamentos, no entanto, para os tempos de armazenamento, observase que a acidez titulável foi significativamente maior (0,36) no 14^a dias de armazenamento em relação aos demais dias de armazenamento, que não apresentaram diferenças significativas entre si.

Os dados para teor de cloreto de sódio nos queijos para os diferentes tratamentos e suas interações são apresentados na Tabela 03. O teor de cloreto de sódio variou entre os tipos de salga, apresen-

tando-se significativamente menor (0,93%) no tratamento I (salga seca) e não diferindo estatisticamente nos tratamentos II (salga úmida) e III (salga leite + salga úmida) com médias 1,31% e 1,19% respectivamente. Entre tempos de armazenamento, o teor de cloreto de sódio não apresentaram diferenças significativas entre si.

Os teores médios de cloreto de sódio (0,92 a 1,37%) observados neste trabalho (Tabela 03) são inferiores aos encontrados por Bonassi (1979), que variaram de 2,3 a 3,01% para queijo integral, determinados aos 10, 20 e 30 dias, e abaixo do 2%, indicados por Oliveira (1986). O teor de sal na umidade além de sua importância organoléptica, é de extrema importância na vida microbiana do queijo, inibindo o desenvolvimento de microorganismos indesejáveis (Isepon e OLiveira, 1995). Farkye et al. (1991), observaram que a concentração de NaCl na superfície dos queijos é 2,28 vezes superior que aquela do seu interior, quando os queijos são salga-

TABELA 01 - Valores de F e respectivos níveis de significância obtidos pela análise de variância.

Causas de Variância	Acidez	Cloreto de Sódio	Umidade	Matéria Seca	Rendimento	Aceitabilidade
Salga (S)	0,15	6,95*	2,76	2,78	0,26	1,83
Tempo (T)	6,32*	0,67	0,48	0,47	-	8,16*
S x T	0,20	0,50	1,41	1,41	-	0,31
Coefficientes de variação	36,33	24,77	11,14	7,71	18,37	16,62

* (p < 0,05).

TABELA 02 - Análise de interação entre tipos de salga x tempo de armazenamento em relação acidez titulável (gramas de ácido láctico/100g de queijo).

Tratamentos	Tempo de armazenamento (dias)			Médias
	0	7	14	
I	0,25	0,25	0,38	0,29A
II	0,25	0,24	0,33	0,27A
III	0,22	0,27	0,38	0,29A
Médias	0,24b	0,25b	0,36a	

DMS 5% (salga) = 0,09
DMS 5% (tempo) = 0,09

I - Salga seca
II - Salga úmida
III - Salga no leite + salga úmida

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna e letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

TABELA 03 - Análise da interação entre tipos de salga x tempo de armazenamento em relação ao teor de cloreto de sódio (gramas de cloreto de sódio/100g de queijo).

Tratamentos	Tempo de armazenamento (dias)			Médias
	0	7	14	
I	0,94	0,94	0,92	0,93B
II	1,31	1,33	1,29	1,31A
III	1,37	1,16	1,05	1,19A
Médias	1,21a	1,14a	1,09a	

DMS 5% (salga) = 0,25
DMS 5% (tempo) = 0,25

I - salga seca
II - Salga úmida
III - Salga no leite + salga úmida

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna e letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

dos por salmoura, e que a concentração se torna linear após 14 dias de armazenamento.

Os resultados médios obtidos para umidade e matéria seca dos queijos são apresentados nas Tabelas 04 e 05. Os valores de F (Tabela 01), não foram significativos para umidade e matéria seca. Para tipos de salga dentro de tempos de armazenamento observa-se que para o tempo 1 de armazenamento (zero dias) a umidade variou com o tipo de salga utilizada. Quando se utilizou salga seca (I) a média da umidade foi significativamente maior (43,36), quando comparada com o tratamento III (salga no leite + salga úmida) e não diferiu significativamente do tratamento II, com as médias de 35,54 e 41,58, respectivamente. Entretanto, observa-se que entre tipos de salga e

tempos de armazenamento a umidade não apresentou diferenças significativas.

Para matéria seca (Tabela 05) ocorreu o mesmo, sendo significativamente maior (64,46%) no tratamento III (salga no leite + salga úmida) e significativamente menor (56,54%) no tratamento I (salga seca), ambos em relação ao tempo 1 de conservação (zero dias). Os resultados encontrados no presente trabalho compararam-se com os observados por Bonassi (1979), que foram de 33,56 a 41,86% de umidade e 58,12 a 66,44 de matéria seca. ISEPON (1989), trabalhando com queijos processados com leite pasteurizado e não pasteurizado observou que os queijos processados com leite não pasteurizado apresentaram teores de umidade (37,54%) inferiores

TABELA 04 - Análise da interação entre tipos de salga x tempo de armazenamento em relação ao teor de umidade.

Tratamentos	Tempo de armazenamento (dias)			Médias
	0	7	14	
I	43,46A	43,29A	41,17A	42,64A
II	41,58AB	40,64A	41,87A	41,36A
III	35,54B	38,47A	42,38A	38,79A
Médias	40,19a	40,80a	41,81a	

DMS 5% (salga) = 4,08
DMS 5% (tempo) = 4,08

I - salga seca
II - Salga úmida
III - Salga no leite + salga úmida

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna e letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

TABELA 05 - Análise da interação entre tipos de salga x tempo de armazenamento em relação ao teor de matéria seca.

Tratamentos	Tempo de armazenamento (dias)			Médias
	0	7	14	
I	56,54B	56,71A	58,82A	57,35A
II	58,41AB	59,36A	58,12A	58,63A
III	64,46A	61,53A	57,64A	61,21A
Médias	59,81a	59,19a	58,20a	

DMS 5% (salga) = 4,07
DMS 5% (tempo) = 4,07

I - salga seca
II - Salga úmida
III - Salga no leite + salga úmida

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna e letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

aqueles queijos processados com leite não pasteurizado (40,01%). Enquanto que El Sadek et al. (1958), estudando umidade e matéria seca em queijos processados com leite pasteurizado e não pasteurizado, observaram que o teor de umidade é menor no processamento com leite não pasteurizado, uma vez que a pasteurização retém mais umidade.

Os valores de F para aceitabilidade (Tabela 01) apresentam-se significativamente maior (8,16) para tempo de conservação, em relação a salga e a interação salga versus tempo de conservação. Os valores médios de aceitabilidade encontram-se na Tabela 06. Para os tipos de salga, a aceitabilidade não variou significativamente. Enquanto que para os tempos de armazenamento, a aceitabilidade diminuiu a medida que se aumentou o tempo de armazenamento, com as médias variando de 7,4 a 5,8 (na escala de 1 a 9). Os resultados encontrados no presente trabalho comparam-se com os observados por ISEPON (1994), que foram de 6,98 a 6,17, no tempo de armazenamento de 0 a 12 dias. ISEPON (1994) também observou que, o tempo de armazenamento é um dos parâmetros que mais afeta a aceitabilidade do queijo Minas Frescal e que o tempo de armazenamento não deve ser superior a 6 dias.

O valor de F, apresentaram significativo ($p < 0,05$) entre os tempos de armazenamento para aceitabilidade e acidez titulável (Tabela 01). Estes fatos indicam que aumentos significativos no teor de acidez titulável e tempo de armazenamento, podem provocar diminuição na aceitabilidade dos queijos tipo Minas Frescal.

Observa-se que o valor de F para rendimento (Tabela 01) não foi significativo para os tratamentos em estudo (tipos de salga).

TABELA 06 - Análise da interação entre tipos de salga x tempo de armazenamento em relação a aceitabilidade.

Tratamentos	Tempo de armazenamento (dias)			Médias
	0	7	14	
I	6,8	6,8	5,2	6,3A
II	7,6	7,2	6,0	7,0A
III	7,8	6,8	6,2	6,9A
Médias	7,4a	6,9a	5,8b	

DMS 5% (salga) = 0,25
DMS 5% (tempo) = 0,25

I - salga seca
II - Salga úmida
III - Salga no leite + salga úmida

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna e letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade.

Pela observação dos resultados apresentados pode-se afirmar que o queijo tipo Minas Frescal, elaborado por salga seca, salga úmida e salga no leite + salga úmida, tem o mesmo índice de aceitabilidade, embora o tempo de armazenamento sob refrigeração ($5,0^{\circ}\text{C} \pm 1,0^{\circ}\text{C}$), afete sensivelmente a aceitabilidade.

4. CONCLUSÃO

Considerando os objetivos sobre os quais foi desenvolvido o presente trabalho, pode-se concluir:

- Os diferentes tipos de salga não influenciaram nas características físico-químicas e na aceitabilidade do queijo tipo Minas Frescal.
- A aceitabilidade dos queijos tipo Minas Frescal diminuiu-se a medida que se aumentou o tempo de armazenamento, independente do tipo de salga.
- O tempo de armazenamento, independente do tipo de salga, não deve ser superior a 7 dias.

5. ABSTRACT

Due to the importance of the Minas frescal type chese, several alternative tecnologies have been developed by researches and technician of the dary industry, aiming to improve the process performance, to standardize the cheese and mainly to increase the shelf life. This work aims to study the physicochemical characteristics and the sensorial analysis (acceptability) of the Minas Frescal cheese, varying the type of salting (dry,

humid and in the milk + humid).The cheeses were prepared following the methodology indicate by Instituto de Laticínios Cândido Tostes. The analysed parameters were: titulavel acidity, humidity tenor, draigt matter tenor, sodium chloride tenor and sensorial analysis (acceptability) at zero, 7th and 14th days of storage under refrigeration ($5,0^{\circ}\text{C} \pm 1,0^{\circ}\text{C}$). The data analysis shown that the different types of salting did not affect the physicochemical characteristics and the acceptability of the Minas Frescal type cheese.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Association Of Official Analytical Chemists. *Official methods of analysis*. Washington, 1980. 1091p.

Bonassi, I.A. **Influência de algumas espécies de bactérias lácticas na elaboração do queijo tipo Minas**. Botucatu, 1979. 133p. [Tese Livre-Docência-Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista].

Brasil. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Referência Animal. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. II - Métodos físicos e químicos**. Brasília, 1981.

El-Sadek, G.M., Abd-Motteleb, L. Effect of the heat treatment of milk on the yield, and certain properties of standardized milk cheese. *J. Dairy Res.*, Cambridge, v. 25, n.1, p.85-91, 1958.

Farkye, N.Y., Kiely, L.J., Allshouse, R.D., Kindstedt, P.S. Proteolysis in Mozzarella cheese during refrigerated storage. *J. Dairy sci.*, Champaign, v.74, p.1433-1438.

Furtado, J.P. **Análises bromatológicas**. Juiz de Fora: Universidade Federal de Juiz de Fora, 1975. 97p. (Apostila).

Furtado, M.M. **A arte e a ciência do queijo**. 2^a ed. São Paulo: Globo, 1990, 297p.

Furtado, M.M. **Defeitos de fabricação de queijos**. Juiz de Fora: Instituto de Laticínio Cândido Tostes, 1987. 392p. (Apostila).

ISEPON, J.S. **Influência do emprego de culturas lácticas nas características físico-químicas do queijo tipo Minas Frescal**. São Paulo, 1989. 87p. [Dissertação de mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo].

Isepon, J.S. **Variação do índice de Proteólise e aceitabilidade do queijo tipo Minas Frescal**. São Paulo, 1994. 110p. [Tese de Doutorado-Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo].

Isepon, J.S. e Oliveira, A.J. Efeito da concentração de cloreto de sódio nas características sensoriais do queijo Minas Frescal. In: *do SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS - AVANÇOS E PERSPECTIVAS. Anais...* Campinas, 13 a 16 de novembro de 1995.

OLIVEIRA, J.S. **Queijos: fundamentos tecnológicos**. 2^a ed. São Paulo: Cone, 1986. 146p.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 11^a ed. Piracicaba: USP/ESALQ, 1965. 466p.

TEIXEIRA, E., MEINERT, E.M., BARBETTA, P.A. **Análise sensorial de alimentos**. Editora da UFSC. Florianópolis, 1987, 180p.

VIEIRA, S.D.A., LOURENÇO NETO, J.R. de N. Elaboração de queijos frescais em pequena escala *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.8, n.88, p.28-29, 1982.

WEGNER, W. Relatório prático sobre a elaboração dos queijos estepe e montanhese com características de emmenthal e gruyere em queijarias do Rio Grande do Sul no período de 1980-83. *Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v.42, n.251, p.29-30, 1987.

WOLFSCHOONN-POMBO, A.F., FURTADO, M.M., MUNCK, A.V. Fabricação do queijo Minas Frescal com o uso de ácido láctico industrial. *Rev. Inst. Laticínio Cândido Tostes*, Juiz de fora, v. 199, n.38, p.33, 1978.

DETECÇÃO DE RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICO EM LEITE COMERCIALIZADO NA CIDADE DE CAMPINAS

Detection of antibiotic residues in milk commercialized in Campinas

Lopes, L.T.¹
Gandara, A.L.N.²
Cristianini, M.³

RESUMO

A presença de resíduo de antibióticos foi avaliada em 178 amostras de leite pasteurizado utilizando o método do Delvotest P. Os resultados indicaram que 7,9% das amostras apresentavam presença de resíduo de antibiótico sendo 14,1 % em leite pasteurizado tipo A, 2,5 % em leite pasteurizado tipo B e 0 % em leite pasteurizado tipo C. Os resultados indicaram que a incidência de amostras positivas para resíduo dessa classe de medicamento é variável dependendo do marca do leite.

INTRODUÇÃO

Antibióticos de largo espectro usados no controle de doenças infecciosas no rebanho leiteiro, administrados aos animais se ja por injeção ou mesmo via oral podem, independente da via administrada, aparecer no leite e causar problemas aos consumidores, para os produtores de leite e mesmo em processos tecnológicos (VEISSEYRE, 1988).

O uso indiscriminado dessa substância e o desrespeito ao tempo de resguardo indicado após a última aplicação do medicamento no animal para utilização do leite para consumo, já a décadas tem sido relatado em diferentes pesquisas (KOSIKOWSKI, 1960; MELLO FILHO, 1969; FARRELY, 1970; COOK et al, 1976; FAGUNDES, 1981). A importância desse fato está relacionada, principalmente, ao aspecto de saúde pública, em que o consumo sistemático de leite contendo resíduo de antibióticos pode resultar em sérios problemas de resistência microbiana, além de outros tipos de reações como alergia, choque anafilático, efeitos tóxicos e efeitos colaterais secundários aos consumidores de leite com resíduo dessa substância; na indústria laticinista a presença desse tipo de droga no leite resulta em dificuldades técnicas na utilização desta matéria prima em processamentos, pelas interferências nas características tecnológicas dos produtos lácteos industrializados, como, por exemplo, a inibição da microbiota típica utilizada normalmente na produção de alimentos lácteos fermentados (LAMPERT, 1975; VEISSEYRE, 1988).

