



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
CENTRO AGROPECUÁRIO
NUCLEO DE ESTUDOS EM CIÊNCIA ANIMAL
EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA -
AMAZÔNIA ORIENTAL
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

SANDRA SOARES DE SOUZA

**EFEITO DA ADIÇÃO DE CULTURAS LÁTICAS
MESOFÍLICAS SOBRE A QUALIDADE DO QUEIJO DE
COALHO**

**BELÉM-PARÁ
2009**

SANDRA SOARES DE SOUZA

**EFEITO DA ADIÇÃO DE CULTURAS LÁTICAS
MESOFÍLICAS SOBRE A QUALIDADE DO QUEIJO DE
COALHO**

Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural. Universidade Federal do Pará. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Amazônia Oriental. Universidade Federal Rural da Amazônia.

Área de concentração: Produção Animal.

Orientador: Prof^o Dr^o Thiago Fernandes Bernardes.

**BELÉM-PARÁ
2009**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) –
Biblioteca Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural / UFPA, Belém-PA**

Souza, Sandra Soares de

Efeito da adição de culturas lácticas mesofílicas sobre a qualidade do queijo de coalho / Sandra Soares de Souza; orientador, Thiago Fernandes Bernardes - 2009.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará, Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária- Amazônia Oriental, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2009.

1. Queijo de coalho. 2. Bactérias produtoras de ácido láctico. I. Título.

CDD – 22.ed. 636.3

SANDRA SOARES DE SOUZA

**EFEITO DA ADIÇÃO DE CULTURAS LÁTICAS
MESOFÍLICAS SOBRE A QUALIDADE DO QUEIJO DE
COALHO**

Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural. Universidade Federal do Pará. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Amazônia Oriental. Universidade Federal Rural da Amazônia.
Área de concentração: Produção Animal.

Data de aprovação. Belém/PA-----/-----/-----

Banca examinadora

Prof^o. Dr^o. Thiago Fernandes Bernardes
Universidade Federal Rural da Amazônia

Dr^o. Andre Guimarães Maciel e Silva
Universidade Federal Pará

Prof^a. Dr^a. Luciana Celi Chaves da Silva
Universidade Federal Rural da Amazônia

Dedico:

A meu pai pela criação e apoio sem limites.

AGRADECIMENTOS

Agradeço Ao programa de Pós-graduação em Ciência Animal.

Ao meu orientador, Prof^o. Dr^o. Thiago Fernandes Bernardes, pela disponibilidade, compreensão e apoio.

Ao meu Co-Orientador, Prof^o. Dr^o. Almir Vieira Silva, pelo apoio.

A Prof^a. Dr^a. Luciara Celi da Silva Chaves, pela ajuda imprescindível.

Ao seu Fernando técnico e Fernando gerente das empresas MANACA, pelo acolhimento e apoio, imprescindíveis a execução do experimento.

À Morena, a Ana e a todos os funcionários do laboratório de análise físico química do leite das empresas MANACA e funcionários em geral, pela ajuda, carinho e cooperação.

Ao MSC. Bruno de Cássio Veloso Medico Veterinário (Laboratório Central - LACEN/DEP), por toda a ajuda, com as análises microbiológicas.

Ao Laboratório Central - LACEN/DEP pela cooperação.

Ao Marcelino Antonio Costa Maués, fiel escudeiro, sempre presente em todas as horas difíceis durante o decorrer desta batalha.

A Tia Vaíza pelo carinho e apoio, e aos demais funcionários do setor de Zootecnia da UFRA por toda ajuda e companheirismo ao longo desta difícil jornada.

A meus familiares, que acreditaram nessa conquista.

A todos os meus amigos, que são a minha família aqui. A todos os colegas do Mestrado em Ciência Animal da Universidade Federal do Pará. A todos que direta ou indiretamente, ajudaram nesse trabalho.

primeiramente a Deus, que guia os meus passos e minha vida sempre, sem nada disso seria possível.

À FAPESPA pelo apoio financeiro, que tornou possível a realização desse trabalho.

“O professor que caminha na sombra do templo, entre os seus discípulos, não dá a sua sabedoria, mas antes a sua fé e amor”.

“Se for realmente sábio, não vos convida a entrar na casa da sua sabedoria, mas antes vos conduz ao limiar de vosso próprio espírito”

KHALIL GIBRAN

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a característica do queijo de coalho, produzido a partir do leite bovino pasteurizado, mediante a utilização de bactérias lácticas mesofílicas do gênero *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* e *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* específicas. As culturas lácticas oriundas do Banco de Bactérias Lácticas da Universidade Estadual do Ceará foram ativadas junto às instalações do Laboratório de Bactérias Lácticas da Universidade Federal Rural da Amazônia-UFRA, Campus de Belém. As culturas lácticas foram ativadas durante três dias consecutivos em Leite Desnatado Reconstituído (LDR) 12% esterilizado e incubadas a $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, até a coagulação do leite. Após reativação, a cultura industrial foi obtida pela transferência do inóculo de 1% (v/v) para frascos de vidros contendo 500 ml de LDR 12% esterilizado, seguida de incubação a $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a coagulação do leite, em seguida a cultura (fermento láctico) foi adicionada diretamente no tanque de fabricação contendo o leite pasteurizado, mantendo-se a proporção de 1:1. Para avaliação tecnológica foram utilizadas as seguintes culturas lácticas isoladas de leite cru: *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* (LL); *Lactococcus lactis* (atípico) (LLA); *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* (atípico) (LLCA); *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* (LLC). As porções de Amostras foram retiradas, colocadas em processador de alimentos e processadas até formar uma amostra. Em seguida, foram acondicionadas em frascos estéreis, identificadas e mantidas em freezer para posterior análises de determinação do extrato seco, umidade (%), extrato seco total (EST), gordura (G), gordura no extrato seco (GES), acidez, pH, cloretos, nitrogênio total (NT), nitrogênio solúvel em pH 4,6, nitrogênio solúvel em TCA 12%. O índice de proteólise ou extensão da maturação foi avaliado pela divisão do NT. Para o teste de aceitação utilizou-se a escala hedônica estruturada de nove pontos, para avaliar o produto quanto ao aroma, aspecto geral, gosto e textura. O teste de fritura de acordo com metodologia descrita por Cavalcante et al., (2007). As análises microbiológicas das amostras de queijos experimentais nos 1º e 30º dia de maturação, encaminhadas ao Laboratório Central – LACEN, Divisão de Análises de Produtos – DEP. E consistiram em Contagem de bactérias Aeróbias Mesófilas, Determinação de Coliformes. Para o teste de fritura não houve análise estatística. O delineamento utilizado foi o Inteiramente Casualizado e foi utilizada a metodologia de modelos mistos para dados longitudinais, com objetivo de modelar a estrutura de (co)variância entre medidas coletadas na mesma unidade experimental em tempos diferentes, por meio do modelo $y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \delta_{j(i)} + \beta_k + \alpha\beta_{ik} + \varepsilon_{ijk}$. Utilizando-se o programa estatístico *Statistical Analysis Systems* - SAS (SAS INSTITUTE INC., 1992). Os tratamentos LL e LLA foram reprovados no teste de fritura. Houve ligação entre a característica derretimento com a umidade, acidez e proteólise. Os queijos que apresentaram maiores valores de proteólise apresentaram maior capacidade de derretimento. As amostras de queijo coalho tiveram boa aceitabilidade no teste de aceitação.

Palavras-chave: Bactérias lácticas. Queijo de Coalho. Leite bovino pasteurizado.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the characteristics of the curd cheese produced from pasteurized cow's milk, through the use of mesophilic lactic acid bacteria of the genus *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* and *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* specific. The lactic cultures derived from the Bank of lactic acid bacteria from the State University of Ceará were activated at the premises of the Laboratory of lactic acid bacteria of the Federal Rural University of Amazonia-UFRA, Bethlehem Campus lactic cultures were activated for three consecutive days in Reconstituted Skim Milk (LDR) 12% sterilized and incubated at $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, to coagulate the milk. After reactivation, the industrial culture was obtained by transferring the inoculum of 1% (v / v) to glass vials containing 500 ml of sterile 12% LDR, followed by incubation at $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ to coagulate the milk, then the culture (lactic yeast) was added directly into the tank containing manufacturing pasteurized milk, keeping the ratio of 1:1. Technology assessment were used for the following lactic cultures isolated from raw milk: *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* (LL) and *Lactococcus lactis* (atypical) (ALL), *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* (atypical) (LLCA), *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* (LLC). The portions of samples were removed, placed in a food processor and processed to form a sample. They were then stored in sterile flasks, labeled and stored in a freezer for later analysis to determine the dry matter, moisture (%), total solids (EST), fat (F), fat in dry matter (GES), acidity, pH, chloride, total nitrogen (TN), pH 4.6-soluble nitrogen, soluble nitrogen in TCA 12%. The rate of proteolysis or extent of maturation was evaluated by dividing the NT. For the acceptance test used the hedonic scale of nine points, to evaluate the product for the aroma, general appearance, taste and texture. The test frying according to the methodology described by Cavalcante et al. (2007). Microbiological analysis of cheese samples in an experimental and 30 days of ripening, referred to the Central Laboratory - LACEN, Analysis Products Division - DEP. It consisted of mesophilic aerobic bacteria count, coliform determination. To test for statistical analysis there was no frying. The experimental design was completely randomized design and the methodology of mixed models for longitudinal data, in order to model the structure of (co) variance between measurements collected in the same experimental unit at different times through the model $y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \delta_{ijk} + \epsilon_{ijk}$. Using the statistical program Statistical Analysis Systems - SAS (SAS Institute Inc., 1992). The treatments LL and ALL failed the test of frying. There was a link between the characteristic melt with moisture, acidity and proteolysis. The cheeses showed higher proteolysis had higher melting capacity. The samples of cheese curd had good acceptance in the acceptance test.

Keywords: lactic acid bacteria. Cheese Rennet. Pasteurized bovine milk.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Microrregiões classificadas por aumento da produção de leite, superior a 2,2 milhões de litros por ano, 2001/2006.....	13
Figura 2 – Queijo de Coalho, no espeto.....	27
Figura 3 – Queijo de Coalho Assado.	27
Figura 4 - Queijo de coalho comercializado em barra.	27
Figura 5- Bioquímica básica da Proteólise em queijos.....	32
Figura 6 – Representação esquemática dos conceitos de extensão e profundidade da proteólise.	33
Quadro 1 - Principais gêneros das bactérias lácticas:	38
Figura 7 - Adição dos ingredientes, repouso e corte da coalhada para elaboração do queijo de coalho.....	47
Figura 8 - Corte da coalhada, 1ª dessoragem e adição da água quente.	47
Figura 9 - 2ª dessoragem, salga, enformagem, 1ª prensagem e viragem dos queijos.....	48
Figura 10.- 2ª Prensagem, câmara de resfriamento e desenformagem do queijo..	48
Figura 11 - .Coleta da primeira amostra (1º dia de maturação) e embalagem dos mesmos.	49
Figura 12 - Fluxograma de fabricação do queijo Coalho.....	50
Figura 13: Preparo das amostras para análises físico-químicas.....	52
Figura 14: Escala hedonea estruturada de nove pontos.....	57
Figura 15 - As amostras foram fornecidas monadicamente, biscoito água e sal e água mineral.....	58
Figura 8 – Aspectos visuais dos queijos coalho em diferentes tempos de maturação.....	74
Figura 9 – Gráfico aranha, representando a média do perfil sensorial dos queijos experimentais.	77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados do Censo Agropecuário 1995-1996 e primeiros resultados do Censo Agropecuário 2006 segundo variáveis pesquisadas - Região Norte.....	17
Tabela 2 - Evolução da produção de leite, vacas ordenhadas e produtividade no estado do Pará - 1994/2005.....	19
Tabela 3 - Parâmetros físico-químicos para leite cru refrigerado.....	22
Tabela 4- Parâmetros físico-químicos dos queijos experimentais.....	61
Tabela 5 – Valores de pH dos Queijos de Coalho ao longo do período de maturação.....	63
Tabela 6 – Valores de Acidez dos Queijos de Coalho ao longo do período de maturação.....	65
Tabela 7 – Valores de Umidade (%) dos queijos Coalho ao longo do período de maturação.....	66
Tabela 8 – Valores de Proteína Bruta dos queijos Coalho ao longo do período de maturação.....	68
Tabela 9 – Valores do Índice de extensão de maturação dos queijos Coalho ao longo do período de maturação.....	70
Tabela 10 – Valores do Índice de profundidade de maturação dos queijos Coalho ao longo do período de maturação.....	71
Tabela 11 - Notas atribuídas ao teste de aceitação dos queijos Coalho elaborado com culturas lácticas endógenas com 15 dias de maturação.....	76

Tabela 12 - Resultados das análises de Coliformes 35 °C (NMP/g), Coliformes 45 °C (NMP/g), Contagem Padrão de bactérias mesófilas (UFC/g) e Salmonela dos queijos coalho experimentais no 1º e 30º dias de maturação.....79

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL.....	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3 REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1 BOVINOCULTURA LEITEIRA NO ESTADO DO PARÁ.....	16
3.2 DESENVOLVIMENTO DO SETOR LEITEIRO NO ESTADO DO PARÁ.....	18
3.3 O LEITE.....	20
3.3.1 Propriedades físico-químicas do leite.....	21
3.4 QUEIJO COMO PRINCIPAL DERIVADO DO LEITE.....	23
3.5 O QUEIJO DE COALHO.....	25
3.5.1 Material estranho em queijos.....	30
3.5.2 Fermentação do queijo (maturação).....	31
3.5.3 Enzimas naturais do leite envolvidas no processo de maturação.....	34
3.5.4 Enzimas produzidas por Culturas starters.....	35
3.5.5 Enzimas originadas pela microbiota secundária.....	36
3.5.6 Enzimas de bactérias não-starters.....	36
3.5.7 Fatores que envolvem o processo de maturação.....	37
3.6 BACTÉRIAS ÁCIDO – LÁTICAS (BAL).....	37
3.6.1 Ácido lático.....	40
3.7 IMPORTANCIA DAS BACTERIAS ÁCIDO LACTICAS NA FABRICAÇÃO DE QUEIJOS.....	42
4 MATERIAL E MÉTODOS	45
4.1 CULTURAS LÁTICAS E TRATAMENTOS.....	45
4.2 PROCESSAMENTO DO QUEIJO COALHO.....	45
4.2.1 Procedimentos operacionais utilizados na fabricação do queijo Coalho.....	46
4.2.2 Fluxograma de fabricação do queijo Coalho.....	49
4.3.1 Análises físico-químicas.....	51
4.4 TESTE DE ACEITAÇÃO.....	56
4.5 TESTE DE FRITURA.....	58
4.6 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.....	59
4.6.1 Contagem de bactérias Aeróbias Mesófilas.....	59
4.6.2 Determinação de Coliformes.....	59
4.7 ANALISE ESTATÍSTICA.....	60
5 RESULTADO E DISCUSSÃO	61
5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS QUEIJOS EXPERIMENTAIS.....	61
5.2 RESULTADOS DAS ANALISES FISICO-QUIMICAS.....	63
5.2.1 pH.....	63
5.2.2 Acidez.....	64
5.2.3 Umidade (%).....	66
5.2.4 Compostos Nitrogenados (%).....	68
5.3 TESTE DE FRITURA.....	73
5.4 TESTE DE ACEITAÇÃO.....	75
5.5 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.....	77
6 CONCLUSÃO	81
REFERÊNCIAS	82

1 INTRODUÇÃO

Possuidor do principal rebanho comercial bovino do mundo, o Brasil alcançou, em 2007, 205 milhões de cabeças. Na Amazônia legal brasileira, atualmente, existem 3,5 bovinos para cada habitante dos nove estados: Acre, Amazonas, Amapá, Maranhão, Mato Grosso, Pará, Rondônia, Roraima e Tocantins. A população chega a 20,6 milhões habitantes (IBGE, 2007). A Amazônia brasileira, classificada como maior reserva de biodiversidade e uma das maiores reservas de recursos minerais do planeta, tem atraído atenção redobrada da comunidade científica e da sociedade em geral, devido ao ritmo extremamente acelerado de dilapidação dos seus recursos naturais (FERREIRA; SALATI, 2005).

No que refere ao incremento da pecuária leiteira no Brasil, destacou-se quatro regiões onde ocorreram os maiores expressividade em volume de leite produzido, coincidindo com regiões de alta densidade de produção, como pode ser observado na figura 1. Com maior destaque para duas grandes regiões, sendo a primeira formada pelo: Centro-Leste do Pará, Centro-Oeste do Maranhão e Norte de Tocantins a outra região estava localizada no Sul da Bahia. O interessante é que estas áreas não tinham tradição Leiteira, no entanto foram mais produtoras que regiões reconhecidas nacionalmente por essa atividade (ZOCCAL et al., 2007).



Figura 1. Microrregiões classificadas por aumento da produção de leite, superior a 2,2 milhões de litros por ano, 2001/2006.

Fonte: ZOCCAL et al., 2007.

Com o advento da globalização houve maior integração econômica entre países, acompanhada de alta mobilidade populacional e de mercado, resultando em mudanças de costumes e hábitos alimentares, como a preferência pelo consumo de alimentos e produtos típicos tradicionais (DUARTE, 2005).

Um grande desafio é conectar o produtor artesanal à indústria e ao consumidor. Cada participante da cadeia interpreta qualidade à sua maneira e tem seus pontos de controle que irão contribuir para a melhoria da qualidade. (JORGE, 2005).

O leite é uma alternativa de fonte protéica acessível à população de baixa renda, que geralmente é carente em proteína de origem animal, comprovando a importância sócio-econômica deste alimento (BORTOLI et al., 2005).

Os alimentos obtidos por processos artesanais têm grande possibilidade de se apresentarem contaminados, devido ao uso de matérias-primas de fontes não seguras, utensílios mal higienizados ou contaminados, elaboração em condições impróprias e do armazenamento e comercialização em temperatura inadequada, que são fatores que contribuem para aumentar o risco de causarem enfermidades (RYSER; MARTH, 1990).

No Brasil, a produção leiteira ainda apresenta obstáculos na cadeia produtiva, especialmente quanto às condições higiênico-sanitárias, que comprometem a qualidade final do produto, sobretudo em regiões como a Amazônica (FREITAS; OLIVEIRA; GALINDO, 2005). Essa atividade é mais evidenciada, onde a terra tem baixo custo. Entretanto, a produção média diária de apenas 20 litros de leite por propriedade reflete a baixa aptidão leiteira dos rebanhos (SILVA, 2006), fato que contribui para o comércio informal e o baixo nível de tecnificação.

O queijo de coalho, assim como outros tipos de queijos artesanais são produzidos, utilizando-se leite cru integral. Esse procedimento compromete a qualidade do produto, além de causar riscos à saúde humana (ALMEIDA FILHO; NADER FILHO, 2002).

De modo geral, o uso do leite pasteurizado juntamente com o emprego de fermento láctico comercial, no Brasil, tem contribuído significativamente para a melhoria da qualidade dos queijos, porém, pode causar mudanças sensoriais, o que acaba descaracterizando o produto final (OLIVEIRA, 1987). As bactérias ácido-láticas endógenas possuem atividades metabólicas que contribuem para o desenvolvimento de características sensoriais desejáveis no produto, também permitem conservar e, ou, aumentar o valor nutritivo da matéria prima, sem descaracterizar o queijo de coalho artesanal (LEROY; DEVUYST, 2004).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o queijo coalho, produzido a partir do leite bovino pasteurizado, mediante a utilização de bactérias lácticas mesofílicas do gênero *Lactococcus lactis* ssp. *Cremoris* e *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis* específicas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar o queijo coalho, a partir da confecção deste mediante o uso de leite pasteurizado e utilização de Bactérias lácticas endógenas.
- Acompanhar o desempenho das bactérias lácticas mesofílicas do gênero *Lactococcus lactis* ssp. *Cremoris* e *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis*, quanto ao processo de maturação, característica químicas e sensoriais, quando utilizadas individualmente na forma de fermento láctico.
- Avaliar a aceitação do produto, confeccionado com o leite cru pasteurizado e cultura endógena, mediante aplicação do teste de análise sensorial.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 BOVINOCULTURA LEITEIRA NO ESTADO DO PARÁ

A produção de leite ocorre em todos os Estados brasileiros e, na maioria deles, apresenta grande expressão econômica. A atividade leiteira, além de ser a maior geradora de empregos permanentes no campo, é a única atividade da pecuária bovina que exige a presença do homem todos os dias no ano, o que contribui para evitar o êxodo rural (SILVA; GROOTENBOER, 2008).