Em alguns países como Estados Unidos, França, Dinamarca e Inglaterra o controle de resíduo de antibióticos no leite é constante, seguindo normas rígidas amparadas na legislação, com campanhas educacionais procurando conscientizar os produtores sobre a importância do controle da presença de qualquer agente antimicrobiano no leite (FAGUNDES, 1981; VILELA & SANTOS, 1981). No Brasil, somente em 1980 surgiu uma legislação específica que permite a comercialização de leite após terem sido decorridas 72 horas da última aplicação do medicamento no animal (BRASIL, 1980).

Devido a grande importância nutricional do leite e ao aspecto de saúde do consumidor, é necessário o controle da presença de resíduo de antibiótico nesse alimento visando, desta forma, a qualidade sanitária desse produto de consumo.

Este trabalho teve como principal objetivo a avaliação de presença de resíduo de antibióticos em leite comercial, distribuído na cidade de Campinas, utilizando o *Delvotest P* como método de detecção.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostras de leite: Foram colhidos pacotes de 1000 ml de leite pasteurizado sendo 4 amostras de leite tipo A, 2 amostras de leite tipo B e 2 amostras de leite tipo C de diferentes marcas comerciais, mais frequentes no comércio de alimentos em Campinas.

Coleta amostras: A coleta das amostras foi realizada duas vezes por semana durante 4 meses (julho a outubro/1995), em supermercados e padarias. Os pacotes foram acondicionados em caixas isotérmicas e conduzidas ao laboratório para análise.

Controle de pH: Para as medições de pH das amostras foi utilizado pHmetro, marca WTW, modelo pH320, seguindo os procedimentos recomendados pelo Standard Methods for the Examination of Dairy Products (RICHARDSON, 1985).

Deteção de resíduo de antibiótico: foi utilizado Kit de *Delvotest P* da GIST-BROCADES NV, que utiliza esporos de *Bacillus stearothermophilus var. calidolactis*. (RICHARDSON, 1985). Foi utilizado o procedimento recomendado nas instruções técnicas do fabricante. Para o teste foi utilizado banho-maria (Fabbe-Primar, mod.404) a 63-66°C por 2h30min., acompanhado de um branco para controle do teste.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A TABELA 1 apresenta os resultados obtidos para a presença de resíduo de antibióticos em leite

comercializado na cidade de Campinas e os resultados positivos para leite tipo A, tipo B e Tipo C. Pelos dados pode-se observar que das 178 amostras analisadas 14 apresentaram presença de resíduo de antibiótico em leite pasteurizado, o que representa 7,9 % das amostras coletadas. Estes resultados indicam que a presença desse tipo de medicamento continua ocorrendo em leite de consumo, como relatado anteriormente por FAGUNDES (1981), BARROS & PERCHES (1981) e SILVA & SENA (1984). O maior número de amostras com presença de resíduo de antibióticos ocorreu respectivamente no leite pasteurizado tipo A (14,1%) e no tipo B (2,5%). No leite pasteurizado tipo C não houve detecção desse tipo de substância nas amostras testadas.

A TABELA 2 mostra a incidência de resíduo de antibiótico no leite pasteurizado tipo A, tipo B e tipo C diferenciadas por marcas.

Os resultados obtidos para leite pasteurizado tipo A (TABELA 2) indicam que todas as marcas desse tipo de leite apresentaram amostras positivas para resíduo de antibiótico, embora a frequência tenha sido maior em duas das quatro marcas estudadas (marca II e IV). Esses resultados apontam a necessidade de maior controle a nível de inspeção nos laticínios.

TABELA 1 - Presença de resíduo de antibióticos em leite comercializado na cidade de Campinas.

LEITE PASTEURIZADO COMERCIAL		
Número de Amostras: 178		
Amostras com Resíduo Antibiótico: 14		
prevalência: 7,9 %		
Leite tipo A número de amostras: 92 amostras com resíduo antibiótico: 13 prevalência: 14,1 %	Leite tipo B amostras: 40 amostras com resíduo antibiótico: 1 prevalência: 2,5 %	Leite tipo C amostras: 46 amostras com resíduo antibiótico: 0 prevalência: 0 %

TABELA 2 - Prevalência de resíduo de antibiótico em diferentes marcas de leite pasteurizado tipos A, B e C, comercializadas na cidade de Campinas.

marca	Leite tipo A				Leite tipo B		Leite tipo C	
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
prevalência	4,4%	21,8%	4,4%	26,1%	0,0%	4,4%	0,0%	0,0%
total amostras	23	23	23	23	17	23	23	23

¹ Aluna do curso de Engenharia de Alimentos - UNICAMP

² Técnico Alimentos - Depto de Tecnologia de Alimentos - FEA - UNICAMP
³ Depto. De Tecnologia de Alimentos - FEA - UNICAMP

Os níveis de incidência para resíduos de antibióticos em leite pasteurizado tipo B (TABELA 2) foram bastante inferiores àqueles obtidos por BARROS&PERCHES (1980). Esses autores analisaram 96 amostras de leite pasteurizado tipo B, comercializado na cidade de São Paulo e obtiveram 21,9% das amostras com presença de resíduos de antibióticos. Uma incidência menor foi detectada por FAGUNDES (1981) com 5,5 % de amostras com resíduos de antibióticos. Resultado semelhante foi obtido também por SILVA & SENA (1984) em estudos realizados em Belo Horizonte em 1982-83, em 96 amostras com uma incidência de 4,2 % de amostras positivas para resíduos desse tipo de medicamento. Os resultados obtidos em nosso estudo indicaram valores próximos destes últimos principalmente quando considerado uma única marca (leite VI).

No caso do leite pasteurizado tipo C não foram detectados presença de resíduos de antibióticos nas 46 amostras estudadas (TABELA 2). Esses resultados diferem daqueles obtidos por MELLO FILHO (1969) que obteve 1,9% de amostras com resíduo de antibiótico em 1000 amostras estudadas e por FAGUNDES (1981) que obteve 1,3 % de amostras positivas para resíduos de antibióticos em leite pasteurizado tipo C. O fato da não detecção de resíduos em nosso estudo pode indicar uma melhor qualidade do leite pasteurizado tipo C, quanto ao aspecto estudado, já que as duas marcas não apresentaram resíduos do medicamento. A incidência de resíduos em leite tipo C tem sido menor que nos outros tipos de leite como indica os resultados obtidos por SENA & SILVA (1984) com variações de 0%, 1,0% e 2,1% de amostras positivas para resíduos de antibiótico em leite tipo C comercial de três diferentes marcas, num universo de 96 amostras para cada marca. O fato da não detecção de resíduos dessa classe de medicamento em nosso estudo pode ter ocorrido pelo pequeno número de amostras, visto a dificuldade de obtenção desse tipo de leite e das marcas estudadas no comércio, naquele período.

A questão da presença de resíduos de medicamentos em leite envolve aspectos importantes a serem estudados uma vez que a eliminação dos resíduos de antibióticos pelo animal é variável dependendo da dose utilizada, da via de aplicação, do tipo de antibiótico entre outros (VEISSEYRE, 1988). Para FAGUNDES (1981) o tempo de eliminação de resíduos de antibióticos pode variar de 66 a 96 horas em animais sadios a até 96 a 141 horas em animais com mamite. Segundo LAMPERT (1975) o "Food and Drug Administration" recomenda que o leite de animais tratados com antibióticos, via intramuscular, poderá ser usado para consumo somente após 96 horas da última aplicação do medicamento. No Brasil, conforme citado anteriormente, a recomendação de administração do medicamento e

indica um tempo de espera, após a última aplicação do antibiótico de 72 horas (BRASIL, 1980).

Os resultados obtidos neste estudo indicam a necessidade de maior atenção das autoridades no controle sanitário de leite comercial e também de pesquisas nessa área, já que problemas clínicos de resistência a antibióticos têm sido crescente, podendo a incidência residual desse tipo de medicamento ser um fator que esteja contribuindo para o número excessivo de pessoas com esse tipo de problema. Esses resultados são relevantes, principalmente para leite tipo A uma vez que na literatura não foram encontrados estudos para este tipo de leite.

SUMMARY

The presence of antibiotic residues was evaluated in 178 samples of pasteurized milk using the Delvotest P (Gist-Brocades). Results indicated that 7,9% of samples were contaminated with antibiotics, with 14.1% of type A milk samples positive, 2.5% of type B and none of type C. The results also showed that incidence of positive samples for presence of antibiotics is dependent on the brand.

AGRADECIMENTOS

À empresa G.C Hahn & Co Estabilizantes e Tecnologia para Alimentos Ltda. que cedeu os kits Delvotest P para a pesquisa.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- BARROS, V.R.M.; PERCHES, E.M.C. Pesquisa de inibidores no leite tipo B distribuído ao consumo da grande São Paulo. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v.36, n.216, p. 39-42, 1981
- BRASIL Regulamento de inspeção industrial e sanitário de produtos de origem animal. Ministério da Agricultura, Brasília, 1980.
- COOK, R.C.; KATZ, W.K.; MEARA, P.J. The incidence and sources of penicilinum in milk supplied to the city of Johannesburg. *J. S. Afri. Vet. Assoc.*, Pretoria, v.47, n 3, p.205-7, 1976.
- FAGUNDES, C.M. Persistência de antibiótico no leite bovino e em condições experimentais. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v.36, n.216, p. 27-30, 1981.

FARRELY, B.T. A survey of the incidence of antibiotic contamination of milk in the Dublin liquid milk area. *Ir. Vet. Journal.*, Dublin, v.26, n.3, p.41-7, 1970.

KOSIKOWSKI, F.V. The control of antibiotic in milk through a sound test program. *Journal of milk and food technology*, Ames, v.23, p.285-7, 1960

LAMPERT, L.M. *Modern dairy products - composition food value, processing chemistry, bacteriology testing imitation dairy products*. Chemical Publishing Company Inc., New York, 1975, 437p.

MELLO FILHO, A. Penicilina no leite de consumo da cidade de São Paulo e riscos de sensibilização. *Revista Paulista de Medicina*, São Paulo, v.25, p.21-34, 1969.

RICHARDSON, G.H. *Standard methods for the examination of dairy products*. 15th American Public Health Association, 1985, 412p.

SANTOS, E.C. Presença de inibidores no leite fresco e suas consequências. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, 40, n.240, p.3-14, 1985.

SILVA, T.J.P.; SENA, M.C. Prevalência de antibiótico no leite pasteurizado tipo B e especial 3,2% de gordura consumidos em Belo Horizonte, 1982-1983. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v.39, n.235, p.7-12, 1984.

VILELA, S.C.; SANTOS, E.C. Identificação rápida de resíduos de antibiótico no leite. *Arquivo da Escola de Veterinária da UFMG*, Belo Horizonte, v.33, n.3, p.569-74, 1981.

VEISSEYRE, R. *Lactologia técnica: composición, recogida, tratamiento y transformación de la leche*. Zaragoza, Ed. Acribia, 1988, 629p.

Assine as Revistas da EPAMIG

INFORME AGROPECUÁRIO

REVISTA DO INSTITUTO DE LATICÍNIOS CÂNDIDO TOSTES

BOLETIM TÉCNICO

UTILIZAÇÃO DO COALHO BOVINO E COAGULANTES MICROBIANO E GENÉTICO NA COMPOSIÇÃO E RENDIMENTO DO QUEIJO MINAS FRESCAL¹

Daise Aparecida Rossi¹
Luiz Ronaldo de Abreu²
Múcio Mansur Furtado³
Celso José de Moura¹

RESUMO

Queijos Minas Frescal foram elaborados com uso de ácido láctico e salga direta no leite. Foram utilizados o coalho bovino e coagulantes microbianos (*Mucor miehei*) e genético (*Aspergillus niger*) para coagulação do leite. Composição dos queijos, rendimento e tempo de fabricação foram avaliados. O uso do coagulante genético (*Aspergillus niger* var. *awamori*) resultou em queijos com menor umidade e maiores teores de proteína e gordura, sendo que a gordura no extrato seco não foi diferente em nenhum dos tratamentos. O maior tempo de fabricação ($p < 0,05$) foi na utilização do coagulante genético, provavelmente, devido ao uso de salga direta e seu efeito inibidor sobre a quimosina. Os maiores rendimentos de fabricação em L/kg foram observados nos queijos fabricados com o coalho bovino, porém, quando o rendimento foi avaliado levando-se em consideração a composição do queijo (gramas de sólidos totais por litro de leite-gST/L) o maior índice foi observado para os queijos fabricados com o coalho microbiano, porém, a diferença não foi significativa ($p > 0,05$).

1. INTRODUÇÃO

Sob o ponto de vista tecnológico, o queijo Minas Frescal é um produto de fácil elaboração e de elevado rendimento, sendo que vários fatores podem alterar sua composição e rendimento, entre eles, o tipo de coalho. Tradicionalmente, o coalho de vitelo é considerado ideal para fabricação de queijos, porém, na produção do queijo Minas Frescal, seu uso é insipiente, sendo mais utilizados os coalhos bovinos e microbianos (menor quantidade de quimosina e presença de enzimas inespecíficas respectivamente). O uso destes coalhos em detrimento da utilização do coalho de vitelo, muitas vezes acarreta problemas tecnológicos, como redução no rendimento e mudanças na composição (Fox e Law, 1991). Recentemente técnicas avançadas de engenharia genética permitiram a produção de um coalho a partir da fermentação de microrganismos transgênicos composto de 100% de quimosina.

Um dos fatores primordiais para garantir a viabilidade da produção de queijos é o rendimento, que é definido como a quantidade de queijo com determinado teor de sólidos totais, produzido a partir de um peso fixo de leite (Kosikowski, 1977). Os principais fatores interferentes são: composição do

leite (principalmente gordura e proteína), porcentagem de transição dos constituintes do leite para o queijo e a porcentagem de umidade retida (Banks et al., 1981). Segundo Kammerlöhner (1994) também a qualidade do leite, aditivos como coalho, fermento láctico e tecnologia de fabricação são determinantes para o rendimento e a composição dos queijos.

Devido a importância dos aditivos nas características dos queijos e sendo o coalho indispensável para a coagulação, o presente trabalho objetivou avaliar a utilização do coalho bovino (80% de pepsina e 20% de quimosina) e coagulantes microbiano (*Mucor miehei*) e genético (*Aspergillus niger* var. *awamori*) para coagulação do leite e sua influência na composição, tempo de fabricação e rendimento do queijo Minas Frescal fabricado com uso de ácido láctico e salga direta no leite.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Fabricação dos queijos

O experimento foi conduzido em 3 dias consecutivos, em fabricações simultâneas, onde foram utilizados 100 kg de leite para cada tratamento (coa-

lho bovino e coagulantes microbiano e genético) em cada uma das 3 repetições. O leite utilizado foi pasteurizado e padronizado para cerca de 3% de gordura. A tecnologia de fabricação empregada foi a tradicional, acrescida das modificações sugeridas por Wolfshoon-Pombo, Furtado e Munck (1978), que utiliza salga direta no leite (2kg/100kg de leite) e substitui o fermento láctico por ácido láctico (23,5ml/100kg de leite). A quantidade do agente coagulante foi determinada em função da sua força coagulante, que foi realizada conforme metodologia proposta por (Wolfshoon-Pombo, 1980). O delineamento utilizado foi em blocos casualizados (DBC).

2.2. Análises do leite, soro e queijo

Todas as determinações foram realizadas em duplicata utilizando metodologias descritas por (Brasil, 1981; A.O.A.C., 1995).

O leite de cada fabricação foi analisado em suas características físico-químicas: acidez titulável, pH, % de gordura, sólidos totais, umidade, densidade, proteína e nitrogênio total e análises microbiológicas: contagem padrão de mesófilas e psicrófilas, coliformes totais e fecais.

O soro de cada fabricação foi recolhido no ponto de enformagem da massa e analisado em suas características físico-químicas: acidez, pH, % de gordura, sólidos totais, umidade, densidade, proteína e nitrogênio total e cloreto de sódio.

Foram determinados nos queijos resultantes de cada tratamento: % de gordura, sólidos totais, pH, umidade, gordura no extrato seco, cloreto de sódio, nitrogênio total, proteína total, acidez e cloreto de sódio.

2.3. Cálculo das porcentagens de transição de gordura e proteína bruta para o queijo

Para o cálculo das cifras de transição, foram consideradas as perdas dos constituintes no soro, sendo a transição para o queijo obtida por diferença. A metodologia utilizada foi a descrita por Folegatti (1994), porém, compensando os efeitos da salga diretamente no leite.

2.4. Rendimento das fabricações

O rendimento em litros de leite por quilo de queijo (L/kg), foram calculados pela divisão do volume de leite empregado no processamento pela soma da massa dos queijos obtidos. Para cálculo das gramas de sólidos totais de queijo por litro de leite (g ST/L), foram transformados a % de sólidos totais em g ST/1000g, obtendo-se assim a massa em gramas de ST por 1 kg de queijo. Dividindo-se a massa de ST/kg de queijo pelo rendimento em litros de leite/kg de queijo, obteve-se o rendimento em g ST/L.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Composição do leite

A composição do leite utilizado nas fabricações dos queijos não apresentou diferenças ($p < 0,05$) nas análises físico-química e microbiológicas, apresentando-se dentro dos padrões preconizadas por (Brasil, 1980).

3.2. Composição dos queijos

As análises da composição foram realizadas no dia posterior à fabricação (D+1), e podem ser observadas na figura 1. Os resultados obtidos no presente trabalho foram próximos daqueles encontrados por Furtado, Souza e Munck (1980) em queijos Minas Frescal fabricados sem a utilização de culturas lácticas. Pode-se observar uma alta umidade nos queijos resultantes de todos os tratamentos, que pode ser explicada pelo elevado pH da massa quando comparada a queijos fabricados com fermento láctico. Com o pH mais elevado, a massa mantém-se mais calcificada, portanto menos porosa, facilitando a retenção de água. A alta umidade dos queijos de todos os tratamentos é também consequência da tecnologia de fabricação utilizada, que adotou o corte lento em grãos grandes, submetidos à agitação suave, visando evitar perdas de proteína e gordura no soro. O ponto foi ligeiramente mais macio, levando também a uma maior retenção de água no queijo. Na estocagem porém, com a evolução da acidez houve dessoragem após embalagem e os teores de umidade diminuíram tornando-se próximos aos preconizados para queijo Minas Frescal, que segundo os padrões do Instituto de Laticínios Cândido Tostes é de 60-63% (Vargas, 1996).

As maiores porcentagens de umidade nos queijos ($p > 0,05$) foram encontradas nos queijos fabricados com coalho bovino, seguidos dos fabricados com os coagulantes genético e microbiano (tabela 1). Os maiores teores de umidade quando do uso do coalho bovino estão de acordo com os resultados obtidos por Folegatti (1994) em queijo Prato, Disegna et al. (1991) em queijo Montasio, Broome e Hickey (1990), Corradini et al. (1990) e Van Den Berg e Koning (1990), para queijos Cheddar, Grana e Gouda respectivamente, que compararam queijos fabricados com diferentes tipos de agentes coagulantes. Porém, deve-se levar em consideração que estes autores estudaram variedades de queijos maturados, com uso de fermento láctico e salga em salmoura, o que dificulta estabelecer paralelos entre os experimentos. O efeito da umidade nos teores de sólidos totais também influenciou nos cálculos de rendimento em litros de leite/kg de queijo.

¹ Doutorandos em Ciência de Alimentos / UFLA
² Mestrando em Ciência dos Alimentos / UFLA - Orientador
³ Engenheiro de Alimentos - Indústria - Orientador

TABELA 1 - Composição dos queijos (%) Minas Frescal fabricados com coalho bovino e coagulantes microbiano e genético após 1 dia de fabricação

Determinações (%)	TRATAMENTOS		
	Bovino	Genético	Microbiano
Umidade	67,05 ^a	66,05 ^a	65,54 ^a
Sólidos Totais	32,95 ^a	33,95 ^a	34,46 ^a
Gordura	15,42 ^a	15,58 ^a	15,33 ^a
Gordura no extrato seco	46,81 ^a	45,95 ^a	44,50 ^a
Proteína bruta	17,80 ^a	18,01 ^a	17,44 ^a
Acidez (ácido láctico)	0,18 ^a	0,19 ^a	0,17 ^a
PH	6,46 ^a	6,44 ^a	6,48 ^a
Cloreto de sódio	1,79 ^b	1,93 ^{ab}	2,08 ^a

^{a,b}...médias seguidas da mesma letra não são diferentes pelo teste de Tukey (p<0,05)

Os teores médios de gordura foram superiores, mas não significativos (p>0,05) para os queijos fabricados com o coagulante genético e menores para os fabricados com coagulantes microbiano (Tabela 1). De acordo com Barbano e Rasmussen (1992) a retenção de gordura na massa é mecânica, associada à estrutura do coágulo. Sendo os coalhos bovino e microbiano mais inespecíficos, devido à menor concentração de quimosina, a ação daqueles na cadeia peptídica é mais severa, dificultando a retenção mecânica da gordura no coágulo. O teor de gordura no extrato seco não diferiu nos diferentes tratamentos.

Os teores médios de nitrogênio total e consequentemente proteína bruta (Tabela 1) nos queijos fabricados com os diferentes coalhos não apresentaram diferenças (p<0,05), porém os maiores teores absolutos foram observados nos queijos fabricados com o coagulante genético (18,01), fato esperado, devido sua maior especificidade (Fox, 1988; Harboe, 1992). Folegatti (1994) e Barbano e Rasmussen (1992), não encontraram diferenças significativas nos teores de proteína total em queijos fabricados com coalho bovino, de vitelo e genético; deve-se atentar, entretanto, que estes autores trabalharam com variedades de queijos maturados e com uso de fermento láctico. Uma melhor avaliação destes fatores poderá ser obtida na análise da transição de proteínas e rendimento, que serão discutidos posteriormente.

A acidez e pH são atributos importante na aceitabilidade de queijo Minas Frescal, sendo necessária sua relação com outros fatores como índices de proteólise e testes sensoriais, sendo fator importante para a determinação da vida de prateleira desta variedade. Os tratamentos não influenciaram na acidez titulável (ácido láctico/100g dos queijos (Tabela 1). Os teores

de ácido láctico foram semelhantes aos encontrados por Furtado, Souza e Munck (1980), porém, inferiores aos teores médios determinados por Isepon e Oliveira (1995) em queijos armazenados por 0, 6 e 12 dias, sendo que estes autores não determinaram os teores de umidade.

Os teores médios de cloreto de sódio (Tabela 1) nos queijos fabricados com os diferentes coalhos encontram-se acima dos esperados para o queijo Minas Frescal, que segundo padrões do Instituto de Laticínios Cândido Tostes são de 1,40 a 1,60% (Vargas, 1996). Estes índices são, provavelmente, consequência do alto teor de umidade e maior porção de água livre para dissolução do sal. Houve diferença significativa entre os tratamentos, sendo os queijos produzidos com o coalho microbiano os que apresentaram o maior índice (2,08%). Este resultado é importante quando relacionado com os teores de sólidos totais, pois provavelmente, tiveram influência neste índice que foi ligeiramente maior para os queijos fabricados com o coagulante microbiano (34,46%), dos que nos fabricados com coagulante genético (33,95%) e coalho bovino (32,95%), sendo que estas diferenças não foram significativas (p>0,05).

3.3. Coagulação e ponto da massa

Foram observadas diferenças no tempo de coagulação do leite pelos 3 agentes coagulantes, mesmo utilizando-se quantidades padronizadas dos coalhos baseados em sua atividade. O coalho que apresentou maior tempo de coagulação foi o genético (Tabela 2), o que discorda dos resultados obtidos por Medina et al. (1991) em queijos Burgo e Hispânico e Nunez et al. (1991) em queijo Manchego, onde os autores obtiveram os menores tempos de coagulação

utilizando o coalho genético Todavía Van Den Berg e Koning (1990), comparando os tempos de coagulação do leite por coalho genético (*Kluyveromyces lactis*). e de vitelo em queijo Gouda encontraram tempos ligeiramente mais altos de coagulação para o genético. O maior tempo de coagulação quando do uso do coalho genético pode ser explicado: todos os experimentos realizados para comparação da atividade do coagulante genético com outros agentes coagulantes têm sido conduzidos em queijos que utilizam fermento láctico e salga em salmoura. No presente trabalho utilizou-se a salga diretamente no leite antes da adição do coalho. Cloreto de sódio é sem dúvida, um fator inibidor da coagulação enzimática pela quimosina, já que possui influência na estrutura primária da k-caseína (Dalgleish, 1987). Sendo o coalho bovino composto de 20% de quimosina e 80% de pepsina, o microbiano composto de proteases inespecíficas diferentes capazes de induzir à coagulação do leite de forma semelhante à renina e o genético contendo 100% de quimosina, é de se esperar um maior efeito do sal sobre o terceiro. Avaliando o efeito do

NaCl na coagulação do leite, Fox (1988), afirma que concentrações maiores que 3 mN inibem a coagulação pela quimosina, já que influencia significativamente nas interações eletrostáticas necessárias para a formação do complexo quimosina-substrato. A adição de 2% de cloreto de sódio ao leite corresponde a uma concentração de 0,35 mN e portanto, capaz de influenciar negativamente a coagulação do leite pela quimosina.

O ponto de enformagem do queijo foi obtido por meios subjetivos, variando de 30 a 40 minutos nas diferentes fabricações, como exemplificado na Tabela 2. As variações são decorrentes provavelmente, da menor eficiência do coalho genético na coagulação do leite, devido a presença de sal no leite. Além disso, devido ao fato do ponto ser verificado por meios subjetivos e o pequeno número de repetições, estes resultados não devem ser considerados como definitivos. Um maior tempo de fabricação é esperado com o uso de ácido láctico, já que a acidez do coágulo é menor que em queijos obtidos com uso de fermento láctico. Com menor

TABELA 2 - Tempos médios* em minutos para coagulação do leite pelo coalho bovino e coagulantes genético e microbiano

Tipo de agente coagulante	Tempo médio coagulação (min.)	Tempo médio até enformagem (min.)
Genético	54,67 ^a	54,67 ^a
Bovino	40,00 ^b	40,00 ^b
Microbiano	36,67 ^b	36,67 ^b

* médias obtidas de 3 observações

^{a,b} ... os resultados são diferentes pelo teste de Tukey (p<0,05)

TABELA 3- Transição dos componentes do leite para o queijo e rendimentos das fabricações nos tratamentos com coalho bovino e coagulantes genético e microbiano.

DETERMINAÇÕES	TRATAMENTOS		
	Bovino	Genético	Microbiano
Transição da gordura (%)	89,44 ^a	89,03 ^a	91,10 ^a
Transição de ST (%)	52,27 ^a	51,80 ^a	53,47 ^a
Transição proteínas (%)	73,64 ^a	72,88 ^b	72,93 ^b
Rendimento (L/Kg)	5,05 ^b	5,47 ^a	5,25 ^{ab}
Rendimento (GsT/L)	65,30 ^a	62,02 ^a	65,63 ^a

* médias de 3 repetições

^{a,b} ... os resultados são diferentes pelo teste de Tukey (p<0,05)

quantidade de ácido retido nos grãos, a expulsão do soro é mais lenta, tendendo a reter maior umidade (Munck e Souza, 1980). Diversos autores que estudaram o tempo de fabricação de queijos utilizando diferentes tipos de coagulantes, obtiveram tempos ligeiramente menores quando utilizaram coalho de vitelo e genético em comparação com outros agentes (Broome e Hickey, 1990; Medina et al., 1992; Nunez et al., 1992). Todavia, todos estes estudos foram realizados em queijos que não utilizam salga direta no leite, além de serem variedades maturadas com uso de fermento láctico, tornando difícil a correlação.

3.4. Transição dos constituintes para o queijo e rendimento

A Tabela 3 apresenta as porcentagens de transição de gordura, sólidos totais e proteínas do leite para o queijo, assim como, os rendimentos de fabricação em litros de leite por quilo de queijo (L/kg) e em gramas de sólidos totais de queijo por litro de leite (gST/L), nos diferentes tratamentos

A transição de gordura e sólidos totais do leite para o queijo nos diferentes tratamentos não diferiram estatisticamente ($p < 0,05$); porém os valores absolutos foram ligeiramente maiores para os queijos fabricados com o coalho microbiano, seguidos pelos tratamentos com coalho bovino e genético. Os resultados obtidos para transição da gordura em todos os tratamentos foram superiores aos encontrados por Wolfschoon-Pombo, Furtado e Munck (1978) em queijos Minas Frescal fabricados com fermento e ácido láctico, os autores encontraram valores similares para a transição de sólidos totais. Os teores de transição médios de proteína encontrados nos queijos fabricados com ácido láctico (82,2%), foram superiores aos encontrados no presente trabalho em todos os tratamentos, porém, os cálculos foram realizados baseando-se nos teores de caseína e não proteína bruta, o que justifica a diferença encontrada.

A transição de proteína e o rendimento em litros de leite por quilo de queijo apresentaram diferenças ($p < 0,05$), sendo a menor transição e rendimento encontrados quando do uso do coalho genético. No cálculo de rendimento em gramas de sólidos totais por litro de leite não houve diferença entre os tratamentos. Estes resultados discordam dos encontrados por vários autores: Folegatti (1994), Banks (1992), Barbano e Rasmussen (1992), Broome e Hickey (1990), que analisando diversas variedades de queijos não encontraram diferenças no rendimento e transição em fabricações, comparando o uso de coalho genético e de vitelo. Os valores encontrados pelos autores para o coagulante genético foram ligeiramente superiores quando comparados com o coalho bovino; todavia, quando comparadas com o coalho microbiano, a diferença não foi significativa ($p > 0,05$).

são queijos maturados e a literatura não oferece consulta de nenhuma variedade de queijo fresco sem adição de fermento láctico e com salga direta no leite. O aumento no tempo de coagulação do leite devido a presença de sal e a menor umidade nos queijos Minas Frescal fabricados com o coalho genético provavelmente influenciaram na diminuição do rendimento. Além disso, os resultados expressos em litros de leite por quilo de queijo desconsideram a umidade, sendo que não indicam necessariamente, um melhor aproveitamento dos componentes sólidos.