A agroindústria familiar é uma atividade associada aos sistemas produtivos que melhor remuneraram as famílias de agricultores. Neste sentido, vale ressaltar que os derivados do leite (queijo) são produtos com grande potencial para a formação de sistemas produtivos sustentáveis (DAMASCENO JUNIOR et al., 2007).

De acordo com dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE, (2005) verifica-se que em termos percentuais a região Norte (N) foi a que apresentou o crescimento mais expressivo, com uma variação de 214% de crescimento na produção de leite no período de 1990 a 2005. Neste sentido, chama a atenção o fato de que o Estado que apresentou a maior variação percentual na produção leiteira entre os anos de 1990 e 2005 foi o Estado de Rondônia, com um incremento de produção da ordem de 337% no período, seguindo em ordem decrescente pelo Estado do Acre e Pará com um incremento de 272% e 201% respectivamente (FONSECA; SANTOS, 2007).

De acordo com os resultados do Censo Agropecuário 1995-1996 e primeiros resultados do Censo Agropecuário 2006, pode ser observado na Tabela 1, que houve um crescimento na produção de leite de vaca, porém, se for evado em consideração a produção de leite bubalina verifica-se um decréscimo da ordem de mais de 50% segundo variáveis pesquisadas na Região Norte (IBGE, 2006).

Tabela 1. – Resultados do Censo Agropecuário 1995-1996 e primeiros resultados do Censo Agropecuário 2006 segundo variáveis pesquisadas – Região Norte.

ANO	Leite de vaca	Leite de búfala
	Produção leite (1 000 l)	Produção leite (1 000 l)
1995-1996	846. 333	21. 491
2006	1. 220 890	10. 843

Fonte: IBGE, Censo Agropecuário 1995/2006.

A Pecuária Leiteira no Pará ainda é muito incipiente, sendo encontrada com mais frequência nos municípios de Rondon do Pará, Marabá, Tucumã e Região do Nordeste paraense. O Governo do Pará reconhece que a atividade necessita de um programa de modernização voltado para a busca de um consumidor em potencial, pois a população paraense é tradicionalmente consumidora de leite em pó, um hábito difundido devido à facilidade de oferta e de comercialização. Mesmo assim o consumo de leite “in natura” no Estado é de 100 milhões de litros/ano, um número que poderá aumentar se o setor receber incentivo, o que já vem sendo estudado pelo Governo do Estado (PECUÁRIA LEITEIRA, 2008).

No Brasil, a produção leiteira ainda apresenta obstáculos na cadeia produtiva, especialmente quanto às condições higiênico-sanitárias, que comprometem a qualidade final do produto, sobretudo em regiões como a Amazônica (FREITAS et al., 2005).

No contexto atual de alta competitividade industrial, inclusive pela concorrência internacional, torna-se imprescindível a eficiência e qualidade dos processos de fabricação, que estão diretamente relacionadas com a qualidade dos fornecedores de sua principal matéria-prima, ou seja, dos produtores de leite. A vantagem de serem observados cuidados higiênicos durante a ordenha é que, além de se obter um produto sanitariamente puro, evitam-se perdas em razão do excesso de acidificação, que pode provocar a rejeição do leite ao ser analisado na fábrica, ou mesmo a sua coagulação durante o transporte (SILVA; GROOTENBOER, 2008).

3.2 DESENVOLVIMENTO DO SETOR LEITEIRO NO ESTADO DO PARÁ.

A partir de 1960-1970, iniciou-se o processo de ocupação da Amazônia através da colonização agrícola, facilitada pela abertura das grandes rodovias. Apoiados pelos programas de colonização, milhares de pequenos produtores, oriundos de todas as regiões do Brasil, se instalaram em terras ao longo das estradas. Como consequência, o desflorestamento nas terras firmes da Amazônia se intensificou. Em 2003, já tinham sido abertos 652.908 km², o que corresponde a mais de 16 % da Amazônia Legal. Nos sistemas de produção familiar, o processo de introdução da pecuária passa a ser marcante a partir do início da década de 1990, em consequência de razões econômicas e sociais (IAI, 2001).

Nas frentes de colonização agrícola, a produção leiteira, diversificação da pecuária de cria, contribui para a sustentabilidade da agricultura familiar por vários motivos, principalmente pela geração de renda significativa e regular ao longo do ano (MACHADO, 2000; POCCARD-CHAPUIS et al., 2001). Mesmo com o aumento da produção nos últimos anos, a região Norte importa a maioria dos produtos lácteos que consome o que ressalta a importância socioeconômica do desenvolvimento da produção leiteira regional. Nas propriedades, o problema principal que restringe a rentabilidade da exploração é a baixa produtividade das vacas, devido ao baixo potencial genético para essa característica, associado principalmente ao inadequado manejo alimentar, reprodutivo e sanitário do rebanho (TOURRAND et al., 1998).

Nas fronteiras agrícolas, os sistemas pecuários mistos (leite-carne) caracterizam-se pela diversidade e dinâmica que dependem de vários fatores, tais como origem geográfica dos colonos, condições socioeconômicas dos produtores na chegada à frente pioneira, motivações e razões da migração, projetos agrícolas e da família (FERREIRA, 2001b).

No funcionamento dos estabelecimentos, a produção de leite parece pouco estável, mudando rapidamente em função de oportunidades e de eventos conjunturais (IAI, 2001). Os estabelecimentos leiteiros caracterizam-se por processos de construção e estruturação diversos e, por isso, apresentam diferentes níveis de evolução do sistema produtivo e dos fatores de produção.

A maior parte da área utilizada para gado de leite é ocupada por pastos, o que é indicativo de sistema de produção extensivo. A pequena área destinada à

produção de volumoso suplementar pode ser um indicativo da menor especialização dos produtores na atividade. Entre as áreas de pastagens a mais utilizada é a *Brachiaria brizantha* (Brachiarão), seguida do *Andropogon guianenses*, e *Brachiária humidícola* (FEITOSA, 2003).

A produção média diária de leite por animal é equivalente a 3,9 kg/dia, independentemente do tamanho do produtor, revela a baixa aptidão leiteira dos rebanhos, ou seja, trata-se de animais inseridos numa comunidade familiar onde a exploração leiteira é incompatível aos modelos produtivos econômicos (FERREIRA et al., 2003). Contudo observa-se que houve crescimento expressivo, na produção de leite no período de 1994 a 2005, segundo a evolução da produção de leite, por número de vacas ordenhadas e produtividade no Estado do Pará, conforme relata o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE indicados na Tabela 2 (COMUNICADO SOCIAL, 2007).

Tabela 2 – Evolução da produção de leite, vacas ordenhadas e produtividade no estado do Pará – 1994/2005.

Ano	Produção de Leite (litros/ano)	Vacas ordenhadas (cabeças)	Produtividade (Litros/Vaca/Dia)
1994	297.451.000	875.968	1,3
1995	308.184.000	913.946	1,2
1996	237.899.000	485.240	1,8
1997	290.210.000	646.429	1,7
1998	311.316.000	678.167	1,7
1999	311.162.000	724.039	1,6
2000	380.319.000	800.719	1,8
2001	459.164.746	757.537	2,2
2002	578.147.414	990.453	2,2
2003	562.627.498	979.308	2,1
2004	640.101.726	1.108.742	2,1
2005	703.875.365 ↑ 236,6%	1.194.512 ↑ 136%	2,2 ↑ 163%
Media (94/05)			1,8

Fonte: IBGE – Pesquisa da Pecuária Municipal – PPM – 1994/2005 Sistematização e Cálculos: SAGRI / GEEMA
Comunicado Social 11 de dezembro de 2007

3.3 O LEITE

Segundo o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA, artigo 475, “entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas saudáveis, bem alimentadas e descansadas” (BRASIL, 1997). Do ponto de vista biológico, o leite pode ser considerado um dos alimentos mais completos por apresentar, entre outras características, alto teor de proteínas e sais minerais (BORGES et al., 1989). Porém, o leite também é considerado excelente meio de cultura, podendo ser facilmente contaminado por muitos e/ou vários grupos de microrganismos que podem encontrar condições de multiplicação.

O leite é constituído por uma grande variedade de compostos, com função específica, pelo fornecimento de nutrientes para o próprio bezerro. É um dos alimentos mais completos e oferece grandes possibilidades de processamento industrial para obtenção de diversos produtos para a alimentação humana (DURR, 2007). O conhecimento da composição do leite pode ajudar o produtor a planejar a lactação da vaca para maximizar os lucros, o que envolve a compreensão dos efeitos do manejo e da genética na lactação (DURR, 2007).

O leite, devido a sua composição, constitui um excelente meio de cultura para multiplicação de microrganismos. O leite cru pode representar uma importante fonte de transmissão de enfermidades de origem alimentar, pois pode carrear vários patógenos como *Listeria monocytogenes* (CHAMBERS, 2002). A microbiota dos alimentos é composta por diferentes microrganismos, próprios de cada alimento, somados aos incluídos nas etapas de produção, armazenamento e processamento. Em cada alimento, portanto, dependendo de suas características de produção, contaminação e natureza, ocorre uma série de interações que determinam a microbiota presente no produto. Em 2005 cerca de 50% de toda a produção leiteira do Brasil não passou por nenhum tipo de inspeção (IBGE, 2008), e teve como provável destino o comércio informal, mesmo sendo proibido desde 1952 (BRASIL, 1952). O risco torna-se maior devido a usual produção de diversos tipos de derivados com leite cru, como queijos, cuja produção não emprega nenhum tratamento térmico como a pasteurização e conserva os eventuais patógenos presentes na matéria prima.

Os principais microrganismos envolvidos com a contaminação do leite são as bactérias, que podem ser divididos em dois grupos: 1) Microrganismos patogênicos: podem causar doença, infecção ou intoxicação a partir do consumo do leite cru ou de derivados. Exemplos: *Escherichia coli*, *Salmonella ssp.*, *Brucella abortus* e *Listeria monocytogenes*; 2) Microrganismos deteriorantes: causam alterações nos componentes do leite, o que leva à redução da qualidade na indústria e alterações no sabor (SILVA et al., 2008).

De modo geral o leite produzido no Brasil é obtido em condições higiênico – sanitárias deficientes, predominando altas contagens de microrganismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos, coliformes e presença de patógenos. Em algumas pesquisas a qualidade microbiológica ruim tem sido associada à alta incidência de patógenos. Entretanto, quando se verifica uma melhoria da qualidade microbiológica a incidência de patógenos tende a diminuir (GUERRA; MCLAUCHLIN, 2001; JAY, 1995). Isso pode ser explicado principalmente devido à presença natural de uma microbiota com grande potencial inibitório no leite com altas contagens. Provavelmente as Bactérias Ácido Lácticas (BAL), naturalmente presentes no leite, são responsáveis por essa inibição. As BAL são produtoras de uma variedade de compostos antimicrobianos, incluindo: ácidos, diacetil, peróxido de hidrogênio, dióxido de carbono, álcool, aldeído e bacteriocina. Todos esses compostos podem prejudicar o desenvolvimento de bactérias deterioradoras e patogênicas presentes nos alimentos (HUGAS, 1998).

3.3.1 Propriedades físico-químicas do leite

A composição do leite é importante para a indústria que manipula as suas características físicas e químicas para a elaboração dos produtos lácteos, bem como para assegurar a sua qualidade (SANTOS, 2006). Alguns testes são realizados para detectar adulteração no leite, como: 1) a densidade: é o peso específico do leite determinado pela concentração de gordura e dos demais componentes em solução e suspensão, a adição de água causa diminuição da densidade, enquanto a retirada de gordura resulta em aumento da densidade; 2) o Ponto crioscópico: indica a

temperatura de congelamento do leite, determinado pelos componentes solúveis, principalmente a lactose. A adição de água ao leite causa alteração no ponto crioscópico, ocorrendo aumento da temperatura de congelamento do leite. 3) a acidez: O leite recém ordenhado apresenta-se ligeiramente ácido, porém quando o leite é obtido em condições inadequadas de higiene e refrigeração deficiente ocorre o aumento da concentração de ácido láctico, resultando na acidez adquirida, a qual, em conjunto com a acidez natural, forma a acidez real do leite, tornando-o impróprio ao processamento de alguns derivados (DÜRR, 2007).

Segundo a Instrução Normativa n.º 51 de 18/09/2002, o leite cru resfriado deve apresentar os seguintes parâmetros físico-químicos na propriedade rural:

Tabela 3 – Parâmetros físico-químicos para leite cru refrigerado

<i>Parametros</i>	<i>Limites</i>
Gordura (g/100 g)	Teor original, com o mínimo de 3,0
Densidade relativa a 15/15 °C (g/MI)	1,028 a 1,034
Acidez titulável (g ácido láctico/100 MI)	0,14 a 0,18
Extrato seco desengordurado ESD (g/100 g)	mín. 8,4
Índice crioscópico máximo	- 0,530°H (equivalente a -0,512 °C)
Proteínas (g/100g)	mín. 2,9

Fonte: DURR, (2007)

De forma geral, o leite com alta qualidade deve apresentar as seguintes características:

1. Baixa contagem bacteriana total (CBT) e de células somáticas (CCS);
2. Ausência de microrganismos patogênicos;
3. Ausência de resíduos de medicamentos veterinários;
4. Adequada composição para a indústria.

A Instrução Normativa n.º 51 estabelece que o leite deverá ser analisado por laboratórios credenciados (RBQL – Rede Brasileira de Laboratórios de Controle de Qualidade do Leite) para monitorar a qualidade do leite, pelo menos uma vez por mês.

As análises a serem realizadas são: CBT, CCS, gordura, lactose, proteína, sólidos totais, sólidos desengordurados e resíduos de antimicrobianos (SETTI, 2008).

3.4 QUEIJO COMO PRINCIPAL DERIVADO DO LEITE

A história do queijo remonta há tempos antiqüíssimos, embora muitos especialistas considerem a Idade Média como o marco inicial da sua fabricação. Há relatos de consumo de leite solidificado datando de 7.000 anos a.C. e achados arqueológico revelam a existência de queijos feitos a partir de leite de vaca e de cabra 6.000 anos a.C. Murais em tumbas egípcias mostram cenas de fabricação de queijo no Antigo Egito e a Bíblia cita este produto em mais de uma passagem do Velho Testamento. Nos escritos de Aristóteles há referência a queijos feitos de leite de égua e jumenta (KATIA, 2004).

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1996), “queijo é o produto fresco ou maturado que se obtêm por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado) ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, enzimas específicas de bactérias específicas, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes”. A legislação complementa essa definição, reservando o nome queijo exclusivamente para produtos, cuja base látea não contenha gordura e/ou proteínas de outra origem.

Katia (2004) define queijo como sendo um concentrado lácteo constituído de proteínas, lipídios, carboidratos, sais minerais, cálcio, fósforo e vitaminas, entre elas A e B. É tido como um dos alimentos mais nutritivos que se conhece: um queijo possuindo 48% de gordura contém cerca de 23 - 25% de proteína o que significa que, em termos de valor protéico, 210 g desse produto equivalem a 300 g de carne.

O principal açúcar dos queijos é a lactose e sua degradação, conhecida como fermentação láctica, ocorre no decorrer da sua maturação. Tal degradação é efetuada por bactérias do próprio leite e deve ser controlada quanto à extensão, e velocidade de ocorrência. Em alguns queijos, como por exemplo, o Cheddar, é importante que a fermentação láctica ocorra ainda na fase de formação da coalhada. Em outros queijos de massa mole como o queijo de coalho, é necessário controlá-la

para que ocorra em maior extensão durante a prensagem e as primeiras semanas de armazenamento (CURTIN et al., 2002).

O queijo é também considerado um veículo frequente de patógenos de origem alimentar, em especial, os queijos frescos artesanais por serem, na maioria das vezes, elaborados a partir de leite cru e não sofrerem processo de maturação (BORGES et al., 2003).

Segundo FONSECA; SANTOS (2003) a qualidade do leite é diretamente afetada pela contagem de células somáticas (CCS), e seu aumento é motivo de perdas produtivas e econômicas, assim como ocorre redução da qualidade dos produtos derivados do leite, quando matéria prima de baixa qualidade é empregada na sua fabricação.

Para assegurar melhor qualidade do leite destinado a elaboração de derivados foi publicada a Instrução Normativa nº 51 (IN 51) pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), aplicado à região Norte do Brasil a partir de julho de 2007. De acordo com esta Instrução Normativa o produtor de leite deve comercializar sua matéria prima com CCS igual ou inferior à 1.000.000 céls/MI, sendo que a partir do ano de 2011 haverá maior rigor sobre este parâmetro, que deverá apresentar número máximo de 750.000 céls/MI (BRASIL, 2002).

A transformação do leite em queijo inclui geralmente quatro etapas: 1) A coagulação propriamente dita que ocorre devido à ação conjunta ou não de enzimas proteolíticas e de ácido láctico, formando-se uma rede protéica (gel); 2) O esgotamento ou sinerese, que consiste na expulsão e separação do soro lácteo da coalhada por ruptura mecânica desta, por efeitos de corte ou de pressão, formando a coalhada; 3) a salga, incorporação de sal à superfície ou no interior; 4) a cura ou afinação, onde o queijo é deixado a repousar para que evolua nas suas propriedades organolépticas (BRULÉ; LENOIR, 1987).

Para fabricação de queijos podem-se utilizar culturas microbianas definidas – um número conhecido de cepas ou culturas mistas nas quais tem-se um número desconhecido de cepas. As culturas mesofílicas são as mais utilizadas, puras ou mistas, sendo empregadas principalmente as bactérias *Lactococcus lactis* ssp. *Cremoris* e *Lactococcus. Lactis* ssp. *Lactis*; já as culturas termofílicas comumente empregadas são compostas de *Streptococcus thermophilus* e bacilos lácticos como

Lactobacillus delbrueckii ssp. Delbrueckii, Lb. Delbrueckii ssp. Bulgaricus, Lb. Delbrueckii ssp. Lactis ou Lb. Helveticus (KATIA, 2004).

A presença de bactérias lácticas nos fermentos utilizado na fabricação de derivados do leite é explicada pela sua resistência térmica, pois estes são obtidos a partir de leites pasteurizados e incubados 42^o- 44^oC durante 12 a 15 horas, permitindo uma seleção natural de bactérias lácticas resistentes ao calor e termofílicas (GUERRA; BERNARDO, 2005).

3.5 O QUEIJO DE COALHO

No Brasil, principalmente na Região Nordeste, o queijo coalho é muito apreciado. A maioria desses queijos tem sua origem ligada à fabricação artesanal, em numerosas unidades de produção caseira e propriedades rurais de pequeno porte, tornando difícil sua quantificação em estatísticas oficiais e, portanto, controle pelos órgãos de inspeção (SANTOS, 2006; DÜRR, 2007). O leite utilizado para sua elaboração, normalmente não recebe o beneficiamento térmico, o que impõe sério perigo quanto à contaminação por uma grande variedade de microrganismos. Além disso, essas queijarias utilizam o estômago de animais (mocó, preá, cabritos, ovelhas e bezerras) como coalho, devido à presença da enzima renina contida nesse material, comprometendo ainda mais a qualidade destes produtos (AQUINO, 1983; FLORENTINO; MARTINS, 1999; SANTOS, 2006; DÜRR, 2007).

O queijo artesanal como o de coalho é típico da região Nordeste e muito difundido no Estado do Rio Grande do Norte. O queijo de coalho, por ser elaborado, em quantidade considerável, a partir de leite cru e sem os devidos cuidados de higiene, em pequenas propriedades rurais ou em pequenas indústrias que não adotam as Boas Práticas de Fabricação, não apresenta segurança microbiológica e padronização da qualidade (BORGES et al., 2003).

Os queijos produzidos a partir do leite cru e em condições precárias de higiene apresentam riscos de toxinfecções alimentares. Por isso, faz-se necessária a utilização de tecnologias que prolonguem a sua vida útil já que é um produto facilmente perecível (SILVA et al., 2008).

Em pesquisa realizada em três regiões do Estado do Ceará, Nordeste do Brasil, foi observado que 85% dos produtores utilizavam leite sem pasteurização, sendo que as unidades que o submetiam a este tratamento térmico eram geralmente aquelas que possuíam inspeção federal. Quanto ao tipo de coalho, verificaram uma variação de acordo com a região. Em determinada região, 85% dos produtores utilizavam o coalho industrial na forma de pó ou líquido. Enquanto em outra região, 50% dos produtores utilizavam o estômago de animais (NASSU et al., 2001). Devido à precariedade com que este alimento é produzido e sua riqueza em nutrientes, torna-se um potente veículo de contaminantes, dentre os quais pode-se citar a *Listeria monocytogenes* e microrganismos do grupo dos coliformes, que se constituem em importantes indicadores do aspecto higiênico-sanitário, caracterizando condições higiênicas insatisfatórias, podendo expor o consumidor a enfermidades de origem alimentar (NASCIMENTO et al., 2001; SANTOS, 2006).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento pela Portaria nº 146, de 07/03/96, define o queijo de Coalho como sendo um queijo que se obtém por coagulação do leite por meio de coalho ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não pela ação de bactérias lácteas selecionadas e comercializado normalmente com até 10 (dez) dias de fabricação. É classificado como queijo de média a alta umidade, de massa semi-cozida ou cozida, apresentando teor de gordura no extrato seco entre 35 e 60%. É permitida a adição de condimento ao queijo desde que posteriormente mencionado no rótulo. O queijo deverá apresentar uma consistência semi-dura, elástica; textura compacta (sem olhaduras mecânicas) ou aberta com olhaduras mecânicas; a cor é branca amarelada uniforme; o sabor brando, ligeiramente ácido e salgado; o odor ligeiramente ácido de coalhada fresca; a casca é fina e não muito bem definida; o formato e o peso são variáveis. Pode ser comercialmente encontrado na forma de “palito” – que é o queijo com o palito já espetado ou em barras (figuras 2, 3 e 4). O leite poderá ser integral ou padronizado e deverá obrigatoriamente ser pasteurizado (BRASIL, 1996).



Figura 2 – Queijo de Coalho, no espeto
 Fonte: Alberto Munck – 2008
<http://www.cienciadoleite.com.br/queijodecoalho>

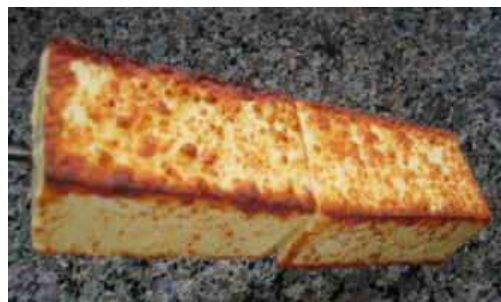


Figura 3 – Queijo de Coalho Assado.
 Fonte: Alberto Munck 2008
<http://www.cienciadoleite.com.br/queijodecoalho>



Figura 4 – Queijo de coalho comercializado em barra.
 Fonte: Arquivo particular

O queijo de coalho, assim como outros tipos de queijos artesanalmente produzidos, utiliza leite cru integral que ao chegar ao local da produção é filtrado em pedaços de tecido para, em seguida, ser adicionado de coalho bovino. Esse procedimento compromete a qualidade do produto, além de causar riscos à saúde humana (ALMEIDA FILHO; NADER FILHO, 2002).

Apesar da produção e comercialização artesanal de queijos serem no Brasil, na sua maioria, consideradas “clandestinas”, a prática dessas ações tem sido freqüente e inevitável, não sendo possível ignorá-las indefinidamente. A sua proibição sumária pode até acarretar, em determinadas regiões do País, um problema social, principalmente para populações que sobrevivem dessa atividade. Esses queijos são tradicionalmente produzidos no meio rural, sem prévia pasteurização, e pelo fato de normalmente serem oriundos de propriedades onde também não são adotadas práticas de higiene passam a ter comprometida a sua composição química, e por conseqüência o seu valor nutritivo não garante ao consumidor a obtenção de nutrientes benéficos a sua saúde (IDE, 2001).

Uma das mais importantes considerações na elaboração do queijo é a obtenção de um produto aceitável sob os pontos de vista de sabor e textura. A textura é a manifestação das características reológicas e depende da composição e

estrutura do queijo. A textura do queijo pode ser influenciada pelas condições de várias etapas durante seu processamento (BENEVIDES et al., 2000^a).

De modo geral, o uso do leite pasteurizado juntamente com o emprego de fermento láctico, no Brasil, tem contribuído de forma significativa para a melhoria da qualidade dos queijos, porém, pode causar mudanças sensoriais o que, acaba descaracterizando o produto final (OLIVEIRA, 1987).

Alguns pesquisadores têm observado diferença na qualidade do desenvolvimento do sabor e nas características do queijo elaborado com leite pasteurizado. Entretanto, as razões para estas diferenças não estão claramente compreendidas (OLIVEIRA, 1987; LAU; BARBANO; RSMUSSEN, 1991; BENEVIDES et al., 2000a).

É possível distinguir duas categorias de queijos: queijos fabricados com leite cru com ou sem a adição de starters e os queijos fabricados com leite pasteurizado com adição de starters. Na primeira categoria os microrganismos patogênicos presentes no leite podem multiplicar-se durante o processamento e maturação e, dependendo da tecnologia, podem corresponder à microflora predominante do queijo. No segundo caso, a presença de microrganismos indesejáveis pode conduzir a problemas organolépticos atribuídos a más condições de higiene durante a produção do queijo (GUERRA; BERNARDO, 2005).

Dos microrganismos indesejáveis que estão relacionados com o queijo coalho frequentemente são relatados grupo dos coliformes, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella spp.* De acordo com Duarte et al., (2005), contagens elevadas de microrganismos do grupo coliformes são frequente observadas nos queijos de coalho, sugerindo que os mesmos foram produzidos em condições de higiene insatisfatória, indicando altos níveis de contaminação fecal, normalmente decorrente da qualidade da matéria-prima ou do processamento. Os altos índices de *Staphylococcus aureus* estão relacionados com a forma de elaboração do queijo que quase sempre é elaborado de forma artesanal e normalmente a partir de leite cru, sem os devidos cuidados de higiene, ou em pequenas indústrias que não adotam Boas Práticas de Fabricação (BORGES et al, 2003).

Segundo Freitas et al., (2009) a presença de elevado percentual de isolados contendo diferentes genes de microrganismos toxigênicos é preocupante para a saúde do consumidor pela possibilidade de produzirem toxinas responsáveis por intoxicações alimentares. A diversidade genética em amostras de *Staphylococcus*

coagulase negativa é um fato importante, pois no Brasil não existe legislação com determinação de limites para *Staphylococcus* coagulase negativa em alimentos.

Em toda a região Nordeste, o queijo coalho constitui uma fonte de renda, porém como os produtores não possuem condições adequadas para o processamento, a qualidade microbiológica na maioria das vezes é insatisfatória (SOUSA et al., 2006).

As práticas de higiene para elaboração deste produto devem estar de acordo com o Regulamento Técnico sobre as Condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Elaboradores / Industrializadores de Alimentos – Portaria nº 368/97 – MA (BRASIL, 1997). O leite a ser utilizado deverá ser higienizado por meios mecânicos adequados e submetido à pasteurização ou tratamento térmico equivalente, para assegurar fosfatase alcalina residual negativa, nos termos da Portaria nº 146/96 – MA (BRASIL, 1996b), de acordo com metodologia analítica oficial do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, combinado ou não com outros processos físicos ou biológicos que garantam a inocuidade do produto.

Apesar de sua importância econômica e grande popularidade na região, a fabricação de queijo de coalho não conta com tecnologia apropriada para a melhoria de sua qualidade. É necessário que o processo tradicional, geralmente artesanal e a partir de leite cru, acompanhe a evolução das técnicas queijeiras mediante modificações já utilizadas na tecnologia de outros queijos nacionais (LIMA et al., 1998).

A produção rural de queijo de coalho tem participação considerável na economia, colocando-se como extremamente expressiva na formação de renda dos produtores de leite, principalmente daqueles que não têm acesso às usinas de beneficiamento. Porém, estes não contam com tecnologias apropriadas, necessitando aperfeiçoar seu processo de fabricação para melhorar a qualidade do produto, sem promover a sua descaracterização, pois o produto obtido tradicionalmente é possuidor de grande popularidade (LIMA, 1996).

A diversificação da metodologia para a manufatura do queijo de coalho pode ser constatada na produção de vários fabricantes. O processamento desses produtos não se encontra bem definido, o que leva à falta de padronização dos queijos comercializados (NASSU, 2003).

Existem poucos trabalhos relatando as características físico-químicas do queijo de coalho. Feitosa (1984) concluiu que existem grandes diferenças na composição centesimal entre os queijos de coalho produzidos no Estado do Ceará. Por outro lado, SENA, (2000), estudando as características físico-químicas de queijo de coalho comercializado em Recife, PE, encontrou pequena oscilação dos parâmetros físico-químicos. Alguns estudos mostram diferenças nas características físico-químicas do queijo elaborado com leite pasteurizado e inoculado com bactérias mesofílicas (OLIVEIRA, 1987; LAU; BARBANO; RSMUSSEN, 1991; BENEVIDES et al, 2000b).

3.5.1 Material estranho em queijos

A presença de material estranho no leite utilizado para a fabricação de queijos pode ocorrer desde o momento em que este é extraído do úbere da vaca, principalmente quando se emprega ordenha manual, ainda predominante em muitas propriedades no Estado do Pará. Os contaminantes prováveis são: Resíduos de fezes, pelo animal e humano, material terroso, resíduos de alimento fornecido ao animal no momento da ordenha etc. (BORSARI, 2001).

A contaminação por material estranho pode resultar num produto de qualidade inferior, com perda nutricional, dano estético, depreciação do valor e ainda trazer riscos a saúde do consumidor (BORGES et al., 2003; MARTINS, 2006). Queijos produzidos a partir do leite cru podem apresentar um grande número de material estranho. Segundo Pimentel Filho et al., (2005), queijos minas artesanais fabricados na região do Alto Paraíba apresentaram número elevado de material estranho, incluindo pelos humanos e de animais, fragmentos de insetos e areia. Porém, queijos industrializados também podem apresentar materiais estranhos. Análises realizadas por Silva et al., (2003), em queijos minas frescal, demonstraram que 100% das amostras apresentaram algum tipo de material estranho como partículas carbonizadas, fibras de tecido, material terroso, elemento histológico vegetal, fragmento de insetos, pêlo humano, pêlo bovino, entre outros.

Portanto, nenhum alimento está inteiramente isento de matérias estranhas, mas é possível o controle em níveis aceitáveis, uma vez que elas podem ser causadoras, diretas ou indiretas, de danos a saúde humana (BORSARI, 2001).

3.5.2 Fermentação do queijo (maturação)

A maturação dos queijos implica importantes alterações nas suas características físico químicas, microbiológicas e organolépticas, devido à perda de umidade e aumento da proteólise e lipólise (MENSOZA; OYON, 2002; MARTINS, 2006).

Segundo Fox, (1993), durante a maturação, a estabilidade do queijo e da sua vida de prateleira é determinada pela presença de ácido láctico, redução da atividade e do potencial de oxido – redução e pela presença de bacteriocinas produzidas por microorganismos responsáveis pela fermentação.

Diversos pesquisadores vêm executando trabalhos com objetivo de encurtar o período de maturação dos queijos, sem causar maiores alterações organolépticas, conservando assim suas características tradicionais (ONER; KARAHAN; ALOGLU, 2006).

A maturação dos queijos corresponde à fase de transformações físicas, químicas e microbiológicas, que se processam tanto na periferia como no interior da massa, sob a ação de enzimas lipolíticas e proteolíticas, a maior parte de origem microbiana, sendo um fenômeno bastante complexo, pois varia de queijo para queijo (PERRY, 2004).

A proteólise é o principal e mais complexo evento bioquímico que ocorre durante a maturação da maioria das variedades de queijos, dando origem a numerosos produtos, como peptídeos, cetonas e aminoácidos livres (figura 5), que irão garantir o sabor, aroma e textura, característico dos queijos, devido a atuação de varias enzimas envolvidas no processo, principalmente as microbianas (GUTIRREZ, 2004; SIHUFE et al., 2005;. MARTINS, 2006).

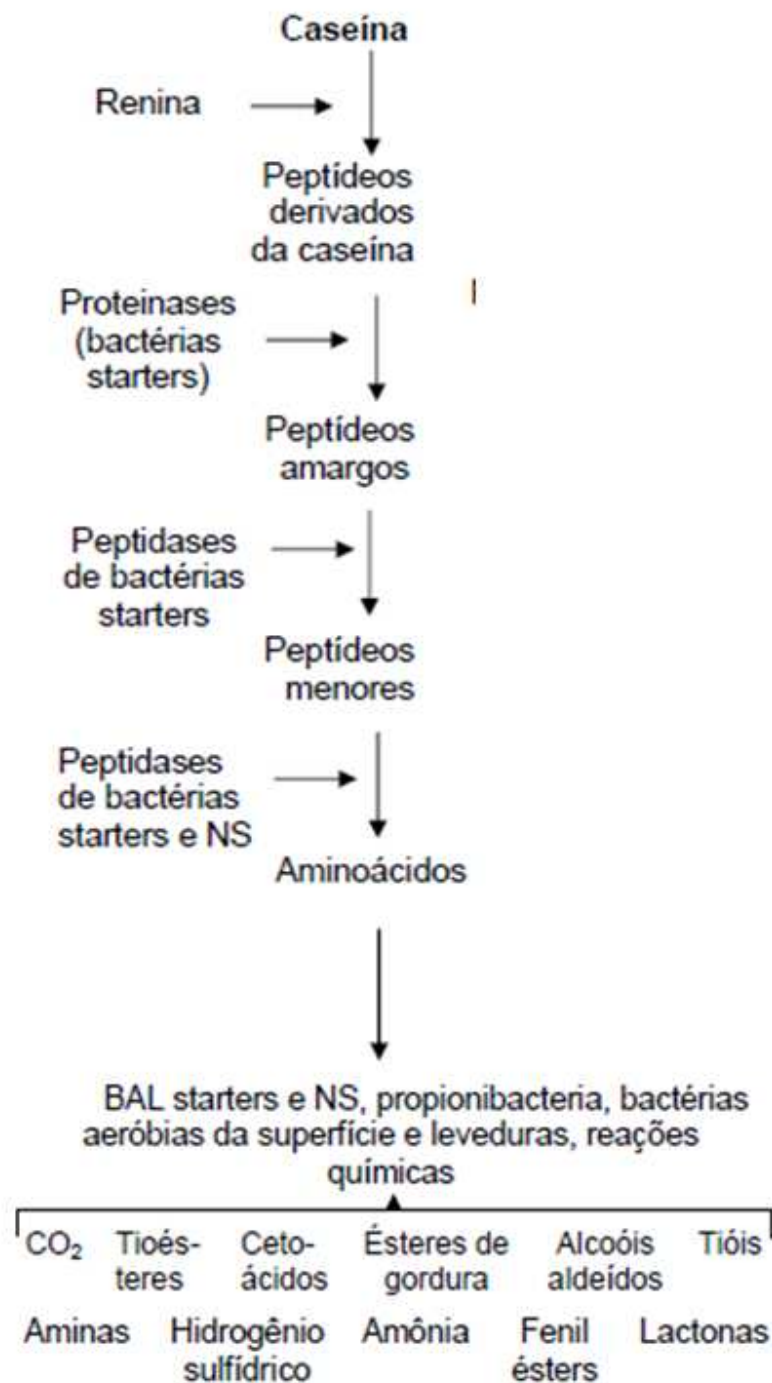


Figura 5- Bioquímica básica da Proteólise em queijos

Fonte: LAW (2001 apud MARTINS, 2006)

De todos os compostos presentes na massa do queijo, a proteína (caseína do leite) é aquele que merece maior destaque, pois é o principal responsável pela elasticidade, textura e formação de compostos que caracterizam o flavor e o aroma

do queijo após a proteólise (ECK, 1987). Segundo Wolfshoon-Pombo (1983), As mudanças durante a maturação são designadas pela sua “extensão” e “profundidade” de proteólise Figura 6.

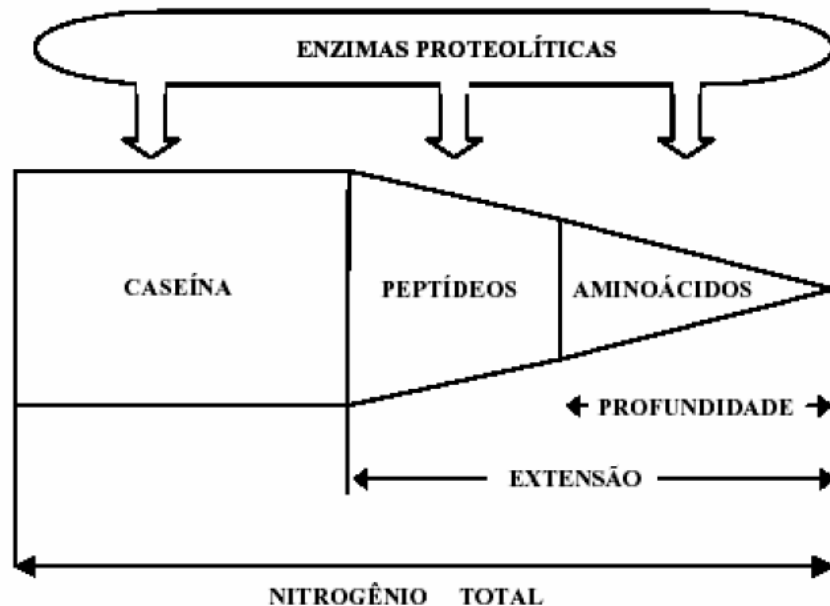


Figura 6 – Representação esquemática dos conceitos de extensão e profundidade da proteólise.

Fonte: WOLFSHOON-POMBO (1983)

O índice de extensão de maturação (IEM) é resultado da ação proteolítica das enzimas do coalho sobre a caseína do queijo, liberando peptídeos de alto peso molecular. Este índice é um fator de grande importância na composição final e na qualidade do produto, caracterizando-se pela quantidade de substância solúvel na fase aquosa dos queijos (WOLFSHOON-POMBO; LIMA, 1999). O índice de profundidade de maturação (IPM) tem a finalidade de verificar a formação de substâncias de baixo peso molecular acumuladas durante o período de maturação, principalmente por causa de ação proteolítica das enzimas microbianas sobre compostos nitrogenados oriundos da degradação da caseína (MARTINS, 2006). Compostos característicos dessa degradação são os aminoácidos, oligopeptídeos e aminas (SILVA et al., 1995).

No leite, as enzimas são encontradas naturalmente, ou são produzidas por microrganismos que o colonizam atuando de diversas formas, favorecendo ou não o processamento e a vida útil de alguns produtos lácticos, principalmente os queijos. As

enzimas presentes na maturação dos queijos podem ter, possivelmente, cinco origens (FOX, 1993) e podem atuar conjuntamente de acordo com o processo de fabricação estabelecido:

- 1) as naturais do leite (endógenas);
- 2) as enzimas coagulantes, como a renina e a pepsina;
- 3) as enzimas produzidas pelas culturas starters;
- 4) as enzimas originadas pela microbiota secundária, e.g. bactérias propriônicas, mofos e leveduras;
- 5) as enzimas de bactérias não starters: a) sobreviventes ao processo de pasteurização, como alguns *Lactobacillus*, *Micrococcus* e *Pediococcus*; b) contaminantes, incorporados ao leite pasteurizado ou ao leite cru, provenientes, principalmente, de manipuladores e materiais e utensílios que entram em contato com o leite.

3.5.3 Enzimas naturais do leite envolvidas no processo de maturação

As principais enzimas naturais do leite são: lactoperoxidase, ribonuclease, xantina-oxidase, catalase, aldolase e lactase, junto a grupos de lipases, proteases, fosfatases, esterases, amilases, oxidases e redutases. Algumas dessas enzimas possuem fraca termorresistência, como a fosfatase alcalina, as lípases e aldolases, não contribuindo, portanto, na maturação de queijos fabricados a partir de leite pasteurizado (ROBINSON; WILBEY, 2002). Porém, tem fundamental importância na maturação de queijos provenientes de leite cru (FOX, 1993).