A influência das enzimas coagulantes no rendimento dos queijos ainda não está completamente esclarecida (Folegatti, 1994). A qualidade do leite, equipamentos e variações na tecnologia de fabricação influenciam decisivamente no rendimento, que somados à dificuldade de precisão em pesagens de grandes quantidades, comprometem a exatidão das determinações, sendo difícil afirmar que pequenas variações no rendimento sejam diferenças efetivas que tragam consequências práticas.

4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos através da avaliação do uso do coalhos bovino e coagulantes microbiano e genético em queijos Minas Frescal e fabricados com salga direta no leite e uso de ácido láctico permitem concluir:

1. A composição dos queijos foi influenciada pelos diferentes tratamentos adotados ($p > 0,05$). O uso do coagulante genético resultou em queijos com menor umidade e maiores teores de gordura, proteína e sólidos totais, sendo que a gordura no extrato seco não foi diferente em nenhum dos tratamentos. Os queijos elaborados com o coalho bovino obteve os maiores índices de umidade e cloreto de sódio.
2. O tempo de fabricação ($p < 0,05$) foi maior com o uso do coagulante genético e menor para o microbiano. O maior tempo de coagulação para o coagulante genético é provavelmente consequência da salga no leite que altera a estrutura primária da caseína, prejudicando a fase primária da coagulação pela quimosina, enzima predominante neste coalho.
3. Os maiores rendimentos de fabricação em L/kg foram observados nos queijos com o uso do coalho bovino, porém, quando o rendimento foi avaliado levando-se em consideração a composição do queijo, o maior índice (gST/L) foi observado nos queijos fabricados com o coalho microbiano, a diferença não foi significativa ($p > 0,05$).

ABSTRACT

Fresh "Minas" Cheese were manufactured utilizing salt direct in milk and lactic acid substituting the use of starter. Microbial (*Mucor miehei*), genetic (*Aspergillus niger* var. *awamori*) or bovine rennets were tested in the composition of the cheese, yield and time of fabrication. Butter and protein increase and lower levels of moisture with in use the genetic rennet, however, in terms of butter in solid matter were not found. More time was required when using genetic rennet ($p < 0,05$), probably due the influence of use the salt direct in milk. Yield in terms of liters of milk per kilogram of cheese (L/kg), increased with the use of the bovine rennet, however, when the composition of the cheese was taken into consideration, productivity, in terms of total grams fo solid matter per liter of milk (gST/L), the microbial rennet was found to be superior ($p > 0,05$).

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 12. ed. Washington, 1995. 1094p.
- BANKS, J.M.; BANKS, W.; MUIR, D.D.; WILSON, A.G. Cheese yield: composition does matter. **Dairy Industrial Internacional**, London, v.46, n.5, p.15-22, May. 1981.
- BANKS, J.M. Yield and quality of Cheddar cheese produced using a fermentation-derived calf chymosin. **Milchwissenschaft**, Cork, v.47, n.3, p.153-156, 1992.
- BARBANO, D.H.; RASMUSSEN, R.R. Cheese yield performance of fermentation-produced chymosin and other milk coagulants. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.75, n.1, p.1-2, Jan. 1992.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal-RIISPOA**. Brasília, 1980. 116 p.
- BRASIL. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes**. II. Métodos físicos e químicos. Brasília, 1981a.
- BRASIL. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal.

Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. I. Métodos microbiológicos. Brasília, 1981b.

- BROOME, M.C.; HICHEY, M.W. Comparison of fermentation produced chymosin and calf rennet in cheddar cheese. **Australian Journal of Dairy Technology**, Highett, p.53-59, Nov. 1990.
- CORRADINI, C.; BOTTAZZI, V.; REMINI, P.; HOGENBOON, J.A.; PAZZAGLIA, C.; LODI, R.; CARINI, S.; RAMPILLI, M. Formaggio grana com chimosina do *Kluyveromyces lactis* (Maxiren). **Il Latte**, v.15, p.860-865, ott. 1990.
- DALGLEISH, D.G. The enzymatic coagulation of milk. In: FOX, P.F. **Cheese: chemistry physics and microbiology**. London: AVI Publishing Co., 1987. v.1, Cap.3, p.71-87, 1987.
- DISEGNA, L.; TEALDO, E.; LODDO, A.; SCULLO, G.; ANTONELLO, F.; GIACON, D.; FELLIN, A. Impiego di chimosina B de *Kluyveromyces lactis* nello tecnologia indicativa del Montasio. **Il Latte**, p.480-490, mag. 1991.
- FOLEGATTI, M.L.S. **Avaliação do uso de quimosina produzida por *Aspergillus niger* var. *awamori* na fabricação de queijo tipo Prato**. Campinas: UNICAMP, 1994. 65p. (Tese-Mestrado em Engenharia dos Alimentos).
- FOX, P.F. Rennets and their action in cheese manufacture and ripening: review. **Biochemistry and Applied Biochemistry**, v.10, p.522-535, July 1988.
- FOX, P.F.; LAW, J. Enzymology of cheese Ripening. **Food Biotechnology**, v.5, n.3, p.239-262, 1991.
- FURTADO, M.M.; SOUZA, H.M.; MUNCK, A.V. A fabricação do queijo Minas Frescal sem o emprego de culturas lácticas. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.35, n.207, p.15-21, jan./fev. 1980.
- HARBOE, M.K. Chymogen, a chymosin rennet manufactured by fermentation of *Aspergillus niger*. **Bulletin of IDF**, n. 269, p.3-7, 1992.
- ISEPON, J.S.; OLIVEIRA, J.A. Variação do índice de proteólise e aceitabilidade do queijo tipo Minas Frescal. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATÍCIÑIOS, 13, Juiz de Fora, 1995. **Anais...** Juiz de Fora: EPAMIG/ILCT, 1995. p.287-290.

KAMMERLHNER, J. Rennet cheese yield. *Deutsche-Milchwirtschaft*, v.45, n.3, p.118-125, 1994.

KOSIKOWSKI, F. *Cheese and fermented milk foods*. 2.ed. An Arbor: Edwards, 1977. 711p.

MEDINA, M.; GAYA, P.; GUILLEN, A.M.; NUNUZ, M. Characteristics of Burgos and Hispanico cheeses manufactured with calf rennet or with recombinant chymosin. *Food Chemistry*, Oxford, v.45, p.85-89, 1992.

MUNCK, A.A.; SOUZA, H.M. Estudo conclusivo a respeito da fabricação do queijo Minas Frescal por diferentes processos. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v.35, n.208, p.13-16, mar./abr. 1980.

NUNEZ, M.; MEDINA, M.; GAYA, P.; GUILLEN, A.M.; RODRIGUEZ-MARIN, M.A. Effect of recombinant chymosin on ewes' milk coagulation

and Manchego cheese characteristics. *Journal of Dairy Research*, London, v. 59, n.1, p.81-87, Feb. 1992.

VAN DEN BERG, C.; KONING, P.J. Gouda cheesemaking with purified calf chymosin and microbially produced chymosin. *Netherlands and Milk Dairy Journal*, Wageningen, v.44, p.189-205, 1990.

WOLFSCHOON-POMBO, A.F.; FURTADO, M.M.; MUNCK, A.V. Estudo da fabricação do queijo Minas Frescal com ácido láctico em substituição ao fermento láctico. CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 5, Juiz de Fora, 1982. *Anais...*, Juiz de Fora: EPAMIG/ILCT, 1978. p.160-182.

WOLFSHOON-POMBO, A.F. Sobre a determinação da força do coalho. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v.35, n.207-212, p.33-34, mar./abr. 1980.



principal matéria-prima da pesquisa é o talento e o profissionalismo do recurso humano.

A pesquisa exige tratamento refinado em todas as suas fases de execução.

É por isso que a EPAMIG mantém pesquisadores e técnicos especializados em diferentes áreas, concentrados nos centros tecnológicos, fazendas e campos experimentais, e também junto às universidades.

Em busca de soluções tecnológicas demandadas pelo estado de Minas Gerais, a EPAMIG executa atividades de difusão e proteção ao meio ambiente, desenvolve produtos de valor sócio-econômico e dá suporte técnico-científico a todas as atividades do complexo agrícola.

UTILIZAÇÃO DO COALHO BOVINO E COAGULANTES MICROBIANO E GENÉTICO NA PROTEÓLISE E DURABILIDADE QUEIJO MINAS FRESCAL¹

Daise Aparecida Rossi¹
Luiz Ronaldo de Abreu²
Múcio Mansur Furtado³
Celso José de Moura¹
Fernando A. R. Magalhães⁴

RESUMO

Queijos Minas Frescal foram elaborados com uso de ácido láctico e salga direta no leite utilizando coalho bovino e coagulantes microbianos (*Mucor miehei*) e genético (*Aspergillus niger var. awamori*) para coagulação do leite. Os queijos foram armazenados por 1, 8, 15, 22 e 29 dias. Foram determinados acidez, pH, índices de extensão da maturação, aminoácidos tirosina e triptofan, além de realização de testes sensoriais. Acidez, índice de extensão da maturação e tirosina e triptofano aumentaram gradualmente com o armazenamento (p<0.05), porém só diferiram para os 3 agentes coagulantes testados nos teores de tirosina, sendo o queijo elaborado com o coalho genético o que apresentou o maior resultado médio (22,66mg/100g). A vida de prateleira foi avaliada através de um teste de aceitação; todos os escores foram decaindo com o armazenamento, demonstrando manutenção das características organolépticas até 8 dias de armazenamento, com exceção dos queijos fabricados com o coagulante microbiano que demonstraram serem aceitáveis até 15 dias. A análise descritiva quantitativa não demonstrou diferenças entre os tratamentos para os atributos cor, gosto amargo e acidez.

1. INTRODUÇÃO

Sob o ponto de vista tecnológico, o queijo Minas Frescal é um produto de fácil elaboração e de elevado rendimento; entretanto, por ser um queijo fresco e de alta umidade, os fenômenos bioquímicos de proteólise causam alterações no seu corpo, amarelamento da casca e sabor acentuadamente ácido, o que torna o produto inaceitável para o consumidor (Wolfshoon-Pombo et al., 1984). Um dos grandes problemas referentes a este tipo de queijo, é sua pequena durabilidade. Modificações na tecnologia de fabricação têm sido adotadas para minorar estes problemas, como também aumentar seu rendimento. O uso de leite pasteurizado, adição de fermento láctico, emprego do ácido láctico, utilização de prensagem, ultrafiltração, entre outras, foram as inovações mais bem sucedidas.

Segundo Fox e Law (1991), vários fatores interferem na proteólise dos queijos, sendo que os principais seriam as enzimas provenientes de bactérias, lácticas ou não, e as enzimas do coalho, possuindo o agente coagulante importante papel na degradação protéica. Algumas enzimas dos agentes

coagulantes são mais proteolíticas do que outras, dependendo da sua composição enzimática e especificidade, sendo este fator dependente da fonte de produção. A grande maioria dos coalhos utilizados na indústria queijeira do Brasil são produzidos à partir do abomaso de bovinos adultos e apresentam em média 80% de pepsina bovina e 20% de quimosina (Retil, Sguedoni e Juliano, 1992). A pepsina bovina é uma enzima mais proteolítica e menos específica que a quimosina, e em condições favoráveis pode hidrolisar excessivamente as caseínas, podendo causar diminuição no rendimento, sabor amargo e aumento na proteólise geral (Visser, 1981). O aumento na proteólise acarreta diminuição na vida de prateleira de queijos frescos.

Tradicionalmente, o coalho de vitelo é considerado o ideal para a fabricação de queijos, porém, na produção do queijo Minas Frescal, seu uso é insipiente, sendo mais utilizados os coalhos bovinos e microbianos. De acordo com Fox e Law (1991), o uso destes coagulantes em detrimento da utilização do coalho de vitelo, muitas vezes acarreta problemas tecnológicos, como redução no rendimento e defeitos no sabor e aroma dos queijos.

¹ Doutorandos em Ciência de Alimentos / UFLA

² Orientador - Professor DCA/UFLA

³ Chr. Hansen Ind. e Com. Ltda - Co-Orientador

⁴ Professor DTA/ILCT

Recentemente técnicas avançadas de engenharia genética tem permitido a produção de um coalho composto de 100% de quimosina; este coalho é obtido através da fermentação por microrganismos transgênicos (Barbano e Rasmussen, 1992). No Brasil sua aplicação na indústria queijeira bem como pesquisas no setor, são ainda isoladas e insuficientes.

Levando-se em conta a importância do queijo Minas Frescal para a indústria brasileira, justifica-se a comparação da utilização dos principais tipos de coalhos presentes no mercado e sua influência na proteólise e vida de prateleira desta variedade de queijo. Desta forma, o presente trabalho possui como objetivos comparar os efeitos do uso dos coalho bovino e coagulantes genético (obtido por fermentação do *Aspergillus niger* var. *awamori*) e microbiano (*Mucor miehei*), na proteólise, vida de prateleira e características sensoriais do queijo Minas Frescal.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram fabricados queijos Minas Frescal em 3 repetições consecutivas, utilizando-se para coagulação do leite coalho bovino e coagulantes microbiano e genético. Os queijos foram armazenados a $\pm 12^\circ\text{C}$ e analisados após 1, 8, 15, 22 e 29 dias. O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados (DBC) em estrutura fatorial 3 (agentes coagulantes) x 5 (tempo de armazenamento). Para cada fabricação foram utilizados 100 kg de leite tipo "C" pasteurizado e padronizado para cerca de 3% de gordura. A tecnologia de fabricação empregada foi a tradicional, acrescida das modificações sugeridas por Wolfshoon-Pombo, Furtado e Munck (1978), que utiliza salga direta no leite (2kg/100kg de leite) e substitui o fermento láctico por ácido láctico. A quantidade do agente coagulante foi determinada em função de sua força coagulante (Wolfshoon-Pombo, 1980).

2.1. Análises do leite

O leite de cada fabricação foi analisado em suas características físico-químicas: acidez titulável, pH, gordura, densidade (Brasil, 1981); sólidos totais, umidade (A.O.A.C., 1995); nitrogênio e proteína total (Kosikowski, 1977); nitrogênio solúvel em T.C.A. 12% (Gripone et al., 1975). As análises microbiológicas de contagem padrão de mesófilas e psicrófilas e número mais provável de coliformes totais e fecais foram executadas de acordo com (Brasil, 1981).

2.2. Análise dos queijos

Os queijos resultantes de todas os tratamentos foram amostrados conforme norma

FIL-IDF 50A, 1982 (Wolfshoon-Pombo et al., 1983). Todas as determinação foram realizadas em duplicata.

As análises de pH e acidez foram realizadas de acordo com (Brasil, 1981). As análises de nitrogênio solúvel a pH 4,6 foram realizadas conforme descrito por Gripone et al. (1985) e os cálculos para determinação da extensão da maturação foram realizados conforme proposto por (Wolfshoon-Pombo e Lima, 1989). Para determinação dos aminoácidos tirosina e triptofano, a metodologia utilizada foi a descrita por (Vakarelis e Price, 1959).