As proteases naturais do leite (plasmina) atuam no intervalo de Ph entre 6,5 e 8,0 e participam ativamente do processo de cura dos queijos, sendo a β -caseína a proteína mais sensível a essas enzimas, sendo responsáveis pela textura do queijo, quebrando as ligações peptídicas e liberando aminoácidos (PINHEIRO; MOSQUIM, 1991). De acordo com EARLY (1998), a plasmina e a catepsina D também contribuem para a produção de peptídeos de tamanhos grandes a intermediários, originários da quebra da caseína.

3.5.4 Enzimas produzidas por Culturas starters

Os microrganismos provenientes das culturas starters, durante a maturação dos queijos, liberam enzimas exocelulares para o meio e após a sua morte ainda continuam contribuindo nesse processo, com enzimas intracelulares (ECK, 1987). São quatro grandes grupos pertencentes a essas enzimas:

1) Enzimas proteolíticas: desempenham o mais importante papel durante a maturação dos queijos, na formação do aroma e textura característicos. São subdivididas em dois subgrupos: as endopeptidases (ou proteases), que hidrolisam as proteínas liberando peptídeos e as exopeptidases (aminopeptidases, carboxipeptidases, dipeptidases), as quais fracionam os peptídeos em aminoácidos. Microrganismos dos gêneros *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Kluyveromyces* e *Penicillium* são os principais produtores dessas enzimas. De acordo com EARLY (1998), os *Lactococcus* produzem peptidases que degradam principalmente peptídeos de médio e alto peso molecular, formados pela ação da quimosina. Os peptídeos pequenos e os aminoácidos formados contribuem potencialmente para o “*flavor*” e subsequentemente podem ser transformados em compostos de carbinol e tioésteres, os quais contribuem com o “*flavor*” e o aroma do queijo.

2) Lipases: hidrolizam os triacilgliceróis em ácidos graxos e glicerídeos parciais, sendo as bactérias psicrófilas grandes produtoras dessas enzimas, juntamente com os fungos dos gêneros *Geotrichum* e *Penicillium*. As bactérias lácticas por sua vez, possuem fraca atividade lipolítica, atuando melhor em matéria gorda parcialmente hidrolisada.

3) Enzimas de degradação dos aminoácidos: são divididas em descarboxilases (formação de aminas), produzidas por *Micrococcus*, *Brevibacterium* e *Enterococcus*; desaminases (liberam amoníaco com formação de ácidos orgânicos e aldeídos), são produzidas por *Lactobacillus casei* e *Geotrichum candidum*; transaminases (formação de ácidos aminados), formadas por bactérias lácticas e *Streptococcus* do grupo D; liases (formação de fenol, indol e compostos sulfurosos), formados por *Brevibacterium linens*, *Pseudomonas* e *Penicillium camembert*.

4) Enzimas ativas sobre os ácidos graxos: são transformados por duas vias principais: a esterificação (por meio de esterases produzidas por *Pseudomonas* e *Micrococcus*) e a β -oxidação (com a formação de metilcetonas e alcoois secundários, sendo os fungos filamentosos do gênero *Penicillium* o principal responsável pela produção de enzima)

3.5.5 Enzimas originadas pela microbiota secundária

Bactérias propiônicas, *Brevibacterium linens*, mofo e leveduras, tais como *Penicillium roquefort* e *Penicillium candidum* são de fundamental importância em algumas variedades de queijos (FOX, 1993). Esses microrganismos, por possuírem características lipolíticas e proteolíticas bastante acentuadas, são utilizadas na fabricação de queijos que exigem um elevado grau de maturação.

De acordo com Varnam e Sutherland (1996), *Brevibacterium linens* é responsável pela produção de importantes compostos do “*flavor*”.

3.5.6 Enzimas de bactérias não-starters

As bactérias não-starters como alguns *Lactobacillus*, *Micrococcus* e *Pediococcus* podem estar presentes no queijo dada a sobrevivência desses microrganismos ao processo de pasteurização do leite. Em queijos como o Cheddar de origem holandesa (Gouda e Edam), a produção de enzimas por esses microrganismos, provavelmente tem efeito negativo na qualidade, embora contribuam para intensificar o “*flavor*” desses queijos (FOX, 1993).

Em leite cru refrigerado produzido em condições insalubres, microrganismos psicotróficos são encontrados majoritariamente e são representados principalmente por bactérias gram-negativas do gênero *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Alcaligenes* e *Enterobacter*. Esses microrganismos são destruídos pelo processo de

pasteurização, mas suas enzimas, proteases e lipases, são termorresistentes e interferem diretamente no processo de fabricação dos queijos, inclusive, durante o período de maturação (BRITO; DIAS, 1998).

As proteases são responsáveis pela diminuição do rendimento em queijos em até 5%, pela quebra das proteínas do leite, causando a perda de compostos nitrogenados para o soro. Já as lipases produzidas por psicotróficos podem causar rancidez em queijos (EARLY, 1998).

3.5.7 Fatores que envolvem o processo de maturação

De acordo com Robinson e Wilbey (2002), o processo de maturação do queijo depende, principalmente, de três fatores:

- 1) temperatura e umidade da atmosfera em contato com o queijo;
- 2) composição química da coalhada, como teor de gordura, aminoácidos, ácidos graxos e outros produtos da ação enzimática;
- 3) microbiota residual da coalhada, presente na cultura starter, no leite original utilizado ou da planta industrial e seu ambiente.

Já o aumento ou redução, dessa microbiota, depende pelo menos de cinco fatores: a) umidade da coalhada; b) temperatura de armazenamento; c) Ph da coalhada; d) substância inibidora da coalhada e 5) potenciais de oxido-redução.

3.6 BACTÉRIAS ÁCIDO – LÁTICAS (BAL)

A classificação das bactérias ácido – láctica, dentro dos diferentes gêneros é baseada principalmente na morfologia, tipo de fermentação da glicose, crescimento em diferentes temperaturas, configuração do ácido láctico produzido, capacidade de crescimento em altas concentrações de sais e tolerância a ácidos bases (TAGG et al., 1976).

Segundo definição do manual Bergey's, as bactérias lácticas podem ser classificadas em homofermentativas e heterofermentativas (HOLT et al., 1994). São seis os principais gêneros de bactérias lácticas, (Quadro 1).

As bactérias lácticas homofermentativas convertem a glicose em ácido láctico em quantidades superiores a 80% enquanto que as heterofermentativas convertem aproximadamente 50% da glicose em ácido láctico, sendo o restante em metanol, ácido acético, glicerol manitol e CO₂. As homofermentativas utilizam a glicose via Embden-Meyrehof-Parnas (EMP) e as heterofermentativas via pentose-6-fosfato (PIARD; DESMAZEAUD, 1991).

O grupo das principais bactérias ácido – lácticas (Quadro 1), compreende cocos do gênero: *Leuconostoc*, *Ruterococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, e *Pediococcus*, além de bacilos dos gêneros *Lactobacillus* (STILES e HOLZAPFEL, 1997).

O gênero *Streptococcus* está entre os principais de interesse econômico. Após os anos 1980, o gênero *Streptococcus* foi separado em três gêneros: *Enterococcus*, *Lactococcus* e *Streptococcus* (STILES; HOLZAPFEL, 1997). São gram-positivos, catalase negativos, células com formato esférico oval (0,5-2,0 μ m de diâmetro), ocorrem em pares ou em cadeia. São anaeróbicos facultativos, imóveis, não formadores de esporos. São homofermentadores, crescem entre 25–45 °C, temperatura ótima 37 °C (HOLT et al., 1994).

Gênero	Organização celular	Fermentação
<i>Streptococcus</i>	Cocos em cadeias	homofermentativo
<i>Leuconostoc</i>	Cocos em cadeias	homofermentativo
<i>Pediococcus</i>	Cocos em cadeias	homofermentativo
<i>Lactobacillus</i>	Bacilos geralmente em cadeias	homofermentativo
	Bacilos geralmente em cadeias	heterofermentativo
<i>Ruterococcus</i>	Cocos em cadeias	homofermentativo
<i>Lactococcus</i>	Cocos em cadeias	homofermentativo

Quadro 1 – Principais gêneros das bactérias lácticas:

Fonte: Adaptado de STILES; HOLZAPFEL, 1997.

Bactérias lácticas constituem um grupo de microrganismos amplamente distribuídos nos alimentos, produtoras de uma variedade de compostos antimicrobianos, incluindo: ácidos, diacetil, peróxido de hidrogênio, dióxido de carbono, álcool, aldeído e bacteriocina. Todos esses compostos podem antagonizar o crescimento de bactérias deterioradoras e patogênicas presentes nos alimentos (HUGAS, 1998; MURIANA, 1996; SCHILLINGER et al., 1989), sendo que as bacteriocinas têm atraído grande interesse na indústria de alimentos, em decorrência ao seu uso potencial como conservante “natural” (CAPLICE et al., 1999; CLEVELAND et al., 2001; STILES et al., 1991).

As bactérias ácido-láticas (BAL) compreendem um grupo muito diversificado de microrganismos com algumas características comuns: São bactérias gram positivas, catalase negativas, aerotolerantes, não esporuladas, perfeitamente adaptadas a ambientes ricos em nutrientes e que produzem ácido láctico como principal produto final de fermentação dos hidratos de carbono (AXELSSON, 1993).

Os *Lactococcus* são bactérias ácido – lácticas, gram-positivos, catalase negativos, de formato esférico ou ovóide (0,5-1,2 x 0,5-1,5 μ m) ocorrendo aos pares ou em cadeias curtas. Produzem ácido láctico na forma L (+) exclusivamente, crescem a 10 °C e não a 45 °C, em Ph 9,6 e na presença de 6,5% de NaCl. Sua temperatura ótima para crescimento é de 30°C. São anaeróbicos facultativos e não formadores de esporos (HOLT et al., 1994).

Os *Lactococcus* são usados como starters em uma variedade de produtos lácticos fermentados. Utilizam um complexo sistema proteolítico que permite que eles cresçam no leite degradando proteínas, utilizando peptídeos e aminoácido livres, alguns dos quais essenciais para o crescimento celular (BRUINENBERG; LIMSOWTIN, 1995; MACHADO, 2002).

Na fabricação de queijo são comumente empregadas as bactérias lácticas mesofílicas homofermentativas: *Lactococcus lactis* ssp. *Cremoris* e *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis*, Figuras 5 e 6 respectivamente, (BONNASSI; GOLDONI; GUIMARÃES, 1981; CAVALCANTE, 2005).

Lactococcus lactis ssp. *Cremoris*: são bactérias lácticas mesofílicas que foram primeiramente isoladas de plantas verdes. São muito utilizadas em alimentos fermentados, em 1998 correspondia a 20% do valor econômico total dos alimentos fermentados em todo o mundo. Este grupo de bactérias era anteriormente

designado de *streptococcus lactis* (*Streptococcus lactis* ssp. *Lactis*) foi colocada em nova taxonomia em 1985 (BEHMER, 1999)

Lactococcus lactis ssp. *Lactis* normalmente é diferenciada da subespécie *cremoris* em função da temperatura máxima do crescimento e incapacidade de produzir amônio de arginina (PETTERSON, 1988). Davey e Heap (1993), entretanto, estabeleceram a existência de estirpes de *Lactococcus lactis* ssp. *Cremoris* que manifestou metabolismo da arginina. Embora as investigações genéticas sobre bactérias lácticas incluindo gênero *Lactococcus* tenham começado no início dos anos 1970, ainda há discordâncias na caracterização, especialmente entre as características fenotípicas e genotípicas (GODON, et al. 1992; SALAMA et al. 1995, SAMARŽIJA; ANTUNAC; LUKA HAVRANEK, 2001).

3.6.1 Ácido láctico

O ácido láctico é um ácido orgânico não volátil, sem odor e de sabor suave. Este ácido está presente em muitos alimentos, seja naturalmente ou como produto de fermentação *in situ*, é um dos principais intermediários do metabolismo em diversos organismos (DATTA et al., 1995). Podendo ser obtido por fermentação ou síntese química. O ácido láctico tem uma história antiga de uso como acidulante e flavorizante na produção de diversos alimentos (CHOTANI et al., 2000), e como intermediário na síntese de derivados empregados pelas indústrias alimentícia e farmacêutica (LIU, 2003).

Mais recentemente, este ácido passou a ser utilizado também para a polimerização em ácido polilático, um polímero biodegradável (HOFVENDAHL; HAHN- HÄGERDAL, 2000). Devido à sua estrutura química, o ácido láctico ocorre em duas formas isoméricas: ácido L (+) láctico e ácido D (-) láctico. Ambas as formas isoméricas podem ser utilizadas para a síntese de polímeros com diferentes propriedades (HOFVENDAHL; HAHN- HÄGERDAL, 2000). Por outro lado, sob o ponto de vista nutricional, o uso ou a formação (por fermentação) de ácido D (-) láctico em alimentos e bebidas é indesejável uma vez que esta forma isomérica não é facilmente metabolizada por mamíferos, incluindo humanos (LIU, 2003). Além disso,

o consumo excessivo de ácido D (-) lático pode levar a distúrbios médicos (LIU, 2003) e não é recomendado na alimentação de bebês e crianças (WHO, 1974).

Até pouco tempo atrás (início da década de 90), a produção de ácido lático em escala comercial era considerada uma tecnologia madura, com uma produção global média em torno de 40 mil toneladas por ano (DATTA et al., 1995). Por outro lado, o emprego de síntese química para a produção de ácido lático em escala industrial foi largamente substituído pelo processo fermentativo, baseado no cultivo anaeróbio de *Lactobacillus* (DEMAIN, 2000).

Cerca de 90% da produção mundial é obtida por fermentação (HOFVENDAHL; HAHN-HÄGERDAL, 2000).

As bactérias lácticas são os catalisadores preferidos para a produção de ácido lático (HOFVENDAHL; HAHN-HÄGERDAL, 2000). Atualmente, estas bactérias são compostas pelos seguintes gêneros de bactérias gram-positivas: *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Aerococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* e *Weissella* (LIU, 2003). Em geral, as bactérias lácticas são anaeróbias facultativas. Devido à tolerância ao oxigênio, a exclusão completa deste elemento durante as fermentações não é um requisito absoluto (HOFVENDAHL; HAHN-HÄGERDAL, 2000). A temperatura ótima de crescimento varia entre 20 e 45°C, dependendo do microrganismo considerado (HOFVENDAHL; HAHN-HÄGERDAL, 2000). Estas bactérias exibem baixa atividade proteolítica e lipolítica, e apresentam capacidade limitada de biosíntese, requerendo a adição de aminoácidos e vitaminas do complexo B ao meio de cultivo para crescimento (CAPLICE; FITZGERALD, 1999).

Incapazes de sintetizar ATP por meio de respiração, as bactérias lácticas obtêm energia através de fosforilação ao nível de substrato (CAPLICE; FITZGERALD, 1999). Dependendo das vias metabólicas utilizadas durante o metabolismo de açúcares, a fermentação pode ser homolática (ácido lático obtido como único produto do metabolismo), heterolática (CO₂, etanol e/ou acetato obtidos como subprodutos do metabolismo, ao lado de ácido lático) ou de ácidos mistos (CO₂, etanol e/ou acetato, e formato obtidos como subprodutos do metabolismo, ao lado de ácido lático). Além disso, dependendo das condições prevalentes durante o cultivo, o metabolismo de açúcares pelas bactérias lácticas pode ser alterado, resultando em subprodutos adicionais (HOFVENDAHL; HAHN-HÄGERDAL, 2000).

Em teoria, bactérias homofermentativas como *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* e alguns *Lactobacillus* produzem 2 moles de lactato e 2 moles de ATP por mol de glicose consumida (CHOTANI et al., 2000).

A proporção entre os isômeros, L (+) e D (-), obtidos durante a fermentação varia com o gênero e, dentro de um mesmo gênero, com a espécie do microorganismo. Ácido L (+) láctico é produzido por *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Tetragenococcus*, *Streptococcus*, e *Vagococcus*. Ácido D (-) láctico é produzido por *Leuconostoc* e *Oenococcus*. Microorganismos dos gêneros *Lactobacillus*, *Pediococcus* e *Weissella* produzem ambas as formas isoméricas, isolada ou conjuntamente, dependendo da espécie considerada e das condições de cultivo (LIU, 2003).

Por outro lado, o Ph do meio de fermentação também pode afetar o padrão de fermentação exibido pelas bactérias lácticas, dependendo da espécie considerada. Por exemplo: *Lactobacillus bulgaricus* é homofermentativo em Ph ácido, porém se torna heterofermentativo em Ph alcalino. Além disso, as bactérias lácticas podem desviar o fluxo do metabolismo de açúcares em direção à formação de exopolissacarídeos como resposta a variações no Ph do meio (LIU, 2003).

A escolha do microorganismo a ser utilizado para a produção de ácido láctico depende grandemente do substrato utilizado para o preparo do meio de fermentação. Por exemplo: *Lactobacillus delbrueckii* é o catalisador preferido quando glicose ou sacarose são utilizadas como substrato. Por outro lado, *Lactobacillus ulgaricus* é o catalisador preferido quando lactose é utilizada como substrato. Enquanto o primeiro não é capaz de utilizar lactose como fonte de carbono e energia, o segundo não consegue assimilar sacarose (KASCAK et al., 1996). Para a ótima produção de ácido láctico, o Ph deve ser mantido entre 5,5 e 6,0 (KASCAK et al., 1996).

3.7 IMPORTANCIA DAS BACTERIAS ÁCIDO LACTICAS NA FABRICAÇÃO DE QUEIJOS.

As bactérias lácticas têm grande importância econômica na fermentação de grande variedade de alimentos, incluindo os queijos. São encontradas de forma

natural no leite cru, ou de forma industrializada, as quais são adicionadas intencionalmente nos alimentos (LEROY; DEVUYST, 2004).

As bactérias do fermento desempenham muitas funções na fabricação e maturação do queijo. Se durante a fabricação, estas produzirem ácido láctico corretamente, o grão “enxuga” mais rapidamente e a massa do queijo atinge o seu Ph sem maiores problemas. Se estiverem presentes em grande numero, o queijo fermenta normalmente, no tempo certo, e apresentará consistência, aroma e sabor típicos do queijo. Além disso o fermento láctico pode ainda inibir contaminações indesejáveis, como as bactérias do grupo coliforme (FURTADO, 1995; CAVALCANTE, 2005).

Alguns grupos de bactérias lácticas são considerados microorganismos com potencial probiótico, sendo utilizados pela indústria de laticínios na elaboração de vários produtos, os quais podem apresentar inúmeras aplicações na nutrição humana, tratamento e prevenção de doenças como infecções intestinais, efeito anticarcinogênico, estímulo da motilidade intestinal (GUEDES-NETO et al., 2002).

Estudos comprovam que as bactérias lácticas produzem vários compostos bactericidas incluindo ácidos orgânicos, que fazem baixar o Ph, o peróxido de hidrogênio, enzimas bacteriolíticas e as bacteriocinas (DEMARIGNY et al., 1996; GIRAFFA; CARMINATTI; NEVANI, 1997).

Determinadas bactérias lácticas atuam favoravelmente no produto alimentício ao qual foram adicionados, fazendo parte dos microorganismos capazes de exercer efeitos benéficos no hospedeiro (ZIEMER e GIBSON, 1998), os quais podem apresentar um amplo espectro de ação contra microorganismos deteriorantes e patogênicos, protegendo seus consumidores (MORENO 1996).

A adição de culturas probióticas tem sido testada em vários tipos de queijos, e a maior parte consegue permanecer viável, alcançando as propriedades tecnológicas desejadas no produto final. Estão incluídos estudos em queijo Cheddar (DINAKAR; MISTRY, 1994; GARDINER et al., 1998; Mc BREARTY et al., 2001) e queijos frescos (ROY; MAINVILLE; MONDOU, 1997; VINDEROLA; MOCCHIUTTI; REINHEIMER., 2002).

Garcia (2005), verificando a inibição do crescimento de bactérias patogênicas e seus produtos metabólicos por diferentes estirpes de bactérias lácticas, constatou inibição “in vitro” de *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* e *Salmonella*

enteritidis sendo a inibição decorrida pela produção de ácidos orgânicos, peróxido de hidrogênio e bacteriocinas.