2.3. Análise sensorial

A avaliação sensorial foi realizada através de um teste de aceitação, utilizando-se fichas de resposta com escala hedônica estruturada de 9 pontos. Os testes foram realizados, apresentando-se as amostras na forma de cubos, em pratos devidamente codificados e à temperatura ambiente, para consumidores potenciais, sendo que cada tratamento foi avaliado por cerca de 90 provadores. Além do teste de preferência, para uma melhor avaliação de características isoladas, foi aplicado o teste quantitativo descritivo de perfil modificado, que fornece um meio sistemático definido de se avaliar o nível de qualidade do produto, refletindo a importância comparativa dos diversos termos que devem ser levados em consideração (Chaves, 1990). As características avaliadas foram coloração da casca, acidez e gosto amargo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Análise do leite

3.1.1. Composição do leite

A composição do leite utilizado nas fabricações dos queijos não apresentaram diferenças ($p < 0,05$) nas análises físico-química e microbiológicas, apresentando-se dentro dos padrões preconizadas por (Brasil, 1980).

3.2. Análise dos queijos

A composição dos queijos com 1 dia de fabricação pode ser observada na Tabela 1. A acidez e pH de queijos são atributos importante na aceitabilidade de queijo Minas Frescal, sendo necessária sua relação com outros fatores como índices de proteólise e testes sensoriais. O armazenamento influenciou na acidez dos queijos, já que o queijo Minas Frescal possui quantidade suficiente de lactose necessária para produção de ácido láctico; os índices aumentaram gradualmente durante o armazenamento (Figura 1) e podem ser calculados nos diferentes períodos através da equação de regressão, como demonstrado na Figura 2.

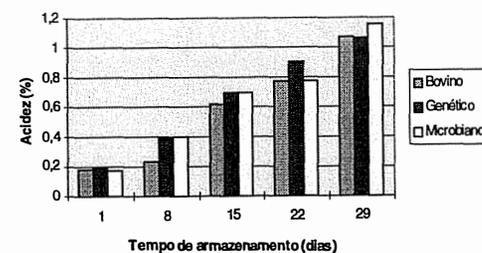


FIGURA 1-Variações na acidez em ácido láctico (%) durante armazenamento dos queijos Minas Frescal fabricados com coalho bovino e coagulantes genético e microbiano.

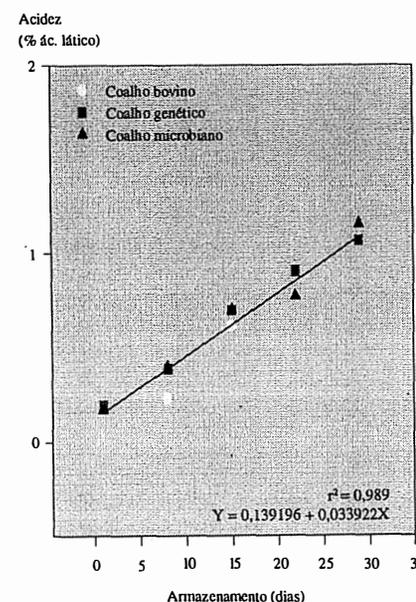


FIGURA 2 - Gráfico de regressão evidenciando as variações na acidez em ácido láctico dos queijos Minas Frescal nos diferentes períodos de armazenamento.

Os teores de ácido láctico nos diferentes períodos de armazenamento foram semelhantes aos encontrados por Furtado, Souza e Munck (1980), com 1 e 6 dias de armazenamento, porém inferiores aos teores médios determinados por Isepon e Oliveira (1995) em queijos armazenados por 0, 6 e 12 dias, sendo que estes autores não detem os teores de umidade. Os resultados obtidos para pH para os queijos fabricados com os diferentes agentes coagulantes nos diferentes períodos de armazenamento pode ser observado na tabela 2.

Os valores de pH diminuíram progressivamente até os 29 dias de armazenamento tendendo à estabilização, provavelmente pela diminuição da quantidade residual da lactose, sendo que o maior valor individual encontrado foi para o tratamento com o coalho microbiano e estocagem por 1 dia (6,48) e o menor para o queijo fabricado com coalho bovino com 29 dias de estocagem (5,01). O cálculo dos valores de pH em diferentes períodos de armazenamento podem ser realizados através da regressão (Figura 3).

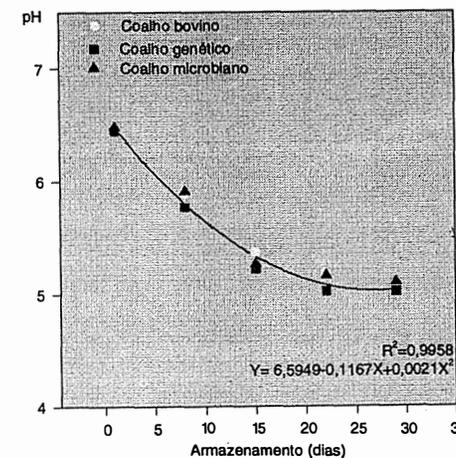


FIGURA 3 - Gráfico de regressão evidenciando as variações no pH dos queijos Minas Frescal nos diferentes períodos de armazenamento.

TABELA 2 - Evolução no pH dos queijos Minas Frescal fabricados com coalho bovino e coagulantes genético e microbiano e armazenados por 1, 8, 15, 22 e 29 dias.

Tipo de coalho	Armazenamento (dias)				
	1	8	15	22	29
Bovino	6,46 a	5,89 a	5,37 a	5,18 a	5,01 a
Genético	6,44 a	5,77 a	5,22 a	5,02 a	5,02 a
Microbiano	6,48 a	5,91 a	5,26 a	5,16 a	5,10 a

a,b...médias de 3 repetições são diferentes ($p < 0,05$)

3.3. Análises para acompanhamento da proteólise

3.3.1 Índice de extensão da maturação

O índice de extensão da maturação corresponde à quantidade de nitrogênio solúvel em pH 4,6, representados principalmente por peptídios de baixo e médio peso molecular, produzidos basicamente, pela ação das enzimas do coalho e acumulados durante a maturação ou estocagem (Farkey e Fox, 1990). Como esperado, os resultados obtidos para este índice foram significativos para o armazenamento, aumentando gradualmente. Períodos intermediários podem ser estimados pela equação de regressão como ilustrado na Figura 4.

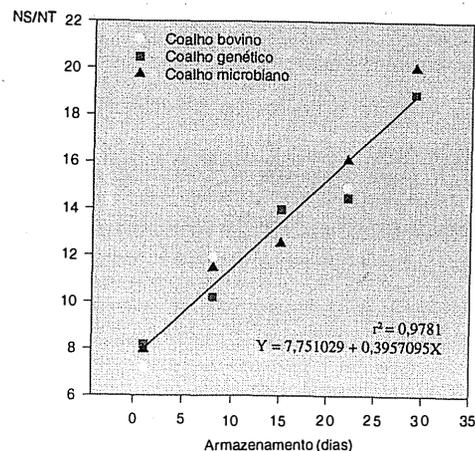


FIGURA 4 - Gráfico de regressão evidenciando as variações nos índices de extensão dos queijos Minas Frescal nos diferentes períodos de armazenamento.

Todas as determinações foram ligeiramente superiores às encontradas por Isepon e Oliveira (1995), em queijo Minas Frescal com acidificação direta e uso de coalho bovino estocado por até 12 dias, onde os autores encontraram valores médios de 6,87% para este período e concluíram que o tempo de armazenamento sob refrigeração não deve exceder 6 dias com valores médios de 5,19%. Wolfschoon-Pombo et al. (1984), estudaram as variações em queijos Minas Frescal durante o armazenamento por até 14 dias e encontraram resultados similares aos obtidos no presente trabalho, porém, em temperaturas de armazenamento mais baixas (6°C). Os autores estabeleceram 7 dias após a fabricação como o período máximo para comercialização, para que as características organolépticas fossem preservadas. O fator coalho a variação média dos

índices médios de extensão não foram significativamente diferentes ($p < 0,05$), porém, as variações nos teores podem ser importantes para comparação com os testes sensoriais e outros índices de proteólise; os resultados estão ilustrados na Figura 5.

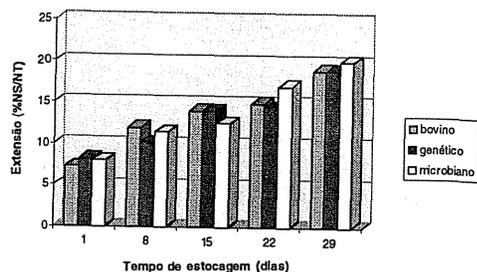


FIGURA 5 - Evolução dos índices de extensão nos queijos Minas Frescal fabricados com coalho bovino e coagulantes genético e microbiano durante o armazenamento.

Os queijos fabricados com o coalho bovino obtiveram os menores índices de extensão da maturação com 1 dia de estocagem (7,20%); foram, porém, os que apresentaram os maiores índices entre 8 e 15 dias (13,96% e 14,89% respectivamente), provavelmente pelo favorecimento da ação da pepsina em pH mais baixos. O pH mais alto no início da estocagem (média de 6,46%) tende a prejudicar a ação da pepsina, mas não da quimosina, que atua em uma faixa mais ampla de pH Fox (1988), o que pode explicar a diferença no comportamento dos diferentes coagulantes e justificaria o fato dos queijos fabricados com o coalho genético apresentarem os maiores valores de extensão no primeiro dia (8,20%), serem em média inferiores durante o decorrer da estocagem. Os queijos fabricados com o coalho microbiano apresentaram valores mais elevados que os outros nas fases finais de estocagem, 16,08 e 20,02 respectivamente para 22 e 29 dias de armazenamento; este coagulante possui maior atividade enzimática não específica, e portanto, potencialmente mais proteolítico e capaz de aumentar os índices de extensão. A importância destes índices torna-se ainda mais acentuada quando se observa a hipótese formulada por Yvon et al. (1989), de que a principal característica correlacionada com a solubilização proteica é o aumento da hidrofobicidade superficial acessível dos peptídeos, que está relacionada com o sabor amargo em queijos, podendo tornar o produto menos aceitável ao consumidor. Para melhor avaliar os valores dos índices de extensão, deve-se analisá-los conjuntamente com os aminoácidos tirosina e triptofano e testes sensoriais.

3.3.2 Índices dos aminoácidos tirosina e triptofano

A determinação espectrofotométrica dos aminoácidos tirosina e triptofano em amostras de queijos previamente solubilizadas em pH 4,6, têm sido tradicionalmente utilizada para avaliar a proteólise em queijos (Fox, 1989). Os teores de tirosina foram significativamente diferentes para os tipos de coalho e tempo de armazenamento ($p < 0,05$), seguindo a mesma tendência do índice de extensão da maturação. Os índices aumentaram gradativamente com o armazenamento, sendo que no dia posterior à fabricação o aminoácido não foi detectado pela análise. O comportamento do aminoácido durante o armazenamento pode ser observado na Figura 6.

A influência dos tipos de coalhos nos índices de tirosina não foram diferentes ($p < 0,05$), sendo que em todos os períodos de armazenamento, os maiores teores foram observados nos queijos fabricados com o coalho genético. Observa-se que em números absolutos a diferença foi pequena entre os tratamentos (Tabela 3). Os resultados médios obtidos no presente trabalho são semelhantes aos encontrados por Isepon e Oliveira (1995), que compararam queijos Minas Frescal obtidos com coalho bovino, culturas lácticas e ácido láctico armazenados por até 12 dias e obtiveram índices médios de 12,27 mg/1000g em queijos fabricados com o uso de ácido láctico e salga direta no leite. Os maiores teores de tirosina nos queijos fabricados com o coalho genético são diferentes dos resultados obtidos por Folegatti (1994) em queijo tipo Prato, onde utilizando coalhos bovino, genético e de vitelo não encontrou diferenças significativas. Porém aquele estudo foi realizado em queijos maturados por até 60 dias e com uso de fermento láctico dificultando a comparação. Os resultados obtidos nos testes objetivos de mensuração da proteólise devem ser analisados conjuntamente com a análise sensorial.

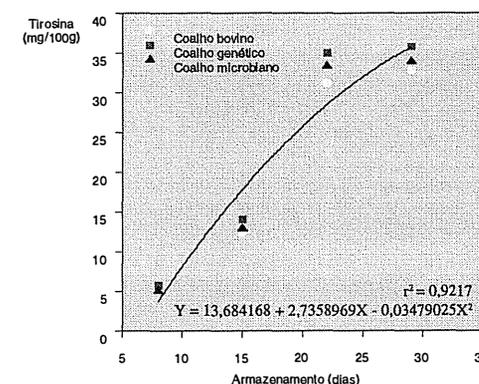


FIGURA 6 - Gráfico de regressão evidenciando as variações nos índices do aminoácido tirosina dos queijos Minas Frescal nos diferentes períodos de armazenamento.

Os valores do aminoácido triptofano não foram diferentes estatisticamente quando foram utilizados os diferentes coalhos, porém foram significativos para os períodos de estocagem. A evolução nos índices durante a estocagem pode ser observada na Figura 7.

Os resultados obtidos para triptofano (Tabela 4) foram menores que os de tirosina, concordando com os resultados obtidos por Marcos et al. (1979), que observaram em queijos europeus um conteúdo mais elevado de tirosina que de triptofano em todas as variedades, exceto para o queijo Domiati. Pela pequena variação observada nos índices durante a estocagem, mesmo sendo significativos ($p > 0,05$), torna-se difícil estabelecer índices máximos para proteólise que tornariam o produto inaceitável para o consumidor e diferenças mínimas podem ser estatisticamente significativas levando a interpretações errôneas. Devido ao fato do queijo Minas Frescal não ser maturado, provavelmente o aminoácido triptofano não é um método adequado para avaliação da proteólise nesta variedade.

TABELA 3 - Resultados médios dos índices (mg/100g de queijo) de tirosina nos queijos Minas Frescal durante o armazenamento a 12±1°C.

Tipo de coalho	Armazenamento (dias)			
	8	15	22	29
Bovino	5,15 a	12,30 a	31,13 a	32,65 a
Genético	5,77 a	14,12 a	35,00 a	35,76 a
Microbiano	5,05 a	12,90 a	33,23 a	33,83 a

a,b...média de 3 repetições são diferentes em cada período ($p < 0,05$)

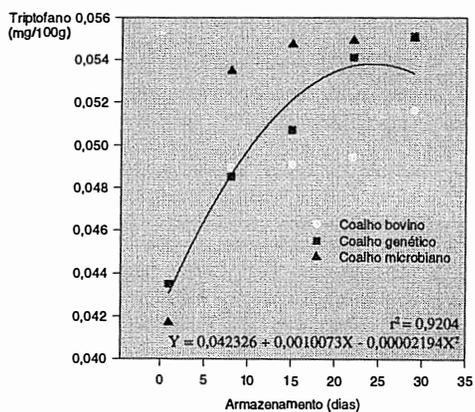


FIGURA 7 - Gráfico de regressão evidenciando as variações nos índices do aminoácido triptofano dos queijos Minas Frescal nos diferentes períodos de armazenamento.