A disponibilidade de culturas lácticas endógenas regionais é uma necessidade econômica e um avanço tecnológico que se impõe no Brasil. Além disso, o produto elaborado com leite pasteurizado utilizaria novos fermentos lácticos endógenos, que são compostos por microrganismos da própria região, o que favoreceria a qualidade do produto regional (CAVALCANTE et al., 2003).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 CULTURAS LÁTICAS E TRATAMENTOS

As culturas lácticas oriundas do Banco de Bactérias Lácticas da Universidade Estadual do Ceará foram ativadas nas instalações do Laboratório de Bactérias Lácticas da Universidade Federal Rural da Amazônia, Campus de Belém-PA.

As culturas lácticas foram ativadas durante três dias consecutivos em Leite Desnatado Reconstituído (LDR) 12% esterilizado em autoclave e incubadas a $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ em estufa microbiológica, até a coagulação do leite. Após reativação, a cultura industrial foi obtida pela transferência do inóculo de 1% (v/v) para frascos de vidros contendo 500 ml de LDR 12% esterilizado, seguida de incubação a $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a coagulação do leite, em seguida a cultura (fermento láctico) foi adicionada diretamente no tanque de fabricação contendo o leite pasteurizado, mantendo-se a proporção de 1% (v/v).

Para avaliação tecnológica foram utilizadas as seguintes culturas lácticas isoladas de leite cru: *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis* (LL); *Lactococcus lactis* (atípico) (LLA); *Lactococcus lactis* ssp. *Cremoris* (LLC); *Lactococcus lactis* ssp. *Cremoris* (atípico) (LLCA) e sem cultura láctica, esses isolados caracterizam-se por apresentarem maior rapidez de coagulação do meio LDR 12%, realizados em testes preliminares (CAVALCANTE, 2005).

4.2 PROCESSAMENTO DO QUEIJO COALHO

Os queijos foram produzidos conforme define a Normativa nº 30 (26/06/2001), do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2001), mediante o emprego de leite cru pasteurizado.

O queijo coalho, fabricado a partir do emprego de leite bovino, foi confeccionado em indústria de derivados de leite, localizado no município de mãe do

rio/PA, para este seguiu-se os padrões indústrias.

Para a elaboração do queijo coalho a partir do leite bovino foi realizado o processo de pasteurizado pelo processo “rápido” (75 °C por 15 segundos), adicionado a este um volume de 50ml de solução de Cloreto de Cálcio para cada 100 litros de leite utilizado. Foi utilizado o coalho líquido comercial (marca HÁ-LA) na proporção de 8 ml para cada 10 litros (indicada pelo fabricante) 10 minutos após a adição das culturas bacterianas homofermentativas do tipo mesofílicas.

O leite bovino integral, fornecido pela indústria de derivados, apresentou valores médios de: acidez de 16 °D, 3,3 % de gordura, densidade de 1,0318, Ph de 6,75 e crioscopia de 536, o mesmo foi pasteurizado a temperatura de 75°C por 15 segundos, em pasteurizador de placas e resfriado a 35 °C. Foram empregadas culturas lácticas endógenas isoladas do leite de vaca cru, como fermentos lácticos na fabricação do queijo coalho.

Após a adição dos ingredientes ao leite, o coágulo formou-se em 40 minutos. A salga foi efetuada com cloreto de sódio comercial na concentração de 1% diretamente na massa, logo após a retirada parcial do soro.

4.2.1 Procedimentos operacionais utilizados na fabricação do queijo Coalho

- Matéria prima: leite bovino de boa qualidade;
- Pasteurização rápida: com controle de temperatura (75 °C por 15 seg.);
- Resfriamento automático;
- Adição dos ingredientes seguindo a ordem:
 - Cloreto de Cálcio;
 - Fermento láctico e
 - Coalho

OBS: Após a adição de cada ingrediente o leite foi homogeneizado por cerca de cinco minutos;

- Coagulação: Repouso por período que varia de 40 e 45 minutos;

- Corte da coalhada: lentamente, para obter grãos de 1,5 a 2,0 cm³, conforme ilustrado na figura 7.



Figura 7: Adição dos ingredientes, repouso e corte da coalhada para elaboração do queijo de coalho.

1° dessoragem: retirada parcial do soro e adição de água a temperatura de aproximadamente 80 °C até que a massa de queijo apre sentasse temperatura de 45 °C, conforme ilustrado na figura 8.



Figura 8: Corte da coalhada, 1ª dessoragem e adição da água quente.

- 2º dessoragem: Retirada de aproximadamente 95% do soro;
- Salga: sal refinado, de boa qualidade, foi adicionado diretamente na massa e homogeneizado.
- Enformagem: manualmente a massa nas formas com dessorador pressionando para a retirada parcial do soro.
- Prensagem: a primeira prensagem dura 15 minutos, a segunda de 60 minutos em temperatura ambiente, conforme ilustrado na figura 9 e 10.



Figura 9: 2ª dessoragem, salga, enformagem, 1ª prensagem e viragem dos queijos.



Figura 10: 2ª Prensagem, câmara de resfriamento e desenformagem do queijo.

- retirada da 1ª amostra, após 24 horas na câmara de refrigeração
- embalagem dos queijos para transporte, até o local experimental, ilustrado na figura 11.



Figura 11: .Coleta da primeira amostra (1º dia de maturação) e embalagem dos mesmos.

- Maturação: Os lotes produzidos foram identificados e levados à câmara fria com temperatura de 10 a 12 °C e umidade relativa do ar de 75 a 80%, para fazer a secagem e maturação do queijo.

As amostras de queijo a serem analisadas foram retiradas de cada bloco de queijos, foram trituradas, acondicionadas em potes plásticos esterilizados e conservadas em congelador até a realização das análises físico-químicas (PEREIRA et al. 2001).

4.2.2 Fluxograma de fabricação do queijo Coalho

O fluxograma de elaboração do queijo de coalho foi adaptado do modelo, desenvolvido no Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, Figura 12.

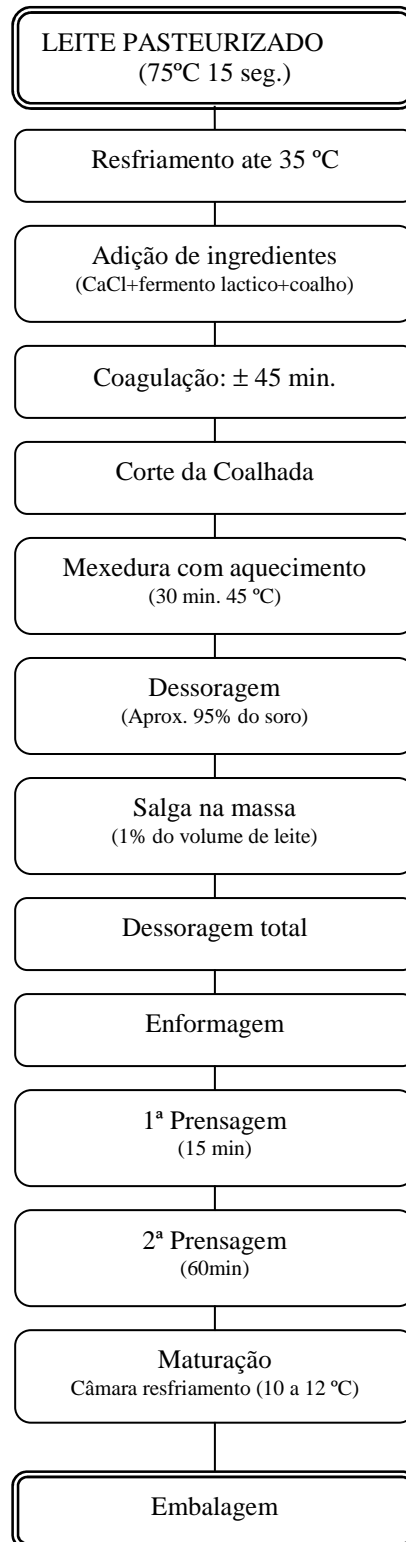


Figura 12 – Fluxograma de fabricação do queijo Coalho

4.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS AMOSTRAS

As amostras foram analisadas no 1º, 10º, 20º e 30º dias após a fabricação do queijo coalho, somente a determinação de cinzas, estrato seco total (EST) gordura e de cloretos de sódio foram realizados apenas no primeiro dia após a fabricação, pois a literatura não refere variações significativas destes parâmetros num intervalo de 30 dias, outro fator refere-se ao fato de que a Legislação não estabelece padrões para a quantidade EST, cinzas.

4.3.1 Análises físico-químicas.

4.3.1.1. Preparo das amostras

Após a confecção dos queijos, estes foram levados a câmara de resfriamento e onde permaneceram por 24 horas, logo após este período os queijos foram pesados

As porções de Amostras foram retiradas conforme Wolfschoon-Pombo et al. (1983), colocadas em processador de alimentos e processadas até formar uma amostra homogênea. Em seguida, foram acondicionadas em frascos estéreis, identificadas e mantidas em geladeira para posterior realização das análises, conforme verificado na figura 13.

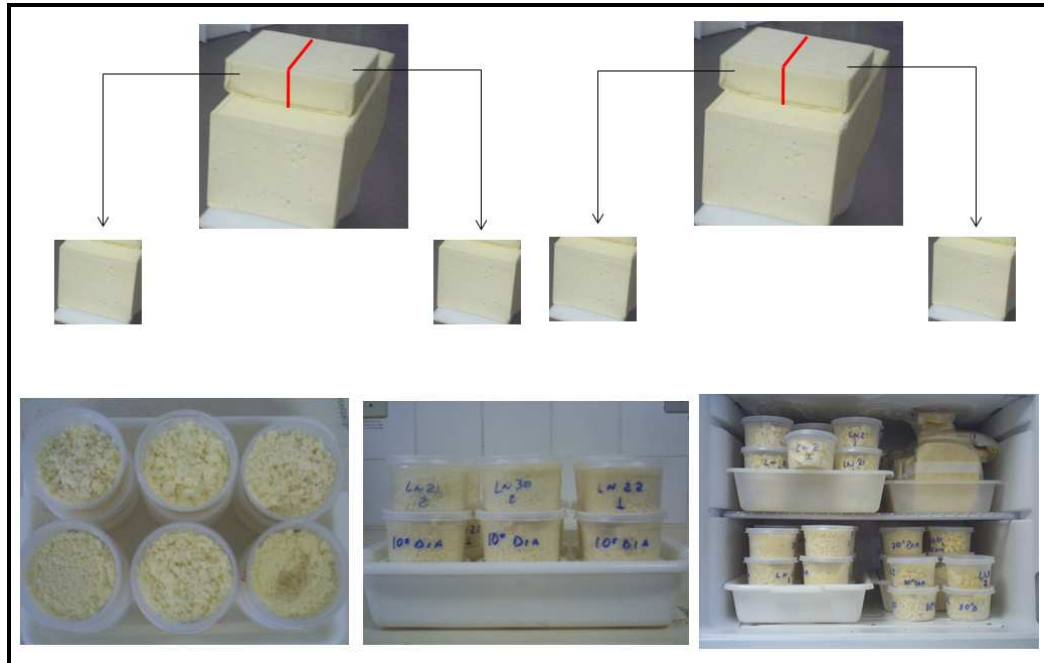


Figura 13: Preparo das amostras para análises físico-químicas

4.3.1.2 Determinação do extrato seco

Imediatamente após o preparo das amostras, coletou-se alíquota em quadruplicata para determinação do extrato seco pelo método gravimétrico, descrito por (PEREIRA et al., 2001)

O teor de extrato seco foi determinado por meio da fórmula:

$$\% \text{ ES} = \frac{P_f - T}{P_i - T} \times 100$$

Sendo:

% ES = Teor de extrato seco total, em % (m/m);

P_f = resultado da última pesagem;

P_i = resultado da primeira pesagem;

T = tara da cápsula de porcelana.

4.3.1.3 Determinação da umidade (%)

A umidade dos queijos foi determinada por meio da fórmula descrita por (PEREIRA et al., 2003)

$$\% \text{ UMIDADE} = 100 - \% \text{ ES}$$

Sendo:

% ES = Teor de extrato seco total, em % (m/m);

4.3.1.4 Determinação do teor de gordura

O teor de gordura foi determinado em (m/m) quadruplicata, pelo método volumétrico GERBER de Van Gulik para queijo (PEREIRA et al., 2001).

4.3.1.5 Determinação do teor de gordura no extrato seco (GES)

O teor de gordura no extrato seco (GES) foi determinado por meio da fórmula:

$$\% \text{ GES} = \frac{\% \text{ GORDURA}}{\% \text{ ES}} \times 100$$

4.3.1.6 Determinação da acidez

A acidez titulável foi determinada, pelo método ponderal, em amostra simples depois de extração e filtração da mesma. O filtrado foi titulado com solução de hidróxido de sódio 0,1 N em presença de fenolftaleína, sendo o resultado

expresso em gramas de ácido láctico / 100 g da amostra, conforme descrito por PEREIRA et al., (2001).

4.3.1.7 Determinação do Ph

O Ph foi determinado pelo método direto, utilizando medidor de Ph digital, com amostras em quadruplicata.

4.3.1.8 Determinação de cloretos

Para determinação de cloretos utilizou-se o método de doseamento na substancia, no qual a quantificação de cloretos é feita por meio de titulação, com nitrato de prata 0,1 mol/L, em que há reação do nitrato de prata com os cloretos do queijo, em presença de cromato de potássio 5% (m/v) como indicador, até a mudança de amarelo para marrom, conforme descrito por PEREIRA et al., (2001).

O teor de cloretos foi calculada por meio da formula abaixo:

$$\% \text{ NaCl} = \frac{(A - B) \times C_i \times f_c \times 5,845}{g}$$

onde:

% NaCl = Teor de cloreto de sódio em % (m/m)

A = volume de solução de nitrato de prata gasto na titulação da prova da amostra;

B = volume de solução de nitrato de prata gasto na titulação da prova em branco;

C_i = concentração da solução de nitrato de prata, em mol/L;

F_c = fator de correção as solução de nitrato de prata; e

g = massa da porção alíquota da amostra (5/100x20=1,0)

4.3.1.9 Determinação de compostos nitrogenados

A partir das amostras trituradas e homogeneizadas dos queijos foi determinada em quadruplicata as frações protéicas desejáveis:

Teor de nitrogênio total (NT) – o teor de nitrogênio total foi determinado mediante solubilização em citrato de sódio e determinado pelo método de Kjeldahl, (PEREIRA et al., 2001).

Teor de nitrogênio solúvel em Ph 4,6 – foi determinado mediante solubilização em citrato de sódio e seguido de precipitação em solução de ácido clorídrico 1,41 mol/L com determinação pelo método de Kjeldahl segundo Pereira et al., (2001).

Teor de nitrogênio solúvel em ácido tricloroacético TCA 12% - foi determinado mediante solubilização em citrato de sódio, seguido de precipitação em solução de ácido tricloroacético (TCA) e determinação realizada pelo método de Kjeldahl (PEREIRA et al., 2001).

O índice de proteólise ou extensão da maturação é a avaliação da quantidade de compostos nitrogenados solúveis (NS) em Ph 4,6, acumuladas durante o processo e expressas como porcentagens do nitrogênio total (NT), sendo calculado segundo formula proposta por WOLSCHOON-POMBO (1983).

$$\text{Índice de proteólise} = \frac{\text{Nitrogênio solúvel a Ph 4,6}}{\text{Nitrogênio total}} \times 100$$

A extensão da proteólise ou profundidade de maturação, é avaliação da quantidade de substancias nitrogenadas de baixo peso molecular que foram acumuladas durante o processo. O método mais utilizado é o do teor de nitrogênio não protéico (NNP), no qual são quantificadas as substancias nitrogenadas de baixo peso molecular precipitadas pelo ácido tricloroacético a 12%, a extensão da proteólise, foi calculado segundo formula proposta por WOLSCHOON-POMBO (1983).

$$\text{Extensão da proteólise} = \frac{\text{Nitrogênio solúvel em TCA}}{\text{Nitrogênio total}} \times 100$$

4.4 TESTE DE ACEITAÇÃO.

O teste de aceitação foi realizado no Departamento de Zootecnia do Instituto de Saúde e Produção animal – ISPA da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA).

O teste de aceitação foi realizado nos cinco tratamentos de queijo coalho elaborados usando leite bovino e com *pool* de culturas lácticas isoladas de leite cru. A análise sensorial ocorreu aos 15 dias de maturação.

A equipe foi formada por 40 provadores não treinados de ambos os sexos, com idade entre 16 e 62 anos um total de 200 observações, segundo recomendação de CAVALCANTE, (2005).

O delineamento utilizado para os testes de aceitação foi Inteiramente Casualizado e o teste de média empregado foi Tukey a 5% de nível de significância.

Utilizou-se a escala hedônica estruturada de nove pontos, conforme modelo da figura 14, onde cada provador expressou sua aceitação pelo produto, seguindo uma escala previamente estabelecida, conforme STONE E SIDEL (1993). Para avaliar o produto quanto ao aroma, aspecto geral, gosto e textura.

Ficha Sensorial para Teste de Aceitação

Nome.....

Data.....

Você esta recebendo uma amostra N°....., use a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou desta amostra (avaliando os atributos a seguir).

	COR	ODOR	TEXTURA	SABOR
Gostei muitíssimo				
Gostei muito				
Gostei moderadamente				
Gostei ligeiramente				
Nem Gostei / Nem desgostei				
Desgostei ligeiramente				
Desgostei moderadamente				
Desgostei muito				
Desgostei muitíssimo				

Comentários.....
.....

Figura 14: Escala hedonea estruturada de nove pontos

As amostras foram servidas monadicamente em cubos uniformes de 1,0 cm por 1,0 cm, em pratos descartáveis brancos, servidas em temperatura ambiente, acompanhadas de biscoito água e sal e água mineral para remoção do sabor residual e a ficha de avaliação por amostra, conforme ilustrado na figura 15.

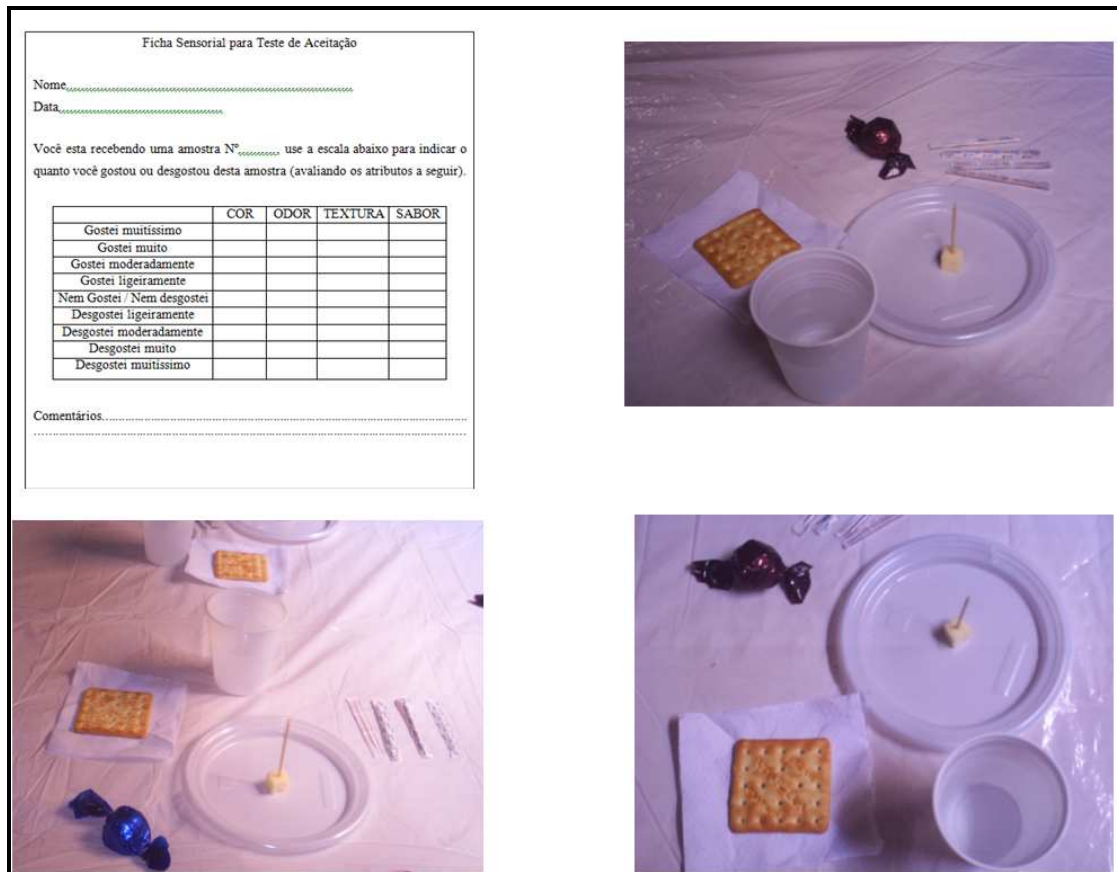


Figura 15: As amostras foram fornecidas monadicamente, biscoito água e sal e água mineral.

4.5 TESTE DE FRITURA

O teste de fritura consistiu em cortar pedaços de queijo coalho com dimensões de 8 cm x 4 cm x 1 cm, sem a casca, fritar em ambos os lados, numa frigideira de alumínio anti-aderente, em fogo médio, com cerca de 5 g gramas de margarina durante, aproximadamente 1 min e 40 segundos. Os queijos foram avaliados nos períodos de 1, 10, 20 e 30 dias de maturação. Foram consideradas aprovadas no teste as amostras de queijo que não derreteram, o critério de avaliação foi descritivo, não houve análise estatística para este teste (CAVALCANTE et al., 2007).

4.6 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

As análises microbiológicas das amostras de queijos experimentais nos 1º e 30º dia de maturação, realizadas no Laboratório Central – LACEN, Divisão de Análises de Produtos – DEP. Rodovia Augusto Montenegro, Km 10 Belém – PA.

4.6.1 Contagem de bactérias Aeróbias Mesófilas

Empregou-se o método de contagem padrão em placas, que consiste na semeadura em meio Agar Padrão. Conforme metodologias descritas no Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (VANDERZANT e SPLITTSTOESSER, 1992), na matéria-prima, 1º e 30º dias após a fabricação dos queijos.

4.6.2 Determinação de Coliformes

Na determinação de coliformes foram realizados os testes presuntivos e confirmativos para coliformes totais (a 35°C) e coliformes fecais (a 45°C).

Teste Presuntivo: Para inoculação do teste presuntivo, selecionou-se três diluições adequadas da amostra e transferiu-se 1,0 MI de cada diluição para uma série de três tubos contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose (CLST). Incubou-se em estufa bacteriológica à 35°C, durante 48 horas e observou-se a produção ou não de gás.

Teste Confirmativo para Coliformes Totais: Dos tubos positivos, com produção de gás do CLST, transferiu-se, através de alça de platina, uma alçada para tubos contendo Caldo Lactose Bile Verde Brilhante. Incubou-se em estufa bacteriológica a 35°C, durante 48 horas e observou-se a produção ou não de gás.

c) Teste Confirmativo para Coliformes Fecais: Dos tubos positivos, com produção de gás do CLST, transferiu-se através de alça de platina, uma alçada para tubos contendo Caldo EC, incubou-se em banho-maria, a 45°C, durante 24 horas e observou-se a produção de gás (BRASIL, 2001).

4.7 ANALISE ESTATÍSTICA

O delineamento utilizado foi o Inteiramente Casualizado e foi utilizada a metodologia de modelos mistos para dados longitudinais, com objetivo de modelar a estrutura de (co)variância entre medidas coletadas na mesma unidade experimental em tempos diferentes, por meio do modelo $y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \delta_{j(i)} + \beta_k + \alpha\beta_{ik} + \varepsilon_{ijk}$ onde y_{ijk} é a variável resposta no tratamento i , na unidade experimental j , na condição de avaliação k ; μ representa a constante geral; α_i representa o efeito do i -ésimo tratamento; $\delta_{j(i)}$ é o efeito aleatório da j -ésima unidade experimental dentro do i -ésimo tratamento; β_k representa o efeito da k -ésima condição de avaliação; $\alpha\beta_{ik}$ representa o efeito de interação entre o i -ésimo tratamento e a k -ésima condição de avaliação; ε_{ijk} representa o erro aleatório relacionado à cada observação y_{ijk} .

Os dados foram analisados por meio do procedimento proc GLM do pacote utilizando-se o programa estatístico *Statistical Analysis Systems* – SAS (SAS INSTITUTE INC., 1992).

5 RESULTADO E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS QUEIJOS EXPERIMENTAIS

Logo após a fabricação o queijo Coalho apresentou formato retangular (23,5 x 11,5 x 11,5) e peso médio de 2,8 kg. Em relação ao aspecto visual os queijos apresentaram consistência variada entre tratamentos, às formulações com adição de culturas lácticas; LL e LLA apresentaram consistência quase elástica, textura macia e compacta. As formulações com nenhuma adição de culturas lácticas e adição de culturas lácticas; LLCA e LLC apresentaram consistência mais firme e compacta.

Na Tabela 4 podem ser observados os valores médios encontrados nas análises físico-químicas dos queijos experimentais, logo após a manufatura (tempo zero).

Tabela 4- Parâmetros físico-químicos dos queijos experimentais

Variáveis	Tratamentos						Média	CV
	C	LL	LLA	LLC	LLCA			
% EST	52,33 ^a	46,47 ^b	48,16 ^b	51,84 ^a	51,30 ^a	49,98	2,44	
% Umidade	47,67 ^b	53,53 ^a	51,84 ^a	48,16 ^b	48,70 ^b	50,02	2,44	
% Gordura	25,43 ^a	23,43 ^b	25,52 ^a	25,26 ^a	25,17 ^a	24,93	2,43	
% GES	48,60 ^c	50,43 ^b	53,01 ^a	48,74 ^b	49,07 ^{bc}	49,97	2,25	
% Proteína Bruta	19,16 ^a	15,74 ^d	18,71 ^a	17,74 ^b	16,98 ^c	17,66	1,86	
% Acidez	0,20 ^b	0,26 ^a	0,27 ^a	0,13 ^c	0,10 ^c	0,19	10,49	
pH	5,72 ^c	5,55 ^d	5,45 ^e	5,98 ^b	6,08 ^a	5,75	0,77	
% NaCl	1,39 ^a	1,42 ^b	1,10 ^b	2,43 ^a	2,05 ^a	1,67	0,51	
% MM	6,51 ^a	6,81 ^a	6,69 ^a	7,85 ^a	7,97 ^a	7,22	14,99	

Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

C= Controle

LL = *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis*;

LLA = *Lactococcus lactis* (atípico);

LLC = *Lactococcus lactis* ssp. *Cremonis*

LLCA = *Lactococcus lactis* ssp. *cremonis* (atípico).

EST = Extrato seco total

GES = Gordura no extrato seco

NaCl= Cloreto de sódio

MM = Matéria mineral

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos (BRASIL, 1996), os queijos avaliados classificaram-se quanto ao teor de umidade como sendo de alta umidade apresentando os seguintes valores para as amostras LL 53,53% e LLA 51,84 %, quanto ao conteúdo de matéria gorda no EST as amostras, classificaram-se como sendo gordos, conforme este regulamento que classifica queijos gordos os que apresentarem conteúdo de matéria gorda no EST entre 45,0 e 59,9%.

Os valores de GES para queijo de coalho encontrados neste trabalho foram semelhantes aos encontrados por Francisco et al. (2007) 49,33, 50,90 % estes diferenciam pouco dos relatados por Nassu et al. (2001 e 2003), que encontraram valores de 47,91 % e 45,54% respectivamente. De acordo com o regulamento técnico de identidade e qualidade de queijo coalho, estes são classificados como sendo de media e alta umidade e com teores de gordura nos sólidos totais podendo variar entre 35,0% e 60,0%. Sendo assim as amostras avaliadas estão dentro dos padrões estabelecidos pela legislação (BRASIL, 2001).

De acordo com Nassau et al (2001), a diferença de umidade e gordura deve-se a variações na matéria-prima utilizada e no processamento em si. Para proteínas os valores encontrados variaram entre as amostras LLA 18,71 e C 19,16 % e para cinzas (MM) não houve diferença significativa entre os tratamentos. As amostras LLA e C apresentaram os maiores resultados para proteína bruta. Nassu et al. (2001) e Francisco et al. (2007) encontraram valores superiores para Proteína de 24,26% e 25,51% respectivamente no entanto obtiveram valores inferiores para as cinzas 4,41% e 4,97 % respectivamente.

Quanto aos teores de EST nas amostras LLCA 51,30 %, LLC 51,84 % e C 52,33 %, assim como para e acidez a LL 0,26 % e LLA 0,27 %. Percebe-se que há uma variação entre as amostras sendo mais acentuada quanto se compara as amostras LLCA, LLC com as LL, LLA e C para acidez, esses valores foram inferiores ao encontrado por A e B de 0,33, e C 0,57 Francisco et al. (2007), Nassu et al (2003), que encontraram 0,30%, Nassu et al (2001) encontraram 0,44%.

Quanto aos teores de Cloreto de sódio nas amostras foram observados que não houve diferença significativa ao nível de 5% do teste de Tukey entre as amostras LL 1,42 %, LLA 1,10 % e CONT 1,39 %, que diferiu das amostras LLCA 2,05 % e LLC 2,43 % semelhantes entre si. Cavalcante (2005), trabalhando num

sistema de apoio a decisão a produção de queijo coalho confeccionados com cultura lácticos endógenas encontrou valores semelhantes para o teor de cloretos.

Legislação não estabelece padrões para a quantidade EST, cinzas, proteínas e acidez, de acordo com estes parâmetros os resultados obtidos se aproximam dos resultados encontrados em vários estudos com queijos de coalho nos diferentes estados da região Nordeste (Ceará, Rio Grande do Norte, Pernambuco) (Nassu et al 2003; Nassu et al 2001; Sena et al, 2000).

5.2 RESULTADOS DAS ANALISES FISICO-QUIMICAS

5.2.1 pH

O aumento de pH e explicado pela formação de produtos da degradação protéica em decorrência da atividade das proteases nativas do leite, principalmente a plasmina, e de proteases produzidas pelo fermento láctico adicionados ao leite (GONDIM, 1995). Além disso, o desaparecimento do lactato pode induzir um aumento do pH ao longo do processo de maturação.

Tabela 5 – Valores de pH dos Queijos de Coalho ao longo do período de maturação

GRUPO	MÉDIA	DP		DIA	MÉDIA	DP
C	5,54	0,14	a			
LL	5,31	0,18	b	1 ^o	5,73	0,25
LLA	5,30	0,15	b	10 ^o	5,52	0,32
LLC	5,60	0,37	a	20 ^o	5,41	0,27
LLCA	5,90	0,13	c	30 ^o	5.45	0,27

C = Controle

LL = *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis*;

LLA = *Lactococcus lactis* (atípico);

LLC = *Lactococcus lactis* ssp. *Cremonis* e

LLCA = *Lactococcus lactis* ssp. *cremonis* (atípico).

Y = 5, 6918 - 0, 0104X

R² = 0,14

Neste estudo observou-se uma leve diferença entre as amostras e dias, sem interação desses efeitos, como verificado no teste de média para as amostras e regressão para o tempo, este fato pode ser associado ao metabolismo da lactose pelos microrganismos e a ação das lípases sobre a gordura e, conseqüentemente, produção de ácidos durante os primeiros dias de maturação (GONDIM, 1995). Os valores de pH dos queijos apresentaram-se praticamente inalterados ao longo do processo de maturação não mostrando diferença estatisticamente significativa (tabela.5).

Na literatura e mencionado redução nos valores de pH em ensaios de vários tipos de queijo, isso se deve ao fato de ter ocorrido degradação da lactose pelas bactérias lácticas adicionados, e obtenção de produtos finais, como CO₂ e ácido láctico (NARIMATSU et al., 2003)

Entretanto Narimatsu et al., (2003), observou que em períodos de maturação mais elevado e observado um aumento de pH o que é característicos de ocorrer durante o período de armazenamento (após 30 dias), em virtude de diminuir o conteúdo de lactose presente no queijo, e principalmente por ocorrer proteólise, pela ação das enzimas presentes, vindas pela adição do coalho e as produzidas pelas bactérias (bactérias lácticas nativas ou adicionadas)

O pH controla no queijo o tipo de fermentação e as atividades das enzimas, diminui o seu valor no início do armazenamento, e como conseqüência aumenta a atividade das enzimas proteases bacterianas e as naturais do leite (CICHOSKI et al., 2007)

5.2.2 Acidez

O conhecimento dos índices de acidez titulável, em queijos, é indispensável na prática industrial para avaliação da qualidade do derivado. A acidez em nível elevado indica presença de microrganismos deterioradores e é causada, dentre outros fatores, pela inadequada conservação e/ou higiene inapropriada na matéria prima e derivados.

Os teores de médios de acidez g/100g de ácido láctico, dos queijos coalho, estão representados na tabela 6.

A tabela 6 mostra os valores médios das porcentagens de acidez. Para o ácido láctico houve diferença entre as amostras e dias. De acordo as análises estatísticas foi possível observar que os tratamentos com uso de culturas lácticas LL e LLA obtiveram o mesmo desempenho o que pode ser facilmente observado no estudo da média. No que se referem ao tempo houve um discreto aumento na concentração de ácido láctico. Esses resultados são perfeitamente aceitáveis, pois, LL e LLA são bactérias ácido lácticas do gênero *Lactococcus lactis ssp. lactis* e *Lactococcus lactis* (atípico), respectivamente, assim como os grupos LLC e LLCA são bactérias ácido lácticas do gênero *Lactococcus lactis ssp. cremoris* e *Lactococcus lactis ssp. cremoris* (atípico) respectivamente.

Tabela 6 – Valores de Acidez dos Queijos de Coalho ao longo do período de maturação

GRUPO	MÉDIA	DP		DIA	MÉDIA	DP
C	0,25	0,05	a			
LL	0,39	0,12	b	1º	0,19	0,07
LLA	0,39	0,09	b	10º	0,26	0,08
LLC	0,21	0,05	c	20º	0,32	0,12
LLCA	0,17	0,05	c	30º	0,37	0,14

C = Controle

LL = *Lactococcus lactis ssp. Lactis*;

LLA = *Lactococcus lactis* (atípico);

LLC = *Lactococcus lactis ssp. Cremoris* e

LLCA = *Lactococcus lactis ssp. cremoris* (atípico).

$$Y = 0,1940 + 0,0059X$$

$$R^2 = 0,30$$

Segundo Fox et al. (1993), durante a maturação, a estabilidade do queijo e da sua vida de prateleira é determinada pela presença de ácido láctico, redução da atividade e do potencial de oxido – redução e pela presença de bacteriocinas produzidas por microorganismos responsáveis pela fermentação.

5.2.3 Umidade (%)

Os resultados médios dos teores de umidade (%) dos queijos experimentais elaborados com diferentes culturas lácticas endógenas e sem o uso de cultura láctica, encontram-se na tabela 7.

Segundo o padrão de umidade determinado pelo Mercosul, os queijos podem ser classificados como de baixa umidade, com até 35,9%; de média umidade, entre 36 e 45,9%; de alta umidade entre 46,0 e 54,9% e de muito alta umidade, com umidade maior que 55% (MERCOSUL, 1996).

Tabela 7 – Valores de Umidade (%) dos queijos Coalho ao longo do período de maturação

GRUPO	MÉDIA	DP		DIA	MÉDIA	DP
C	41,34	5,46	a	1º	49,18	2,52
LL	48,24	4,83	b	10º	47,33	2,26
LLA	47,22	3,9	b	20º	44,13	3,89
LLC	44,99	3,79	c	30º	39,57	3,21
LLCA	44,43	4,24	c			

C = Controle

LL = *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis*;

LLA = *Lactococcus lactis* (atípico);

LLC = *Lactococcus lactis* ssp. *Cremonis* e

LLCA = *Lactococcus lactis* ssp. *cremonis* (atípico).

$$Y = 0,150,6700 - 0,3554X$$

$$R^2 = 0,64$$

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos (BRASIL, 1996), no primeiro dia de maturação, os queijos foram classificados com alta umidade. Porém quando avaliados no 30º dia de maturação classificaram-se quanto ao teor de umidade como sendo de média umidade.

Quando comparam os resultados dos tratamentos nos diferentes períodos de maturação observamos que fica evidente redução no teor de umidade dos queijos observadas no 1º dia de maturação para o 30º dia de maturação (tabela 7), conseqüentemente situação inversa ocorreu com o teor de sólido presente nos queijos. A maturação dos queijos implica importantes alterações nas suas

características físico químicas, microbiológicas e organolépticas, devido à perda de umidade e aumento da proteólise e lipólise (MENSOZA E OYON, 2002; MARTINS, 2006).

De acordo com o regulamento técnico de identidade e qualidade de queijo coalho, estes são classificados como sendo de média e baixa umidade. Sendo assim os queijos experimentais estão dentro dos padrões estabelecidos pela legislação (BRASIL, 2001). Nassu et al (2001 e 2003), encontraram para o queijo coalho artesanal fabricado no Ceará e no Rio Grande do Norte valores para umidade de 43,1%, e 43,77%. De acordo com Nassau et al (2001), a diferença de umidade pode estar na formação e no manuseio da coalhada que afetam a sua habilidade de reter umidade, outra etapa que pode influenciar os teores de umidade é o tempo de prensagem, que segundo estes autores diferem muito entre produtores.

Em trabalhos realizados por Cavalcante (2005) e Gondim (1995), foi observado que a redução da umidade é mais rápida para queijos Coalho, maturados a temperatura ambiente. A perda excessiva de umidade influencia nas características sensoriais do queijo, além de provocar a perda de peso.

A umidade é necessária para as atividades metabólicas dos microrganismos. Diminuindo o teor de umidade do queijo diminui também a fermentação das lactoses (FERREIRA, 2004). Segundo Furtado (2002), o teor de umidade é um fator que afeta a fermentação aromática. O teor de umidade do queijo além de afetar sua consistência, tem grande influência sobre as modificações físico-química que ocorrem ao longo do período de armazenamento e conseqüentemente a maturação (SBAMPATO et al., 2000). O emprego de aditivos alimentícios que venham a aumentar o conteúdo de umidade nos queijos com baixo teor de gordura é importante, uma vez que melhoram a textura e o rendimento (SILVA e VAN DENDER, 2005).

Hydamaka et al. (2001) verificaram que queijos com conteúdo de umidade residual relativamente mais alta eram considerados mais macios, segundo análise de júri formado por 6 provadores experientes.

5.2.4 Compostos Nitrogenados (%)

Os valores médios de Proteína Bruta dos queijos experimentais elaborados mediante a adição de culturas acidam lácticas endógenas e elaborado sem adição de culturas lácticas endógenas no 1º, 10º, 20º e 30º dia de maturação, estão expostos na tabela 8.

A porcentagem de proteína bruta variou de LL 15,73% a C 19,16%, no primeiro dia de maturação e LL 17,69 a LLC 23,51% no 30º dia de maturação,

Tabela 8 – Valores de Proteína Bruta dos queijos Coalho ao longo do período de maturação

	C		LL		LLA		LLC		LLCA	
DIA	MEDIA	DP	MEDIA	DP	MEDIA	DP	MEDIA	DP	MEDIA	DP
1º	19,16	0,06A	15,73	0,01B	18,71	0,19C	17,73	0,44D	16,98	0,38E
10º	21,15	0,12A	15,46	0,25B	18,58	0,01C	22,62	0,06D	19,91	0,12E
20º	22,43	0,06A	17,11	0,19B	20,22	0,06C	20,75	0,01A	20,98	0,12D
30º	22,58	0,12A	17,69	0,12B	22,58	0,12A	23,51	0,19C	21,29	0,06D

Médias seguidas de mesma letra na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância

C= Controle

LL = *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis*;

LLA = *Lactococcus lactis* (atípico);

LLC = *Lactococcus lactis* ssp. *Cremonis* e

LLCA = *Lactococcus lactis* ssp. *cremonis* (atípico).

$$C: Y = 19,5345 + 0,1181X \quad R^2 = 0,87$$

$$LL: Y = 15,3302 + 0,0755X \quad R^2 = 0,81$$

$$LLA: Y = 17,9215 + 0,1379X \quad R^2 = 0,86$$

$$LLC: Y = 18,9559 + 0,1772X \quad R^2 = 0,71$$

$$LLCA: Y = 17,6148 + 0,1427X \quad R^2 = 0,82$$

De todos os compostos presentes na massa do queijo, a proteína é aquele que merece maior destaque, pois é o principal responsável pela elasticidade, textura e formação de compostos que caracterizam o flavor e o aroma do queijo após a proteólise (ECK, 1987). Segundo WOLFSHOON-POMBO (1983), As mudanças durante a maturação são designadas pela sua “extensão” e “profundidade” de proteólise.