3.4 Análise sensorial

3.4.1 Teste de aceitação

A Tabela 5 mostra as médias obtidas para os queijos elaborados com diferentes tipos de coalhos durante a estocagem. Como os tratamentos (amostras), são do tipo qualitativo e se mostraram significativos na análise de variância, os escores médios foram avaliados utilizando um teste de comparação de médias "a posteriori", como o teste de Tukey.

A amostra que apresentou a melhor pontuação foi do queijo obtido com coalho bovino com 1 dia de estocagem. Todos os queijos avaliados após estocagem por 22 dias obtiveram escores menores que 5,0 (indiferente), sendo rejeitados pelos consumidores potenciais.

Considerando-se média acima de 5,5 (indiferente), como limite para oferta do queijo no mercado, somente o queijo fabricado com o coalho microbiano ainda estaria próprio para o consumo

TABELA 4 - Evolução dos índices do aminoácido triptofano no queijo Minas Frescal durante estocagem a 12°C

Tipo de coalho	Armazenamento (dias)				
	1	8	15	22	29
Bovino	0,04180 ^a	0,04893 ^a	0,0491 ^a	0,04943 ^a	0,05160 ^a
Genético	0,04350 ^a	0,04853 ^a	0,0507 ^a	0,05413 ^a	0,0551 ^a
Microbiano	0,04170 ^a	0,05347 ^a	0,0547 ^a	0,05490 ^a	0,05503 ^a

a,b...média de 3 repetições são diferentes em cada período (p<0,05)

TABELA 5 - Notas médias* obtidas no teste de aceitação para os diferentes agentes coagulantes nos diferentes períodos de armazenamento.

Tipo de coalho	Armazenamento	N° de dados*	Média
Bovino	1 dia	93	7,0 a
Genético	1 dia	96	6,9 ab
Microbiano	1 dia	95	6,6 abc
Microbiano	7 dias	89	6,6 abc
Microbiano	14 dias	90	6,0 abcd
Bovino	7 dias	90	5,9 bcd
Genético	7 dias	89	5,6 cde
Bovino	14 dias	91	5,5 de
Genético	14 dias	91	5,1 def
Microbiano	21 dias	91	4,7 efg
Bovino	21 dias	94	4,3 fg
Genético	21 dias	99	3,9 g
Microbiano	28 dias	94	2,9 h
Genético	28 dias	94	2,8 h
Bovino	28 dias	90	2,7 h

*valores da amostra

EPAMIG - guia pela mesma letra na coluna, não diferem entre si (p<0,05).

com 14 dias, sendo que os queijos fabricados com coalho genético e bovino só seriam aprovados até 8 dias de estocagem, concordando com os resultados obtidos por Isepon e Oliveira (1995), que estudaram queijo tipo Minas Frescal fabricados com fermento e ácido láctico, e encontraram prazo máximo de manutenção das características sensoriais com 6 dias.

3.4.2 Análise Descritiva Quantitativa

A análise descritiva quantitativa foi realizada utilizando um teste de perfil modificado para os atributos cor, gosto amargo e acidez, que são importantes na avaliação da qualidade do queijo tipo Minas Frescal. A influência do tipo de coalho não foi significativa (p>0,05), para o atributo cor, porém o tempo de armazenamento influenciou significativamente. Os resultados obtidos estão ilustrados na figura 8. O atributo cor parece não ser limitante para a aceitação dos queijos até 15 dias de estocagem, onde o escore máximo obtido foi 2,61 para os queijos fabricados com o coagulante genético.

Para o atributo gosto amargo as diferenças só foram significativas (p>0,05) para o fator armazenamento, sendo que os escores foram aumentando gradualmente com a estocagem como ilustrado na figura 9. Os menores escores obtidos para os queijos fabricados com o coagulante microbiano armazenados por 15 dias quando comparado com os outros tratamentos no mesmo período, coincidem com a maior aceitação neste período e com os menores índices de extensão.

Para o atributo acidez as diferenças também só foram significativas para o armazenamento, não tendo sido influenciada pelo tipo de coalho. Os escores obtidos no teste sensorial aumentaram gradualmente e não apresentaram relação estreita com o teor de acidez em ácido láctico, provavelmente porque outras características como gosto amargo e teor de sal mascararam a percepção dos provadores. Os resultados obtidos podem ser observados na Figura 10.

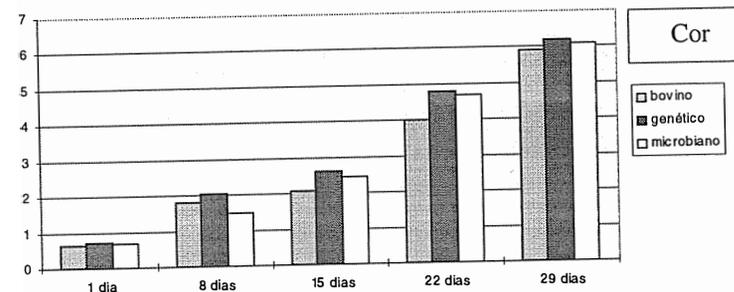


FIGURA 8 - Resultados da avaliação sensorial ao atributo cor em queijos Minas Frescal fabricados com coalho bovino e coagulantes genético e microbiano.

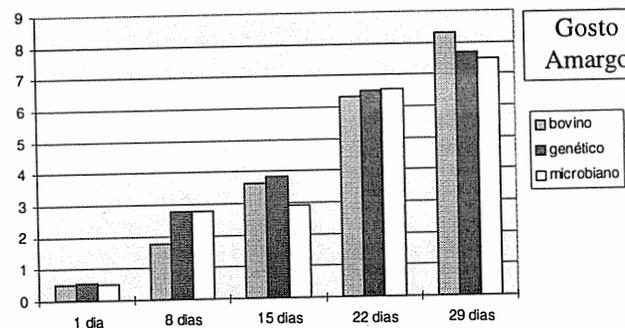


FIGURA 9 - Resultados da avaliação sensorial ao atributo gosto amargo em queijo Minas Frescal fabricados com coalho bovino e coagulantes genético e microbiano.

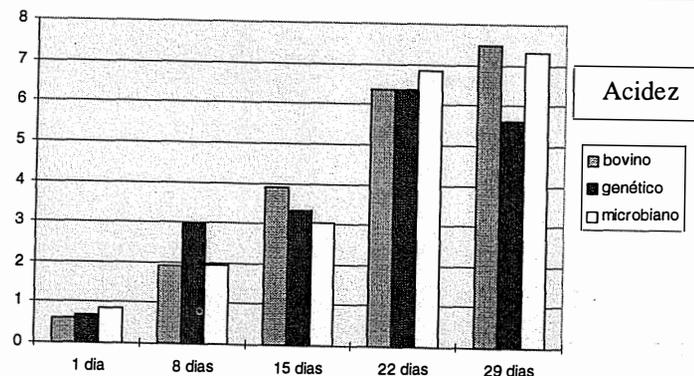


FIGURA 10 - Resultados da avaliação sensorial ao atributo acidez em queijo Minas Frescal fabricados com coalho bovino e coagulantes genético e microbiano.

Diversos estudos que compararam a influência do tipo de coalho nas características sensoriais de queijo também não encontraram diferenças significativas (Folegatti, 1994; Nunez et al., 1992; Corradini et al., 1990). A influência significativa do armazenamento em todos os atributos é consequência dos fenômenos bioquímicos de proteólise e das variações na composição; sendo o queijo Minas Frescal de alta umidade, as alterações com a estocagem são mais características que em outras variedades. Os resultados obtidos para todos os atributos devem ser analisados levando-se em consideração os altos coeficientes de variação encontrados, 36,389, 47,084 e 45,483% para os atributos cor, gosto amargo e acidez, respectivamente. A alta variação entre os provadores é problema constante em painéis de avaliação, mesmo quando os provadores são treinados (Chaves, 1990).

4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos através da avaliação do uso do coalhos bovino e coagulantes microbiano e genético em queijos Minas Frescal armazenados por 1, 8, 15, 22 e 29 dias e fabricados com salga direta no leite e uso de ácido láctico permitem concluir:

- Houve aumento da acidez e abaixamento do pH com a estocagem, já que o produto resultante possui alta umidade e portanto, lactose residual passível de fermentação posterior.
- Durante o armazenamento houve aumento significativo dos índices de extensão da

maturação em todas as amostras analisadas, sendo que o tipo de coalho não resultou em índices diferentes ($p > 0,05$). A determinação dos aminoácidos seguiu a mesma tendência dos índices de extensão, aumentando com a estocagem; porém, os índices de tirosina foram significativamente influenciados pelo tipo de coalho, com os maiores índices médios para o coagulante genético e os menores para o bovino.

- No teste de aceitação os queijos obtiveram vida de prateleira média de 8 dias, sendo depois rejeitados pelos consumidores, com exceção do coagulante microbiano que apresentou bons resultados até os 15 dias de armazenamento. Neste período foi este agente o que apresentou os menores índices de extensão ($p > 0,05$). O teste descritivo quantitativo para os atributos cor, gosto amargo e acidez não detectou diferenças entre os queijos fabricados com os diferentes coalhos.

ABSTRACT

Fresh "Minas" Cheese were manufactured utilizing salt direct in milk and lactic acid substituting the use of starter. Microbial (*Mucor miehei*), genetic (*Aspergillus niger var. awamori*) and bovine rennets were tested. Analyses of the acidity, pH, extension index, amino acids: tyrosine and triptofane, and sensorial tests were conducted after 1, 8, 15, 22 e 29 days of storage at 12°. The acidity and indexes of extension increased gradually during storage ($p < 0,05$), but, the differences among treatments were

not significant. The amino acid, tyrosine, was associated with the extension indices, augmenting gradually. In this case significant differences among the rennets tested were found: the genetic rennet produced higher average (22,66 mg/100g). Shelf life was examined using a test of consumer acceptance. All acceptance was found to decline during storage with the organoleptic characteristics holding up for 8 days. The cheeses produced with a microbial rennet, however, were an exception with acceptance being maintained up to 15 days. The descriptive quantitative analyses under taken by modified profile test, did not show differences among treatments from the parameters color, bitterness and acidity.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBANO, D.H.; RASMUSSEN, R.R. Cheese yield performance of fermentation-produced chymosin and other milk coagulants. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.75, n.1, p.1-2, Jan. 1992.
- BRASIL. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. II. Métodos físicos e químicos.** Brasília, 1981a.
- BRASIL. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. I. Métodos microbiológicos.** Brasília, 1981b.
- CHAVES, J.B.P. A análise sensorial na indústria de laticínios. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v.45, n.267-272, p.38-52, jan./dez. 1990.
- CORRADINI, C.; BOTTAZZI, V.; REMINI, P.; HOGENBOON, J.A.; PAZZAGLIA, C.; LODI, R.; CARINI, S.; RAMPILLI, M. Formaggio grana com chimosina de *Kluyveromyces lactis* (Maxiren). *II Latte*, v.15, p.860-865, ott. 1990.
- FARKEY, N.Y.; FOX, P.F. Objective index of cheese ripening. *Trends in Food Science e Technological*, London; v.2, n.3, p.37-40, Mar. 1990.
- FOLEGATTI, M.L.S. **Avaliação do uso de quimosina produzida por *Aspergillus niger var. awamori* na fabricação de queijo tipo Prato.** Campinas: UNICAMP, 1994. 65p. (Tese-Mestrado em Engenharia dos Alimentos).
- FOX, P.F. Proteolysis during cheese manufacturing and ripening. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.72, n.6, p.1379-1400, June 1989.
- FOX, P.F.; LAW, J. Enzimology of cheese Ripening. *Food Biotechnology*, v.5, n.3, p.239-262, 1991.
- FURTADO, M.M.; SOUZA, H.M.; MUNCK, A.V. A fabricação do queijo Minas Frescal sem o emprego de culturas lácticas. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v.35, n.207, p.15-21, jan./fev. 1980.
- GRIPON, J.C.; DESMAZEAUD, J.; LE BARS, D.; BERGERE, J.L. Etude du rôle des microorganismes et des enzymes are cours de la maturation des fromages. *Le Lait*, Paris, v.55, n.548, p.502-512, sept./oct. 1975.
- ISEPON, J.S.; OLIVEIRA, J.A. Variação do índice de proteólise e aceitabilidade do queijo tipo Minas Frescal. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 13, Juiz de Fora, 1995. *Anais...* Juiz de Fora: EPAMIG/ILCT, 1995. p.287-290.
- MARCOS, A.; ESTEBAN, M.A.; LÉON, F.; FERNANDEZ-SALGUEIRO, J. Electrophoretic patterns of european cheeses: comparison and quantitation. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.62, n.6, p.892-900, June 1979.
- MEDINA, M.; GAYA, P.; GUILLEN, A.M.; NUNUZ, M. Characteristics of Burgos and Hispanico cheeses manufactured with calf rennet or with recombinant chymosin. *Food Chemistry*, Oxford, v.45, p.85-89, 1992.
- NUNEZ, M.; MEDINA, M.; GAYA, P.; GUILLEN, A.M.; RODRIGUEZ-MARIN, M.A. Effect of recombinant chymosin on ewes' milk coagulation and Manchego cheese characteristics. *Journal of Dairy Research*, London, v. 59, n.1, p.81-87, Feb. 1992.
- RETEL, C.; SGUEDONI, A.; JULIANO, A.M.M. Coalhos e coagulantes. *Leite e derivados*, São Paulo, v.2, n.7, p.27-33, nov./dez. 1992.
- VAKALERIS, D.G.; PRICE, W.V. A rapid spectrophotometric method for measuring cheese ripening. *Journal Food Science*, Champaign, v.42, n.2, p.264-276, Feb. 1959.

VISSER, S. Proteolytic enzymes and their action on milk proteins: a review. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, Wageningen, v.35, p.65-88, 1981.

WOLFHOON-POMBO, A.F. Sobre a determinação da força do coalho. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v.35, n.207-212, p.33-34, mar./abr. 1980.

WOLFHOON-POMBO, A.F.; CASAGRANDE H.R.; LOURENÇO-NETO, J.P.M.; MUNCK, A.V. Alterações no queijo Minas Frescal durante o período de armazenamento. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v.39, n.233, p.3-9, mai./jun. 1984.

WOLFHOON-POMBO, A.; LIMA, A.; LOURENÇO-NETO, J.P.M. Amostragem e análise de queijo Prato e Minas (Nota prévia). *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v.38, n.226, p.37-42, mar./abr. 1983.

YVON, M.; CHABANET, C.; PELISSIER, J.P. Solubility of peptides in trichoroacetic acid (TCA) solutions: Hypotesis on the precipitation mechanism. *International Journal of Peptide an Protein Research*, v.34, p.166-176, 1989.

SOBRE A COAGULAÇÃO DO LEITE (REVISÃO)

Daise Aparecida Rossi ¹
Luiz Ronaldo de Abreu ²
Múcio Mansur Furtado ²
Celso José de Moura ¹

1. A COAGULAÇÃO

O leite mantém-se em sua forma coloidal devido a dispersão das micelas de caseína por repulsão de natureza estérica e eletrostática. As micelas possuem de 40 a 300 nm de diâmetro e são formadas por submicelas, grosseiramente esféricas, ligadas entre si por fosfato de cálcio amorfo, com participação de ésteres fosfatos. A repulsão é principalmente causada pelos filamentos hidrofílicos da k-caseína orientados para o meio externo (porção carboxi-terminal flexível), das cargas elétricas superficiais e da camada de hidratação (Kirchmeier, 1973; Walstra, 1990). Entretanto, filamentos de diferentes micelas podem se tocar e conduzir à agregação, dependendo de mudanças no meio, como altas temperaturas, ligações covalentes e pontes salinas (Walstra, 1990).

Na fabricação de queijos, o complexo micelar caseínico deve ser desestabilizado, o que pode ser conseguido através de precipitação isoelétrica, ação do ácido e do calor e utilização de enzimas proteolíticas, como as dos agentes coagulantes (Dagleish, 1987), sendo que a coagulação enzimática do leite ocorre em dois estágios distintos, onde primeiramente há a quebra do macropeptídeo da k-caseína e depois, agregação das micelas de para-k-caseína, mediadas pelo cálcio, quando a temperatura for adequada, 20°C Fox (1988), ou em torno de 30°C (Visser, 1993). Na primeira fase, a enzima quimosina (E.C. 3.4.23.4), do grupo das proteinases aspárticas, atua sobre as moléculas de k-caseína ao acaso, até encontrar um sítio vulnerável. A ligação ocorre preferencialmente no sítio fenilalanina (Phe-105) e metionina (Met-106), e a sequência compreendida entre a histidina (His-98) até a lisina (Lis-112), garante a conformação espacial adequada (Fox, 1989), tornando as micelas instáveis. O segundo estágio envolve a precipitação ou gelatinização da fração amino-terminal, insolúvel na presença de íons cálcio, formando a para-k-caseína, que passa a fazer

parte do coágulo. O caseíno-macropeptídeo (glicomacropeptídeo), que é a fração carboxi-terminal, solúvel na presença de íons cálcio, é perdido no soro (Fox e Law, 1991).

Vários fatores podem afetar a coagulação do leite, como quantidade de cálcio (o efeito do cálcio na agregação é essencial e não parece ser devido à diminuição de cargas, mas à formação das últimas ligações entre os agregados micelares (Walstra, 1990); a composição do leite e das frações proteicas, o tipo e quantidade de coagulante utilizado e a presença de aditivos, como o cloreto de sódio, por exemplo. A adição de até 3 mN de cloreto de sódio, reduz o tempo de coagulação do leite; porém, em concentrações mais elevadas, seu efeito é inibidor. Acredita-se que o efeito do cloreto de sódio é na fase enzimática primária (Fox, 1988). Além disso, todos os fatores que influenciam na estabilidade protéica terão também efeito sobre a coagulação do leite, como pH (caseínas são um grupo de fosfoproteínas específicas do leite que apresentam baixa solubilidade a pH 4,6, seu ponto isoelétrico), adição de sais (salting in e salting out) e temperatura que afeta diferentemente os 2 estágios da coagulação (Stryer, 1988).

2. COALHOS E COAGULANTES

Na maioria das variedades de queijo a coagulação do leite é enzimática utilizando-se agentes coagulantes de diferentes origens. A função primária dos coalhos é, especificamente, a hidrólise do componente estável da caseína (k-caseína), com um mínimo de proteólise geral, que iria reduzir o rendimento de queijos (Fox, 1988). As proteinases do coalho animal e de fungos são todas pertencentes ao grupo das proteases aspárticas. Na classificação internacional, o grupo leva a denominação E.C. 3.4.23, que representa as proteinases mais importantes. A composição das proteinases aspárticas caracteriza-se geralmente pelo alto conteúdo de

¹ Doutorandos em Ciência de Alimentos / UFLA

² Professor Ciência dos Alimentos / UFLA

³ Chr. Hansen Ind. e Com. Ltda

Assine o Informe Agropecuário e Boletim Técnico

Faça seu pedido de assinatura, renovação ou peça exemplar avulso.

Tabela de preços

Revista Informe Agropecuário

Assinatura anual (06 exemplares).....	R\$	34,00
Renovação de assinatura (06 exemplares).....	R\$	28,00
Exemplar avulso.....	R\$	6,00

Boletim Técnico

Exemplar avulso.....	R\$	3,00
----------------------	-----	------

hidróxi-aminoácido e ácidos dicarboxílicos e baixo conteúdo do grupo amina. Este grupo tem peso molecular compreendido entre 33.000 e 38.000 (Foltmann, 1987). Existe uma grande variedade de proteinases que têm sido usadas como coagulantes do leite, como as enzimas microbianas, as extraídas de plantas (ficina, bromelina, papaína) e as proteinases gástricas de vitelos, cabritos e cordeiros (Retil, Sguedoni e Juliano, 1992; Fox, 1988).

A pequena utilização dos coagulantes vegetais justifica-se por possuírem alta atividade proteolítica degradando α -lactoalbumina e soroalbumina, causando hidrólise tão rapidamente que produz redução no rendimento e/ou defeitos de sabor, só se prestando à fabricação de poucos tipos de queijos (Ortiz de Apodaca, Amigo e Ramos, 1994). Dinakar, Mathur e Datta (1989) comparando os coalhos de vitelo e de *Withania coagulans* em queijo Cheddar, encontraram nos queijos fabricados com a enzima vegetal, sabor amargo, frações adstringentes e grande hidrólise da β -caseína, o que inviabilizava a fabricação de queijos com este tipo de coalho.

Os tipos de coagulantes que têm merecido melhor aceitação como substitutos do coalho de vitelo são as pepsinas bovina, suína ou avícola e as proteinases ácidas de microrganismos. Destes, a pepsina avícola é a menos utilizada, sendo mais aceita somente em Israel e parte da Tchecoslováquia. A pepsina bovina é provavelmente a mais satisfatória, possuindo inclusive importante papel na maturação de queijos (Fox, 1988). Atualmente coalhos obtidos por engenharia genética vêm sendo introduzidos.

2.1. Coalho bovino e de vitelo

Coalho é definido como o extrato do estômago verdadeiro de animais ruminantes (abomaso), rico em proteinases ácidas, com atividade coagulante sobre o leite. Proteinases de outras origens, que também possuem capacidade de coagular o leite sob condições adequadas são denominados coagulantes. A composição do coalho extraído do abomaso de vitelos é de aproximadamente 20% de pepsina bovina e 80% de quimosina, e é considerada adequada para fabricação de queijos. Para obtenção do coalho de vitelo é necessário o sacrifício do animal ainda muito jovem, o que aumenta o preço do produto e torna sua oferta instável. A composição do coalho bovino é bastante diferente da composição de coalhos extraídos de vitelos, onde a relação quimosina/pepsina se inverte (Retil, Sguedoni e Juliano, 1992). A maior quantidade de pepsina pode afetar diferentes características na fabricação de queijos, como a coagulação e os fenômenos bioquímicos durante a maturação, já que esta enzima é mais proteolítica e possui pH e temperaturas ótimas diferentes daquela.

2.2. Coagulante microbiano

A utilização das enzimas coagulantes de origem microbiana aumentou nos últimos anos e têm obtido sucesso em algumas variedades de queijos. Os coagulantes microbianos podem ser obtidos de diversos microrganismos e comercialmente, são encontradas enzimas produzidas por três tipos de fungos: *Mucor miehei*, *Mucor pusillus* e *Endothia parasitica*, todas do grupo das proteases aspárticas, classificadas como EC 3.4.23.6 (Foltmann, 1987). A característica principal destas enzimas é sua alta atividade proteolítica quando comparada a outros coagulantes e sua baixa especificidade (Fox, 1988). Dentre os problemas mais freqüentes encontrados em queijos fabricados com coagulantes microbianos estão: sabor amargo, sinérese prolongada e desenvolvimento de textura não apropriada (Fungaro, 1990).

Os coagulantes microbianos são largamente utilizados nos Estados Unidos em queijos fabricados para fundição ou para serem posteriormente processados, como o Cheddar por exemplo, estas variedades de queijo são adequadas para utilização deste coagulante acelera a sua maturação. Estes coagulantes são adotados também em muitas indústrias brasileiras na fabricação de queijos frescos como o Minas Frescal, de consumo rápido.

2.3 Coagulante genético

Com a procura de substitutos adequados para o coalho de vitelo, coagulantes obtidos por engenharia genética alcançaram significância e sucesso comercial, já sendo utilizados em queijos como Cheddar, Edam, Manchego, Burgo e Hispânico (Ortiz de Apodaca, Amigo e Ramos, 1994).

A produção de quimosina por fermentação envolve avançados processos de biotecnologia. Para sua obtenção, o RNA mensageiro (m-RNA), contendo a sequência de bases codificadoras para a produção da proquimosina, é isolado de células do abomaso de bezerras (através de enzimas de restrição), e transcrito com o auxílio da enzima transcriptase reversa, a DNA complementar (c-DNA). O c-DNA contém a sequência de nucleotídeos responsável pela correta sequência de aminoácidos da proquimosina, porém, sem as sequências de introns presentes no DNA natural desta enzima. A sequência de bases do gene da proquimosina é determinada e o c-DNA pode ser então, obtido por síntese bioquímica (Folegatti, 1994; Teuber, 1990 e Stryer, 1988). Como o c-DNA não contém as sequências de introns presentes no DNA da proquimosina, há possibilidade da clonagem e expressão do DNA por vetores de expressão (plasmídios), que por sua vez são inseridos em microrganismos hospedeiros, normalmente bactérias e fungos. Para produção do coagulante, os

microrganismos são cultivados e a quimosina produzida é extraída e purificada. Os microrganismos que vêm sendo mais largamente utilizados como hospedeiros na produção industrial de coalho são, *Escherichia coli* K12, *Kluyveromyces lactis* e *Aspergillus niger* var. *awamori*, embora outras bactérias e fungos possam ser utilizados (Teuber, 1990; Fox, 1988).

No caso do coagulante genético obtido através da fermentação do *Aspergillus niger* var. *awamori* transformado (Chymogen), o gene da proquimosina B é isolado do m-RNA de estômago de vitelo e transcrito no c-DNA da proquimosina. Este é inserido no vetor de expressão (plasmídeo) após a região que codifica para glicocamilase. O plasmídeo é incorporado na célula do *A. niger*, passando a integrar seu genoma e secretar as proteínas glicocamilase e proquimosina. O sistema promotor-inibidor da glicocamilase passa a controlar a expressão do c-DNA da proquimosina. Supõe-se que a formação de quimosina ocorra por ativação de um mecanismo auto-catalítico e o complexo glicocamilase-proquimosina seja totalmente transformado em quimosina ativa, como consequência do pH relativamente baixo da fermentação. Para produção industrial, o *A. niger* var. *awamori* é submetido a fermentação convencional. Posteriormente as células são inativadas e a quimosina recuperada por métodos convencionais, que incluem tratamento ácido, cromatografia gasosa e ultrafiltração (Harboe, 1992).

A quimosina obtida por fermentação de microrganismos transgênicos é composta exclusivamente por quimosina tipo A ou B, sendo que o coalho de vitelo é composto das quimosinas A, B e C e estruturas protéicas sem atividade enzimática, com proporção de aproximadamente 30:55:15 respectivamente. A quimosina C é um produto de degradação da quimosina A, e esta é ligeiramente mais específica que a quimosina B. A quimosina B é mais estável (Harboe, 1992). A principal diferença entre a quimosina obtida por fermentação e coalho de vitelo é sua alta pureza, que em contraste aos produtos obtidos por fermentação, contém pepsina bovina. A quimosina obtida por fermentação é degradada em tempo a aminoácidos e peptídios, da mesma forma que a quimosina de vitelo. A utilização do fungo filamentosso *A. niger*, por seu longo uso em indústrias alimentícias garantem consumo seguro e habilidade para secretar grandes quantidades da enzima (Harboe, 1992). Praaning-Van Dalen (1992) ressalta como vantagens para o uso de coagulante obtido por fermentação, suas características de pureza, semelhança com o coalho de vitelo na habilidade de coagular o leite, garantia de não conter células viáveis nem DNA recombinante e, ainda, ser aceito por naturalistas, já que não implica no sacrifício de animais para sua obtenção.

Recentemente, grande número de experimentos científicos testaram o coagulante obtido por

fermentação e realizaram a comparação com outros tipos de coagulantes em diversas variedades de queijos: Broome e Hickey (1990), compararam o efeito do coalho de vitelo e genético na fabricação do queijo Cheddar em até 12 meses de fabricação. Os autores não encontram diferenças quanto ao tempo de fabricação, composição dos queijos, aspectos microbiológicos e proteólise, mas detectaram, um aumento ($p < 0,025$), no rendimento do queijo fabricado com coalho obtido por fermentação. Ainda em queijo Cheddar, Banks (1992) em experimento similar, não encontrou diferenças significativas no rendimento, sólidos totais e flavor, em queijos com até 6 meses de maturação. Barbano e Rasmussen (1992), utilizaram coalho genético e microbiano em queijo Cheddar, e observaram maior perda de proteínas, quando do uso do coalho microbiano. O rendimento dos queijos fabricados com coalho obtido por fermentação de microrganismos transgênicos foi significativamente maior, provavelmente em consequência da alta atividade proteolítica e baixa especificidade do coagulante microbiano. Neste mesmo experimento os autores compararam o coagulante obtido por fermentação com o coalho bovino. Quando da utilização do coalho bovino, houve maior perda de gordura no soro e diminuição no rendimento. Os autores atribuíram as perdas à presença de pepsina no coalho bovino.

Disegna et al (1991) e Corradini et al (1990), estudaram a ação da quimosina obtida por fermentação do *Kluyveromyces lactis* e coalho de vitelo, sobre as propriedades sensoriais e rendimento em queijo Grana e não encontraram diferenças entre os 2 tipos de coalhos. Nunez et al. (1992), também utilizando a quimosina de *K. lactis* e coalho tradicional, não encontraram diferenças nas características sensoriais e reológicas do queijo Manchego, porém, encontraram diferenças no nitrogênio solúvel a pH 4,6, provavelmente, devido a presença exclusiva de quimosina do tipo B no coagulante obtido por engenharia genética.

O rendimento, composição e proteólise em queijos Gouda fabricados com quimosina de *K. lactis* também não apresentaram diferenças quando comparados aos fabricados com coalho de vitelo. O tempo de coagulação apresentou-se ligeiramente diferente, fato que atribuíram a presença de pepsina no coalho tradicional (Van Den Berg e Koning, 1990). Medina et al (1992), observaram que em queijos Burgo, a utilização da quimosina obtida por fermentação não interfere no rendimento, pH, umidade e proporção de frações α -S₁ e β -caseína liberadas, quando comparada ao coalho de vitelo. Em queijo Hispânico, o resíduo de β -caseína é maior que no coalho tradicional, porém, não existem diferenças quanto às características sensoriais e reológicas.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BANKS, J.M. Yield and quality of Cheddar cheese produced using a fermentation-derived calf chymosin. *Milchwissenschaft*, Cork, v.47, n.3, p.153-156. 1992.