Contudo é possível observar visualmente que houve um discreto aumento na porcentagem de proteína bruta ao longo dos períodos de maturação para todos os tratamentos, entretanto todos os tratamentos tiveram diferença significativa nos teores percentuais de proteína bruta em todos os tempos, com exceção dos

tratamentos C e LLC no vigésimo dia de maturação, assim como o tratamento C e o LLA no trigésimo dia de maturação.

5.2.5 Índice de Extensão de Maturação (IEM) e Índice de Profundidade de Maturação (IPM).

A proteólise é o principal e mais complexo evento bioquímico que ocorre durante a maturação da maioria das variedades de queijos, dando origem a numerosos produtos, como peptídeos, cetonas e aminoácidos livres, que irão garantir o sabor, aroma e textura característico dos queijos, várias enzimas atuam nesse processo, principalmente as microbianas (GUTIRREZ, 2004; SIHUFÉ ET al., 2005;. MARTINS, 2006).

O índice de extensão de maturação (IEM) é resultado da ação proteolítica das enzimas do coalho sobre a caseína do queijo, liberando peptídeos de alto peso molecular. Este índice é um fator de grande importância na composição final e na qualidade do produto, caracterizando-se pela quantidade de substância solúvel na fase aquosa dos queijos (WOLFSHOON-POMBO e LIMA, 1999).

O índice de profundidade de maturação (IPM) tem a finalidade de verificar a formação de substâncias de baixo peso molecular acumuladas durante o período de maturação, principalmente por causa de ação proteolítica das enzimas microbianas sobre compostos nitrogenados oriundos da degradação da caseína (GUTIERREZ et al., 2004; MARTINS, 2006). Compostos característicos dessa degradação são os aminoácidos, oligopeptídeos e aminas (SILVA et al., 1995).

A evolução dos índices de extensão de maturação e índice de profundidade de maturação (proteólise) dos queijos ao longo de 30 dias de estocagem em câmara fria (10 ± 2), estão apresentadas nas tabelas 9 e 10 respectivamente.

Os índices de extensão de maturação encontrados neste estudo mostram que para as amostras LL e LLA foram crescentes, com médias que variam de 3,95 a 19,05 % apresentando os maiores valores de extensão com 30 dias de maturação LL 19,05 e LLA 17,94 %, comportamento inverso foi observado para as demais amostras C, LLC e LLCA que apresentou tendência crescente até o 10º dia de maturação e posteriormente decrescente. Observando-se os menores valores de

extensão com 30 dias de maturação para a amostra LLC 8,74 %. Mourão (2007) encontrou comportamento e valores de extensão de 8,66 % para queijos de Coalho produzidos mediante adição de culturas ácido lácticas endógenas armazenados em câmara frigorífica (10 ± 2 °C).

Para as amostras C não houve diferença significativa ao longo do período de maturação, esses foram semelhantes aos obtidos por Perez (2005) que não verificou variação ao longo do período de armazenamento de queijos de coalho produzidos artesanalmente. Os índices encontrados pelo referido autor foram considerados baixos, o que é uma característica importante para o queijo de coalho, pois contribui para que o produto seja firme, com baixa capacidade de derretimento, permitindo sua utilização na forma grelhada.

Tabela 9 – Valores do Índice de extensão de maturação dos queijos Coalho ao longo do período de maturação

	C		LL		LLA		LLC		LLCA	
DIA	MEDIA	DP	MEDIA	DP	MEDIA	DP	MEDIA	DP	MEDIA	DP
1º	5,56	0,02A	4,52	0,01B	3,95	0,63BC	3,40	0,51C	4,72	0,85AB
10º	8,92	0,69D	11,68	0,13C	13,17	0,06B	12,77	0,04B	14,51	0,09A
20º	9,90	0,03D	19,02	0,03A	14,76	0,69B	9,76	0,01D	12,53	12,53C
30º	9,10	0,40D	19,05	0,35A	17,94	0,84B	8,74	0,40D	10,59	0,06C

médias seguidas de mesma letra na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância

C= Controle

C $Y=6,5899+0,1171X$ $R^2=0,57$

LL = *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis*;

LL $Y=5,4170+0,5011X$ $R^2=0,94$

LLA = *Lactococcus lactis* (atípico);

LLA $Y=5,6797+0,4454X$ $R^2=0,85$

LLC = *Lactococcus lactis* ssp. *Cremonis* e

LLC $Y=6,7307+0,1272X$ $R^2=0,16$

LLCA = *Lactococcus lactis* ssp. *cremonis* (atípico).

LLCA $Y=8,2501+0,1534X$ $R^2=0,21$

Dessa forma podemos considerar que as amostras de queijos C, LLC e LLCA foram os que apresentaram melhor desempenho quanto ao índice de extensão de maturação, pois, isso caracteriza que essas amostras terão baixa capacidade de derretimento quanto submetido temperaturas elevadas, qualificando-as para serem consumidos assados no espeto.

A maturação dos queijos corresponde à fase de transformações físicas, químicas e microbiológicas, que se processam tanto na periferia como no interior da massa, sob a ação de enzimas, a maior parte de origem microbiana (PERRY, 2004).

As enzimas presentes na maturação dos queijos podem ter, varias origens (FOX et al., 1993) e podem atuar conjuntamente de acordo com o processo de fabricação estabelecido. Desde as naturais do leite (endógenas) como as produzidas pelas culturas starter.

Tabela 10 – Valores do Índice de profundidade de maturação dos queijos Coalho ao longo do período de maturação

	C		LL		LLA		LLC		LLCA	
DIA	MEDIA	DP	MEDIA	DP	MEDIA	DP	MEDIA	DP	MEDIA	DP
1º	5,56	0,18A	4,52	0,01AB	5,22	0,61A	4,01	0,06B	4,72	0,85AB
10º	5,54	0,02A	6,23	0,07A	4,72	0,02B	4,14	0,01C	6,02	1,36A
20º	6,72	0,04B	9,77	0,66A	5,22	0,61C	4,01	0,09D	6,28	0,57BC
30º	6,69	0,59B	16,15	1,31A	5,74	0,01BC	4,68	0,01C	6,57	0,51B

Médias seguidas de mesma letra na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância

C= Controle

LL = *Lactococcus lactis ssp. Lactis*;

LLA = *Lactococcus lactis* (atípico);

LLC = *Lactococcus lactis ssp. Cremoris e*

LLCA = *Lactococcus lactis ssp. cremoris* (atípico)

C Y= 5,4148+0,0472X R2=0,70

LL Y=3,0949+0,3984X R2=0,93

LLA Y=4,8974+0,0217X R2=0,25

LLC Y=3,4936+0,0310X R2=0,37

LLCA Y=5,0014+0,0592X R2=0,45

Os teores de índice de profundidade de maturação (Tabela 10) apresentaram tendências crescentes no decorrer do período de maturação. O tratamento LL apresentou maior índice de profundidade de maturação no trigésimo dia de maturação, devido provavelmente, ao fermento láctico selecionado. Os resultados encontrados estão de acordo com Vakaleris e Price (1959), quando afirmam que a tirosina solúvel tende a aumentar mais rapidamente nos primeiros estágios de maturação e que existe boa correlação entre o teor de tirosina e o índice de maturação dos queijos. Augusto et al., (1998) trabalhando com a avaliação de métodos para quantificação da proteólise em queijo Prato, inoculado com

Lactococcus lactis ssp lactis, durante intervalos de 1, 15, 30 e 45 dias de cura, mantidos a temperatura de 5 °C, encontraram valores crescentes de profundidade de maturação na avaliação da maturação. Resultados diferentes foram observados por Lima (1996), Benevides (1999) em estudos realizados com queijo Coalho produzido a partir de leite pasteurizado, inoculado com cultura láctica industrial, maturado à temperatura ambiente e a temperatura de refrigeração e Cavalcante (2005), em estudo realizado com queijo Coalho produzido a partir de leite pasteurizado, inoculado com cultura láctica endógena, maturado à temperatura ambiente e a temperatura de refrigeração.

Segundo Kindstedt (1993) alguns queijos, logo após o seu processamento, apresentam dificuldade de derreter, uma que nesta fase suas proteínas apresentam alto peso molecular, o que as torna pouco solúvel. Após duas a três semanas essas proteínas são hidrolisadas, ficando mais solúveis o que proporciona capacidade de derretimento, até a mesma apresentar-se excessiva e tornar o queijo impróprio para o uso dependendo da finalidade. Essa característica é justificada com os resultados no teste de fritura das amostras de queijo de coalho (Quadro 2), no qual os queijos reprovados no referido teste apresentaram maior índice de proteólise, verificado neste trabalho.

Covacevich e Kosikowsski (1978), relata que um menor taxa de proteólise, resulta em uma massa mais firme características estas que, segundo Furtado (1999), interferem na capacidade de derretimento do queijo prejudicando-a.

De acordo com Furtado (1999), com o aumento do período de estocagem e aumento da proteólise ocasionam aumento na capacidade de derretimento de queijo, sendo que no caso do queijo padrão, este derretimento mostrou-se excessivo na última data de análise (60 dias), prejudicando até mesmo a aparência da pizza.

5.3 TESTE DE FRITURA

Os queijos coalhos fabricados com as culturas lácticas endógenas LL e LLA não foram aprovadas no teste de fritura a partir do décimo dia de maturação. Foram aprovados no teste de fritura os queijos elaborados com os as bactérias lácticas LLC, LLCA e C (controle). A cultura láctica LLC e LLCA foram as que apresentaram melhores resultados neste tipo de teste, com excelente aspecto em todos os tempos de maturação avaliados, conforme verificado na figura 8.

O derretimento do queijo coalho pode ser explicado pelos valores de pH das amostras (tabela 5) e alto teor de umidade (tabela 7). Munck (2004) reporta que em pH inferior a 5,7, o queijo coalho derrete e se deforma na presença de calor. Trabalhos realizados por Cavalcante (2005) foi constatado que é possível a elaboração de queijo coalho com pH inferior aos constatados por MUNCK (2004), utilizando-se cultura láctica endógena e o mesmo não apresentar derretimento quanto submetido a altas temperaturas. Os queijos coalhos elaborados com a cultura láctica LLC e LLCA não apresentaram características de derretimento, e o valor médio de pH foi de LLC 5,6 e LLCA 5,9 e obteve valores médios de 5,73 no 1º dia e 5,45 no 30º dia de maturação, verificado na tabela 5.

Nos primeiros estágios de maturação, o queijo é duro, devido a presença de paracaseinato dicálcico, mas derrete ou torna-se filamentosos se for aquecido. O aumento da concentração de ácido láctico na coalhada é responsável pela solubilização do cálcio, com conseqüente formação de paracaseinato de monocalcício, o que apresenta solubilidade em água salgada morna, boas propriedades de elasticidade e fusão uniforme durante aquecimento (BENEVIDES, 1999).

A propriedade do derretimento é desejável em queijo coalho destinado à elaboração de alguns pratos típicos do Nordeste do Brasil, como baião – de – dois e tapiquinha. Quando destinado para o preparo assado ou frito, o não derretimento do queijo coalho constitui uma propriedade importante, dessa forma pode-se afirmar que os queijos experimentais formulados mediante adição das culturas lácticas LLC, LLCA assim como o queijo elaborado sem adição de culturas láctica são

recomendados ao consumo assado ou frito e os demais para saladas e outros pratos.

As culturas lática LLC e LLCA (*Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* e *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* (atípico)) respectivamente, apresentaram melhor desempenho para fabricação de queijo coalho para uso em espeto, todavia o queijo experimental LLC apresentou o melhor desempenho para este fim. Este resultado concorda com o observado por (CAVALCANTE, 2005) em teste semelhante, utilizando a mesma cultura lática para elaboração de queijo coalho.







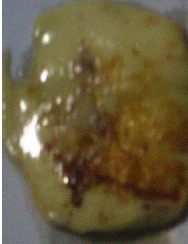





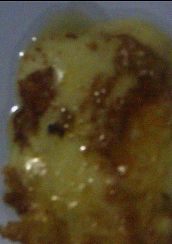

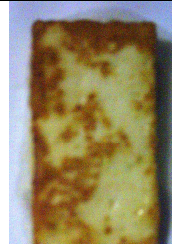

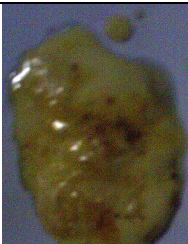

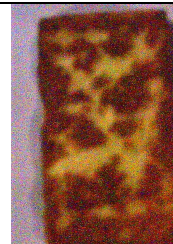
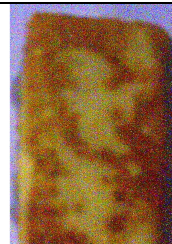
Tempo (dias)	C	LL	LLA	LLC	LLCA
1º					
10º					
20º					
30º					

Figura 8 – Aspectos visuais dos queijos coalho em diferentes tempos de maturação.

C = Controle; LL = *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis*; LLA = *Lactococcus lactis* (atípico); LLC = *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* e LLCA = *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* (atípico).

Na literatura, diversas evidências tem sido mostradas sobre o uso de bactérias ácido lácticas nativa sobre na elaboração de queijos. Estes trabalhos demonstraram que, em geral os queijos fabricados com fermentos endógenos nacionais apresentam qualidades semelhantes às dos queijos fabricados com fermentos importados. Constatou-se ainda que os queijos elaborados com fermentos endógenos obtiveram melhor aceitação (FURTADO, 1990; RAMOS et al., 1997; MENDIA et al., 2000; MACEDO et al., 2004; CAVALCANTE et al., 2004; CAVALCANTE, 2005).

5.4 TESTE DE ACEITAÇÃO

As características organolépticas de um alimento determinam a atração que ele exerce sobre o consumidor. Quando ele seleciona um produto que consome, não aplica um único critério em sua decisão. Sem diminuir a importância de aspectos sanitários e nutritivo, em condições normais no momento de escolher um alimento, a primeira e principal consideração é o aspecto sensorial, o que determina a importância de medir, avaliar ou quantificar sua qualidade nos alimentos (FIGUEIREDO, 2006). O aspecto de um produto, sua consistência e seu aroma, em menor ou maior intensidade, estimulam os sentidos da visão, audição, tato, olfato e paladar, produzindo reações que podem variar do desejo a rejeição. O consumidor atribui dessa forma, o nível da qualidade organoléptica ao alimento (DUTCOSKY, 1996).

Os resultados do teste de aceitação, com valores médios das notas atribuídas pelos provadores aos queijos coalho com 15 dias de maturação, são apresentados na Tabela 11.

Na figura 9 estão ilustrados os perfis sensoriais dos queijos coalho experimentais elaborados mediante o uso de leite pasteurizado com e sem adição de bactérias lácticas, onde o valor médio concedido pelos provadores, a cada atributo, é marcado no eixo correspondente. O centro da figura representa o ponto zero da escala utilizada na avaliação, enquanto a intensidade aumenta do centro para a periferia. GARRUTI et al., (2003) realizou um perfil sensorial para o requeijão cremoso e verificou que, dos descritores analisados, a cor, o aroma lácteo, gosto e

textura foram considerados os mais importantes para a determinação da qualidade do produto

Tabela 11 - Notas atribuídas ao teste de aceitação dos queijos Coalho elaborado com culturas lácticas endógenas com 15 dias de maturação.

Variáveis	Tratamentos					Média	CV
	C	LL	LLA	LLC	LLCA		
Cor	7,82 ^a	8,05 ^a	7,87 ^a	7,62 ^a	7,82 ^a	7,84	11,32
Odor	7,48 ^b	7,85 ^a	7,65 ^{ab}	7,42 ^a	7,65 ^{ab}	7,55	13,94
Sabor	7,20 ^a	7,85 ^a	7,82 ^a	7,52 ^a	7,10 ^a	7,50	16,21
Textura	7,67 ^{ab}	7,40 ^{bc}	8,27 ^a	7,57 ^{abc}	6,82 ^c	7,55	16,60
Media Geral	7,46	7,78	7,90	7,53	7,36		

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

C = Controle

LL = *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis*;

LLA = *Lactococcus lactis* (atípico);

LLC = *Lactococcus lactis* ssp. *Cremonis* e

LLCA = *Lactococcus lactis* ssp. *cremonis* (atípico).

Na tabela 11 é possível observar a aceitabilidade, em todos os atributos avaliados. A média geral de aceitação situou-se na escala hedônica, em “Gostei moderadamente” (figura 9). Os lotes de queijo não diferiram entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey no que se refere a Cor e Sabor, no entanto observou-se que todos os tratamentos apresentaram diferença significativa quando comparado a textura.

Quanto ao aspecto físico o LLA apresentou textura macia e recebeu uma das maiores notas neste quesito por parte dos avaliadores. A bactéria ácido láctica (*Lactococcus lactis* ssp.) quando empregada na elaboração do queijo coalho tem um papel importante e desejável na fabricação de queijos pela fermentação de açúcares, produção de ácido láctico e outros ácidos orgânicos que podem colaborar no aparecimento do sabor e aroma do produto (TEMPEL e JAKOBSEN, 1998)., no entanto os queijos confeccionado com estas cultura láctica foram reprovados no teste de fritura, não sendo recomendado para consumo assado no espeto ou frito.

No geral este resultado demonstrou que o consumidor, não encontrou diferença nos queijos desenvolvidos com leite pasteurizado mediante o emprego de culturas lácticas endógenas comparadas ao queijo elaborado sem a adição de culturas lácticas quanto a cor, odor e sabor maturados por 15 dias. Resultados semelhantes foram observados por Cavalcante (2005) quando propôs o processamento do queijo coalho artesanal elaborado com leite pasteurizado e cultura láctica endógena, maturados por 10 dias, a temperatura ambiente ($25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) e em câmara frigorífica ($10 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$).

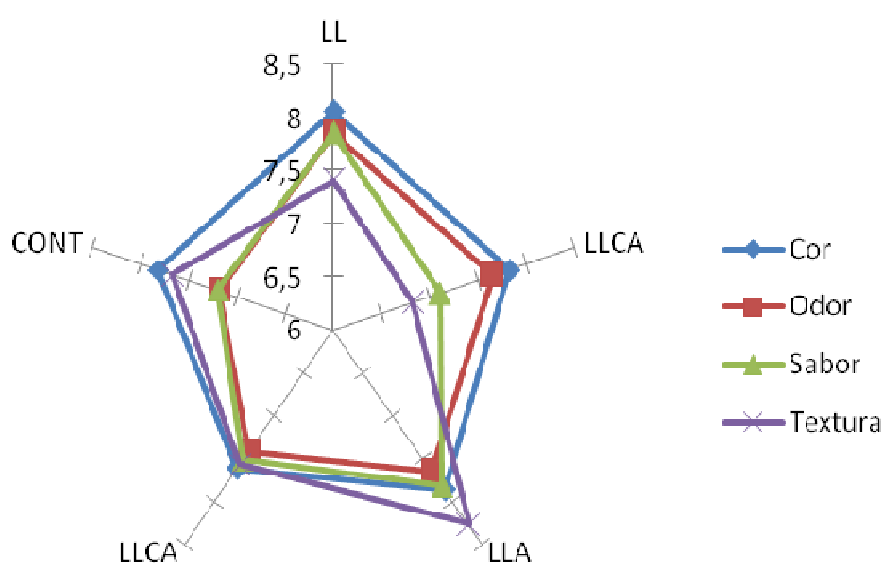


Figura 9 – Gráfico aranha, representando a média do perfil sensorial dos queijos experimentais.

5.5 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Dentre os produtos derivados do leite, o queijo é considerado um veículo freqüente de patógenos de origem alimentar e, em especial, os queijos frescos artesanais por serem, na maioria das vezes, elaborados a partir de leite cru e não sofrerem processo de maturação. A contaminação microbiana desses produtos assume destacada relevância tanto para a indústria, pelas perdas econômicas, como para a Saúde Pública, pelo risco de causar doenças transmitidas por alimentos (FEITOSA et al., 2003).