BARBANO, D.H.; RASMUSSEN, R.R. Cheese yield performance of fermentation-produced chymosin and other milk coagulants. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.75, n.1, p.1-2. Jan. 1992.

BROOME, M.C.; HICHEY, M.W. Comparison of fermentation produced chymosin and calf rennet in cheddar cheese. *Australian Journal of Dairy Technology*, Highett, p.53-59, Nov. 1990.

CORRADINI, C.; BOTTAZZI, V.; REMINI, P.; HOGENBOON, J.A.; PAZZAGLIA, C.; LODI, R.; CARINI, S.; RAMPILLI, M. Formaggio Grana com chimosina do *Kluyveromyces lactis* (Maxiren). *Il Latte*, v.15, p.860-865, ott. 1990.

DALGLEISH, D.G. The enzymatic coagulation of milk. In: FOX, P.F. *Cheese: chemistry physics and microbiology*. London: AVI Publishing Co., 1987. v.1, cap.3, p.71-87. 1987.

DINAKAR, P.; MATHUR, M.P.; DATTA, R.D. Differences in proteolytic behavior in Cheddar cheese prepared with calf rennet and vegetable rennet. *Indian Journal of Dairy Science*, v.42, n.4, p.729-796. 1989.

DISEGNA, L.; TEALDO, E.; LODDO, A.; SCULDO, G.; ANTONELLO, F.; GIACON, D.; FELLIN, A. Impiego di chimosina B de *Kluyveromyces lactis* nello tecnologia indicativa del Montasio. *Il Latte*, p.480-490, mag. 1991.

FOLEGATTI, M.L.S. Avaliação do uso de quimosina produzida por *Aspergillus niger* var. *awamori* na fabricação de queijo tipo Prato. Campinas: UNICAMP, 1994. 65p. (Tese-Mestrado em Engenharia dos Alimentos).

FOLTMANN, B. General and molecular aspects of rennets. In: FOX, P.F. *Cheese: chemistry, physics and microbiology*. London: AVI Publishing Co., 1987. v.1, cap.2, p.33-61.

FOX, P.F. Rennets and their action in cheese manufacture and ripening: review. *Biochemistry and Applied Biochemistry*, v.10, p.522-535.

FOX, P.F. Proteolysis during cheese manufacturing and ripening. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.72, n.6, p.1379-1400, Jun. 1989.

FOX, P.F. e LAW, J. Enzimology of cheese Ripening. *Food Biotechnology*, v.5, n.3, p.239-262. 1991.

FUNGARO, M.H.P. *Genética e Melhoramento de Cândida sp. para a produção de coalho microbiano*. Piaracicaba:ESALC, 1990. 119p. (Tese-Doutorado em Agronomia)

HARBOE, M.K. Chymogen, a chymosin rennet manufactured by fermentation of *Aspergillus niger*. *Bulletin of IDF*, n. 269, p.3-7. 1992.

KIRCHMEIER, O. Arrangement of components, electric charge and interaction energies of casein particles. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, Wageningen, v.27, p.191-198, 1973.

MEDINA, M.; GAYA, P.; GUILLEN, A.M.; NUNUZ, M. Characteristics of Burgos and Hispanico cheeses manufactured with calf rennet or with recombinant chymosin. *Food Chemistry*, Oxford, v.45, p.85-89. 1992.

NUNEZ, M.; MEDINA, M.; GAYA, P.; GUILLEN, A.M.; RODRIGUEZ-MARIN, M.A. Effect of recombinant chymosin on ewes' milk coagulation and Manchego cheese characteristics. *Journal of Dairy Research*, London, v. 59, n.1, p.81-87. Feb. 1992.

ORTIZ DE APODACA, M.J.; AMIGO, L.; RAMOS, M. Study of the milk-clotting and proteolytic activity of calf rennet, fermentation-produced chymosin, vegetable and microbial coagulants. *Milchwissenschaft*, Cork, v.49, n.1, p.13-16. 1994.

PRAANING VAN DALEN, D.P. Application and regulatory position of Maxiren. *Bulletin of the IDF*, v. 259, p.8-12. 1992.

RETIL, C.; SGUEDONI, A.; JULIANO, A.M.M. Coalhos e coagulantes. *Leite e Derivados*, São Paulo, v.2, n.7, p.27-33, nov./dez. 1992.

STRYER, L. *Biochemistry*. 3.ed. New York: Freeman. 1988. 1089p.

TEUBER, M. Production of chymosin (E.C. 3.4.23.4) by microorganisms and its use for cheesemaking. *Bulletin of IDF*, n.251, p.3-15. 1990.

VAN DEN BERG, C.; KONING, P.J. Gouda cheesemaking with purified calf chymosin and microbially produced chymosin. *Netherlands and Milk Dairy Journal*, Wageningen, v.44, p.189-205. 1990.

VISSER, S. Proteolytic enzymes and their relation to cheese ripening and flavour: an overview.

Journal of Dairy Science, Champaign, v. 76, n.1, p.329-350, Jan. 1993.

WALSTRA, P. On the stability of casein micelles. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.73, n.8, p.1965-1979. Aug. 1990.



Informe Agropecuário

É uma publicação bimestral, editada pela EPAMIG, que veicula tecnologia agropecuária. Cada edição trata, de forma sistemática, um tema de interesse do complexo agrícola, trazendo informações que vão desde o preparo de solo, no caso de culturas vegetais, até tecnologias de colheita e armazenagem. Quando o tema é cultura animal, a bordagem tem a mesma extensão.



Boletim Técnico

É uma publicação técnica, seriada, editada pela EPAMIG que contém recomendações e/ou informações com base em resultados experimentais ou em observações realizadas nas unidades da empresa.

REVISTA DO INSTITUTO DE LATICÍNIOS CÂNDIDO TOSTES

O. L. Vargas

- (i) A revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes (REVILCT) publicada em Juiz de Fora, apresenta-se no tamanho de 230mm por 160mm e, como um órgão do Centro de Pesquisa e Ensino do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, destina-se à publicação de trabalhos originais de pesquisa e à veiculação de informações relevantes para o setor de leite e lácteos derivados. A critério de um Corpo Editorial, constituído por membros especialistas internos e externos à EPAMIG, a revista poderá veicular artigos de revisão bibliográfica exaustiva, pertinente a um tema específico, ou mesmo notícias de interesse geral.
- (ii) Aos autores poderá ser solicitada a provisão institucional de recursos financeiros para publicação de trabalhos originais e/ou impressão de separatas, de acordo com a disponibilidade financeira no período em questão. Neste caso, a Revista poderá orientar os professores e pesquisadores na busca institucional de apoio financeiro, como por exemplo, para pagamento de fotolitos a cores.
- (iii) Os artigos devem ser redigidos em português, inglês ou espanhol. Os autores devem apresentar redações sempre incluindo títulos e resumo em português e inglês. A bibliografia e as normas complementares de citação devem estar de acordo com a última publicação revista da Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT (NB - 66 revisada ou posterior). Dar-se-á preferência à forma sem destaque, onde o nome dos autores são escritos com apenas as primeiras letras maiúsculas, isto é, dentro da norma culta do português.
- (iv) Os manuscritos e cópias originais devem ser enviados datilografados em papel branco, tamanho A4, 210mm x 297mm de 75 g m², reservando-se as seguintes margens: 1 - margem esquerda de 40mm, 2 - margem direita de 25mm, 3 - margem superior de 25mm, 4 - margem inferior de 25mm. Os manuscritos devem ser datilografados em espaço duplo em páginas de aproximadamente 30 linhas (no máximo 34 linhas e 80 espaços ou caracteres por linha). O Corpo Editorial poderá fazer alterações de pequeno porte nos originais. As alterações de grande porte serão sugeridas aos autores juntamente com a devolução do texto a ser reajustado. As correções e os acréscimos encaminhados pelos autores, após protocolo de entrada dos originais poderão ser recusados a critério do Corpo Editorial.
- (v) Todos os pretendentes ao espaço da Revista, dentro do subtítulo "Ciência e Técnica ou Engenharia", deverão apresentar um resumo em português no início do trabalho e um "Summary" em inglês antes da listagem da bibliografia.
- (vi) A bibliografia deve ser listada, em ordem alfabética, pelo último nome do primeiro autor. As referências bibliográficas devem ser citadas no texto em uma das seguintes formas opcionais: Silva (1980); Silva 1980; (Silva 1980); (*loc. cit.*, Silva, 1980); ou (Silva, 1980: 35). As abreviaturas de nomes de periódicos devem seguir as normas da "World List of Scientific Periodicals". Textos que resultam de ensaios devem conter: título, credenciais dos autores, resumo, introdução, material, resultados e discussão, conclusão, agradecimentos, summary e bibliografia.
- (vii) As ilustrações devem ser feitas em nanquim preto e branco e em tintas de desenho (Rotrings ou equivalentes) de cores variadas para reproduções em cores. As ilustrações deverão ser planejadas em função das seguintes reduções opcionais: 1) 1,5X; 2) 2,0X; 3) 2,5X; 4) 3,0X ou 5) nX sempre calculadas com base na diagonal de um retângulo. Dar-se-á preferência aos tamanhos impressos de 1) 120mm por 90mm; 2) 60mm por 45mm; 3) 170mm por 127,5mm. As bases das ilustrações deverão ser consideradas como 1) 120mm; 2) 60mm; 3) 170mm. Os gráficos e as tabelas devem ser reduzidos ao mínimo indispensável, apenas de acordo com as exigências de um tratamento estatístico formal. As ilustrações e as tabelas devem vir separadamente em relação ao texto e devem estar de acordo com as normas usuais de tratamento e processamento de dados. As fotografias não deverão ser recortadas, as formas fotográficas originais devem ser mantidas em tamanhos retangulares para espaços impressos preferenciais indicados acima (lado menor dividido pelo lado maior igual a aproximadamente 0,7). O cálculo para previsão da redução das ilustrações deve ser feito de acordo com a orientação de Papavero & Martins (1983:109). As ilustrações e as tabelas deverão ser montadas separadamente do texto, deverão conter indicações da sua localização definitiva em relação à paginação do trabalho, devendo constar uma chamada no texto. Na montagem deverá ser obedecido um rigoroso critério de economia de espaço através da divisão da página em lauda esquerda e lauda direita. Para possibilitar este aproveitamento de espaço, a magnitude da redução poderá ser ajustada. O Corpo Editorial outorga-se o direito de proceder às alterações na montagem dos clichês e das pranchas ou de solicitá-las aos autores. As legendas e os títulos das ilustrações deverão ser datilografados à parte do texto e das pranchas. As ilustrações enviadas pelo correio deverão ser protegidas em forma de pranchas de cartolina com uma proteção externa em cartão duro ou em madeira, de forma a deixá-las sempre planas, nunca dobradas. A CE não pode responsabilizar-se pelas perdas e danos com serviços de postagem.
- (viii) Em nenhum caso (subtítulo, nomes de autores, etc) deverão ser usadas palavras escritas só com maiúsculas. No corpo do texto serão grifados apenas nomes genéricos e específicos e palavras estrangeiras eventualmente usadas nas referências bibliográficas; grifar apenas os nomes de livros e periódicos e seus respectivos volumes.
- (ix) Estas normas se aplicam à produção de textos por meio dos múltiplos instrumentos da informática e os artigos podem ser apresentados empregando-se qualquer recurso de gravação reproduzível e visualizável. As credenciais dos autores e as notas de rodapé podem ser organizadas dentro dos critérios "Winword 6.0" (ou versão posterior).
- (x) Todos os artigos publicados poderão ser impressos em tiragem de 10 separatas. As separatas acima desse número serão cobradas dos autores a preço de custo. Os autores não receberão provas para exame e correção, os originais serão considerados definitivos.

Revista que há 56 anos vem se especializando na pesquisa e difusão do setor de leite e derivados. Para assinar a Revista do ILCT, basta preencher o cupom abaixo e enviar o cheque no valor de R\$ 40,00 em nome da EPAMIG
Rua Tenente Freitas, 116 • Cx. Postal 183
CEP 36045-560 • Juiz de Fora • MG

ASSINE A REVISTA

ILCT

Desejo assinar a Revista do ILCT

Nome: _____

Endereço: _____

Nº _____

Complemento: _____

Bairro: _____

Cidade: _____

UF: _____

CEP: _____

Tel: _____

Ecológico

bc&c

KILOH-L®

O desinfetante
dos laticínios
e do produtor
moderno

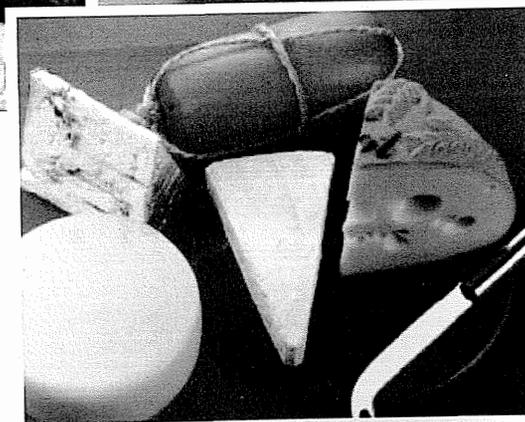
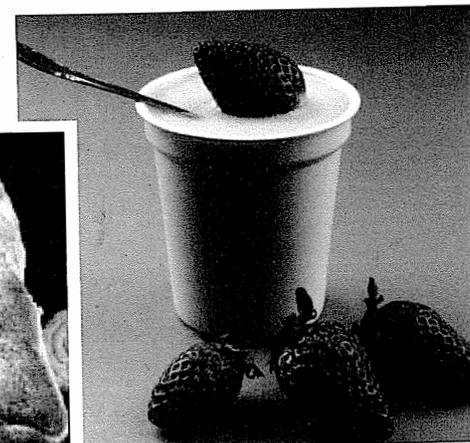
Não irritante;
Biodegradável;
Atóxico;
Não corrosivo;
Não volátil.

Química Natural Brasileira Ltda.
Rua Sete Lagos, 20 • CEP 12238-510
São José dos Campos • SP • Brasil
Tel. (012) 331-4455 • Fax (012) 331-2007
<http://www.tecsat.com.br/quinabra>
E-mail: quinabra@tecsat.com.br


Quinabra®

VOCÊ QUER MAIS QUALIDADE?

No alimento que você fabrica,
a Gemacom garante a qualidade
do que o seu consumidor
muitas vezes não vê,
mas sente.



POLPAS DE FRUTAS ● COALHOS
FERMENTOS LÁCTEOS ● AROMAS
ESTABILIZANTES ● EMULSIFICANTES
CORANTES ● CONSERVANTES

 **gemacom**

Os melhores insumos para o seu produto.

RUA LUIZ NORBERTO ROCHA, 10 • CASCATINHA • 36033-350 JUIZ DE FORA MG
TEL.: (032) 236 2074 • FAX: (032) 236 2277

E-mail: gemacom@estaminas.com.br

SET