A obtenção higiênica do leite é o primeiro ponto crítico no processo de fabricação de queijos e de outros derivados, uma vez que os microrganismos podem ser introduzidos no produto (LANGE; BRITO, 2003; SCHOLZ, 1997). A contaminação microbiana de queijos de coalho assume destacada relevância em Saúde Pública ao se considerar que bactérias enterotoxigênicas e patogênicas como *S. aureus* e *Salmonella* são comumente encontradas em derivados lácteos (PERESI *et al.*, 2001). Vários estudos sobre a qualidade microbiológica de queijo de coalho relataram a ocorrência de microrganismos patogênicos e contagens de microrganismos deteriorantes em números que excedem, às vezes, os limites estabelecidos pela legislação (BASTOS *et al.*, 2001; FEITOSA *et al.*, 2003; NASSU *et al.*, 2000).

Os Resultados das análises de Coliformes 35 °C (NMP/g), Coliformes 45 °C (NMP/g), Contagem Padrão de bactérias mesófilas (UFC/g) e Salmonela dos queijos coalho experimentais no 1º e 30º dias de maturação estão na Tabela 12.

Os resultados das análises de coliformes totais e fecais indicaram valores inferiores a 5×10^2 NMP/g para todas as amostras de queijos experimentais, confeccionadas mediante o emprego de bactérias ácido lácticas endógenas, no primeiro dia de maturação, exceto para a amostra de queijo C. que apresentou valores NMP maior que 1.100/g tanto para coliformes totais como para coliformes fecais. No 30º dia de maturação as amostras LLA e CONT apresentaram valores NMP maior que 1.100/g e para coliformes totais e para coliformes fecais somente a amostras LLA apresentou valores NMP maior que 1.100/g.

Tabela 12 - Resultados das análises de Coliformes 35 °C (NMP/g), Coliformes 45 °C (NMP/g), Contagem Padrão de bactérias mesófilas (UFC/g) e Salmonela dos queijos coalho experimentais no 1º e 30º dias de maturação.

	Salmonela 25g		Coliformes 35 °C (NMP/g)		Coliformes 45 °C (NMP/g)		Contagem Padrão (UFC/g)	
	1º	30º	1º	30º	1º	30º	1º	30º
C	*	*	> 1.100	> 1.100	> 1.100	75	7,8 x 10 ⁵	72
LL	*	*	15	3	< 3	< 3	2,0 x 10 ⁶	< 10
LLA	*	*	210	> 1.100	4	> 1.100	2,9 x 10 ⁶	3,0 x 10 ⁴
LLC	*	*	43	43	4	43	2,8 x 10 ⁶	< 10
LLCA	*	*	75	46	75	23	2,5 x 10 ⁶	< 10

*Ausência de Salmonela

C = Controle

LL = *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis*;

LLA = *Lactococcus lactis* (atípico);

LLC = *Lactococcus lactis* ssp. *Cremonis* e

LLCA = *Lactococcus lactis* ssp. *cremonis* (atípico).

Resultados apresentados por Paiva e Cardonha (1999), Florentino e Martins (1999) e Borges et al. (2003), demonstraram níveis de 1100 NMP/g, 39000 NMP/g e 2400 NMP/g de coliformes fecais respectivamente, todos acima do estabelecido pela legislação em amostras de queijos de coalho. encontravam-se acima do limite aceitável que é 5,0 x 10² UFC/g de amostra para os coliformes termotolerantes segundo a RDC n°12 do Ministério da Saúde, (BRASIL, 2001).

Estes microrganismos quando presentes nos alimentos são indicadores de qualidade higiênico-sanitária deficiente durante o processamento ou em qualquer elo da cadeia principalmente nos casos em que são mais manipulados, desde o processo de ordenha até a preparação da massa, estes números muito elevados podem deteriorar o produto (KOTTWITZ e GUIMARÃES, 2003). A presença de coliformes totais e fecais em alimentos indica possivelmente contato direto ou indireto do alimento com material fecal, pois de acordo com Forsythe (2005) estão sempre associados a microrganismos de origem intestinal e a detecção de elevado número de bactérias do grupo dos coliformes fecais em alimentos é interpretada como indicativo da presença de patógenos intestinais, visto que a população deste grupo é constituída de alta proporção de *Escherichia coli* (PARDI et al., 1993).

Foi verificado, em todas as amostras a ausência de Salmonela, resultado diferente dos encontrados por Borges et al (2003), que detectaram a presença desse

microorganismo em amostras de queijo coalho produzido no estado do Ceará. Identificou-se a presença de bactérias mesófilas em todas as amostras avaliadas no primeiro dia de maturação LL = $2,0 \times 10^6$, LLCA= $2,5 \times 10^6$, LLA = $2,9 \times 10^6$, LLC = $2,8 \times 10^6$ e CONT = $7,8 \times 10^5$ (UFC/g). Entretanto as análises microbiológicas realizadas nos queijos experimentais com 30 dias de maturação, foi possível observar redução desses microrganismos nas amostras LL = < 10 , LLCA= < 10 , LLC = < 10 e CONT = 72 (UFC/g) excluindo-se o LLA que apresentou valores de $3,0 \times 10^4$ (UFC/g). Com exceção do LLA, os demais queijos experimentais no 30º dia de maturação encontram-se dentro do limite aceitável que é $5,0 \times 10^2$ UFC/g segundo a RDC nº12 do Ministério da Saúde, (BRASIL, 2001).

De acordo com a literatura, algumas estirpes de bactérias lácticas, podem inibir a multiplicação de microrganismos deterioradores por ação de bacteriocinas. Em Trabalhos realizados por Schaack e Marth (1998) onde se inoculou 103 UFC/mL de *Listeria monocytogenes* em leite desnatado juntamente com 0.1, 0.5, 1.0 e 5.0% de *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* ou *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. Os autores observaram um maior crescimento de *Listeria monocytogenes* com a diminuição da quantidade de cultura láctica. Garcia (2005), verificando a inibição do crescimento de bactérias patogênicas e seus produtos metabólicos por diferentes estirpes de bactérias lácticas, constatou inibição "in vitro" de *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* e *Salmonella enteritidis* sendo a inibição decorrida pela produção de ácidos orgânicos, peróxido de hidrogênio e bacteriocinas.

6 CONCLUSÃO

Para ácido láctico, umidade e pH, ocorreu diferenças entre amostras e dias, sem interação desses efeitos, daí teste de média para amostras e regressão para tempo.

Para as demais houve interação, com desdobramento da mesma fixando o tempo e comparando amostra pelo Tukey e, também fixando a amostra e regressão para o tempo (em cada amostra).

Os tratamentos LL e LLA foram reprovados no teste de fritura, não sendo estes recomendados para consumo frito ou assado.

Houve ligação entre a característica de derretimento com a umidade, acidez e proteólise das amostras de queijo de coalho.

Os queijos que apresentaram maiores valores de proteólise, apresentaram maior capacidade de derretimento.

Os queijos coalho confeccionados mediante a utilização de leite cru pasteurizado adicionados com cultura láctica, obteve boa aceitabilidade no teste de aceitação.

Foi verificado que algumas estirpes de bactérias lácticas, podem ter inibido a multiplicação de microrganismos deterioradores, comparados ao controle.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA FILHO, E. S.; NADER FILHO, A. Ocorrência de coliformes fecais e *Escherichia coli* em queijo tipo Minas frescal de produção artesanal, comercializado em Poços de Caldas, MG. **Revista Higiene Alimentar**, v. 16, n. 102-103, p. 71-73, 2002.

AMARAL, S. H. O. M. do. **Influência da espécie bacteriana e da temperatura da amostra no teste de redutase para leite, com azul de metileno e rezasurina**. 1985. 104 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1985.

AQUINO, F. T. M. **Produção do queijo de coalho no Estado da Paraíba: acompanhamento das características físico-química do processamento**. João Pessoa, 1983. 81 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal da Paraíba, 1983.

AUGUSTO, M. M, et al. Avaliação de métodos para quantificação da proteólise em queijo tipo prato. **Revista Indústria de Laticínios**, p. 65-69, maio/jun, 1998.

BASTOS, M. S. R., et al. Inspeção em uma indústria produtora de queijo tipo coalho no Estado do Ceará, visando a implantação das Boas Práticas de Fabricação. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 57, n. 321, p. 130-136, jul./ago. 2001.

BEHMER M. L. A. **Tecnologia do Leite** – 13^a ed. Revisada e atualizada – São Paulo: Nobel, 1999. 235p.

BENEVIDES, S. D. **Comportamento do queijo de qualho produzido com leite cru e pasteurizado, maturado a temperatura ambiente e sob refrigeração**. 1999. 132p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1999.

BENEVIDES, S. D., et al. Aspectos físico-químicos e microbiológicos do queijo de coalho produzido com leite cru e pasteurizado no estado do Ceará. **Revista Brasileira CEPPA**, Curitiba, v. 19, n. 1, p. 139-153, jan./jun. 2000b.

BENEVIDES, S. D., et al. Estudo bioquímico e sensorial do queijo de coalho produzido com leite cru e pasteurizado no estado do Ceará. **Revista Brasileira CEPPA**, Curitiba, v. 18, n. 2, p. 193-208, jul./dez. 2000 a.

BONASSI, I. A.; GOLDONI, J. S.; GOMES, M. C. G. influencia das bactérias lácticas mesofílicas: *streptococcus sremoris*, *streptococcus lactis*, *streptococcus diacetylactis* e *leuconostoc citrovorum* nas características do queijo tipo Minas. Acidez titulável e pH. **Revista do instituto do laticínio cândido tostes**, v. 36, p. 7-14, 1981.

BORGES, M.F., et al. Microrganismos patogênicos e indicadores em queijo de coalho produzido no Estado do Ceará, Brasil. **Revista Brasileira CEPPA**, v.21, n.1, p.31-40, 2003.

BORTOLI, A., et al. Caracterização dos produtores de leite conveniados a escola Federal de São Vicente do Sul-RS. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia: SBZ, 2005. CDROM.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa Nº51 de 18 de setembro de 2002. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite Tipo A, do Leite Tipo B, do Leite Tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 de set. de 2002. Secção 3.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria da Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. **MERCOSUL**. Regulamento técnico de identidade e qualidade de queijos fundidos ou reelaborados e queijos processado por UHT ou UAT. In: _____Regulamentos Técnicos de Identidade de Produtos Lácteos. Portaria 146 de 07 de março de 1996, anexo III. Brasília.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 30.691, de 29 de maio 1952. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Rio de Janeiro, 7 jun. 1952, p.10.785.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 30, de 26/06/01. **Regulamento técnico de identidade e qualidade de queijo de coalho**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2001. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br> >. Acesso em: 20 ago. 2008

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146, de 07/03/96. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 1996. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br> >. Acesso em: 22 ago. 2008

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146, de 07/03/96. **Regulamento Técnico Geral para Fixação de Requisitos Microbiológicos de Queijos**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 1996. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 22 ago. 2008

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº.368, de 04/09/97. **Regulamento Técnico sobre as Condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Elaboração para Estabelecimentos Elaboradores/Industrializadores de Alimentos**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de origem Animal. Métodos Analíticos Oficiais Físico-químicos para Controle de Leite e Produtos Lácteos. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. **Diário Oficial da União**. Dez. 2006. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 25 ago. 2008

BRULÉ, G.; LENOIR, J. A coagulação do Leite, In: ECK, André. **O Queijo**, v.1. Publicações Europa-América, Lavoisier, p. 31-55. 1987.

CAPLICE, E.; FITZGERALD, G.F. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. **Journal Food Microbiology**, v. 50, p. 131-149, 1999.

CAVALCANTE, J. F. M. Sistema de apoio à decisão na produção de leite e queijo coalho com segurança alimentar. 2005. 158p. Tese, (Doutorado) Universidade federal de Viçosa, 2005.

CAVALCANTE, J. F. M., et al. Isolados de bactérias lácticas de leite cru da região do vale do Jaguaribe, Ceará, Brasil. **Revista do instituto de laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, MG, v.3233, p. 106-109, 2003.

CAVALCANTE, J. F. M.; ANDRADE, N. J.; FURTADO, M. M. Processamento do queijo coalho regional empregando leite pasteurizado e cultura láctica endógena. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 27, p. 205-214, jan./mar. 2007.

CHAMBERS, J. V. The microbiology of raw milk. In: ROBINSON, R.K. **Dairy microbiology Handbook: The microbiology of milk and milk products**. 3. ed. New York: John Wiley and Sons, p.39-90, 2002.

CHIODA, T. P., et al. Inibição do crescimento de *Listeria monocytogenes* em queijo Minas Frescal. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinária**. v.101, n.557-558, p. 121-124, 2006.

CICHOSKI, A. J.; STEFFEENS, C.; BEROLDI, C. Bactérias lácticas e mesófilas, lactose, acidez, pH, atividade de água, umidade e cloretos em queijos prato elaborado com leite semidesnatado concentrado. **Revista do Instituto de Laticínios Candido testes**, v. 62, n. 355, p. 12-19, 2007.

CLEVELAND, J., et al. Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. **Journal Food Microbiologi**. v. 71, p. 1-20, 2001.

CORDOVIL, L. C. V. C. **Otimização da quantidade de fermento utilizado no fabrico de queijo flamengo tipo barra**. 2004. 51f. Monografia (Trabalho de Conclusão do Curso de Engenharia Alimentar) - Universidade Técnica de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia. 2004.

CURTIN, A. C.; GOBBETTI, M.; MCSWEENEY, P. L. H. **Journal Food Microbiologi**. V.76, p.231, 2002.

DAMASCENO JÚNIOR, J. B., et al. Mercados institucionais, agroindústria familiar e redesenho de sistemas produtivos na pré-Amazônia. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.2, n.2, p. 249, 2007.

DAVEY, G. P.; HEAP, H. A. Appearance of the arginine phenotype *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* 2204 following phage transduction. **Journal Food Microbiologi**. v. 39, p. 754-758, 1993.

DEMARIGNY, Y., et al. Influence of Raw Milk Microflora on the Characteristics of Swiss-Type Cheeses. I. Evolution of Microflora During Ripening and Characterization of Facultatively Heterofermentative Lactobacilli Lait. **Journal of Dairy Science**. n. 76, p. 371-378. 1996.

DINAKAR, P. E MISTRY, V. V. Growth and viability of *Bifidobacterium bifidum* in cheddar cheese. **Journal of Dairy Science**, n. 77, p.2854-2864, 1994.

DUARTE, D. A. M. **Pesquisa de *Listeria monocytogenes* em queijo de coalho produzido e comercializado no Estado de Pernambuco**. 2005. 81f. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) - Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco. UFRPE. Pernambuco: 2005.

DUARTE, D. A. M., et al. Pesquisa de *listeria monocytogenes* e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijo de coalho produzido e comercializado no estado de Pernambuco. **Arquivo do Instituto de Biologia.**, São Paulo, v.72, n.3, p.297-302, jul./set., 2005

DÜRR, J. W. Como produzir leite com qualidade. 2.ed. Brasília: SENAR, 2007. 36p

DUTCOSKY, S. D. Análise sensorial de alimentos. Curitiba. Editora Universitária Champagnat, 1996. 123p.

EARLY, Ralph. **The techonology of dairy products.** 2. ed. Ralph EARLY. Londres. 1998. 138p

ECK, André. **O queijo**, 1º Volume, coleção EUROAGRO, Publicações Europa – América, 1987, 336p.

EMBRAPA AGROINDÚSTRIA TROPICAL. **Projeto de Apoio ao Desenvolvimento de Tecnologia Agropecuária para o Brasil - PRODETAB.** Avaliação e Adequação de Técnicas de Produção para a Melhoria da Qualidade de Produtos Regionais Derivados do Leite Produzidos nos Estados do Ceará e Rio Grande do Norte (em execução) - Coordenadora do Projeto: Renata Tieko Nassu - Pesquisadora III.

Fabricação Caseira ou Artesanal de Queijos de Coalho - 2008. Disponível em: <http://www.cienciadoleite.com.br/queijodecoalho>. Acesso em: 18.03.2008.

FEITOSA, T. C. **Análise da sustentabilidade na produção Familiar no sudeste paraense:** O caso dos produtores de leite do município de Rio Maria. 2003. 83p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Para. Belém, 2003.

FEITOSA, T. **Estudos tecnológicos, físico-químicos, microbiológicos e sensoriais do queijo de coalho do Estado do Ceará.** 1984. 96p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, 1984.

FERREIRA, C. L. L. F. Produtos lácteos fermentados: aspectos bioquímicos e tecnológicos. Viçosa: UFV. **Cadernos Didáticos**, n.43, 112p, 2001.

FERREIRA, C. L. L. F. Fatores que afetam o crescimento de microrganismo em queijos. **Revista Leite e Derivados.** v. 13. n. 76, p. 91-96. Mar/Abr 2004.

FERREIRA, L. A. Le rôle de l'élevage bovin dans la viabilité agro-écologique et socio-économique des systèmes d'exploitations agricoles familiaux en Amazonie orientale brésilienne - le cas d'Uruará. 2001. 187p. Tese (Doutorado agricoles familiaux). Institut National Agronomique de Paris Grignon, Paris - França. 2001.

FERREIRA, R. N., et al. **Produção de leite na pecuária familiar, em função do número de vacas ordenhas, períodos do ano e contagem de células somáticas.** 2003. Disponível: <http://www.terraviva.com.br/IICBQL/p024>. Acesso: 11 mar. 2008

FIGUEIREDO, E. A. P. Pecuária e agroecologia no Brasil. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v.19, n.2, p.235-265. 2002.

FLORENTINO, E. R.; MARTINS, R. S. Características microbiológicas do queijo de coalho produzido no Estado da Paraíba. **Revista Higiene Alimentar**, v.13, n. 59, p. 43-48, 1999.

FONSECA, A. G. N.; SANTOS, A. B. A. Relevância num sistema de medição de desempenho como instrumento de apoio à tomada de decisão no gerenciamento da produção de leite. In: ENCONTRO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO, 23., 2003, Ouro Preto. **Anais...** Ouro Preto: ENEGEP, 2003. p. 8.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. A nova geografia do leite no Brasil. **Novos desafios para o leite no Brasil.** Embrapa Gado Leite. 2007, p. 11-24.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia de Segurança alimentar.** Trad. Maria Carolina Minardi Guimarães e Cristina Leonhardt. Porto Alegre, Artmed, p.424, 2005.

FOX, P. F. **Cheese: chemistry, physics and microbiology.** V. 1, General aspects. London U.K. 1993. Chapman e Hall, 2. ed. 1993. 601 p.

FREITAS, J. A.; OLIVEIRA, J. P.; GALINDO, G. A. R. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária do leite exposto ao consumo na região metropolitana de Belém-PA. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.64, n.2, p.212-218, 2005.

FURTADO, M. M. **A arte e a ciência do queijo.** 2. ed. São Paulo: Globo, 1990. 295p.

FURTADO, M. M. A formação de olhaduras em queijos semiduros através da fermentação de citrato. **Revista da indústria de laticínios.** P. 32-39, 2002.

FURTADO, M. M. Fermentação láctica: seu impacto sobre problemas de fabricação de queijos. **Anais do XII Congresso Nacional de Laticínios**, Juiz de Fora, MG, 1995. p. 309-324.

FURTADO, M. M. Fundamentos básicos da fabricação de queijos semi-cozidos. Viçosa: **Revista da Universidade Federal de Viçosa**. 1989. 164 p.

FURTADO, M. M. **Principais problemas dos queijos: causas e prevenção**. São Paulo: Fonte, 1999. 176p.

GARCIA, G. R. **Inibição de Bactérias Patogênicas por *Lactobacillus acidophilus***. 2005. 92p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) - Universidade Estadual Paulista, 2005.

GARDINER, G., et al. Development of a probiotic Cheddar cheese containing human-derived *Lactobacillus paracasei* strains. **Applied and Environmental Microbiology**, n.64, p.2192-2199, 1998.

GARRUTI, D. S., et al. Desenvolvimento do perfil sensorial e aceitação de requeijão cremoso. **Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas. v.23, n.3. Set. 2003.

GIRAFFA, G.; CARMINATTI, D. E.; NEVANI, E. Enterococci Isolated from Dairy Products: a Review of Risks and Potencial Technological Use. **Journal Food Protection**, v.60, n.6, p.732-738, 1997.

GODON, J. J., et al. Divergence of genomic Sequences between *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* and *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*. **Applied and Environmental Microbiology**, n.58, p. 4045 – 4047, 1992.

GUEDES-NETO, L. G., et al. *Lactobacillus acidophilus* e a indústria de laticínios. **Revista Leite e Derivados**. n. 66, p. 17-23, 2002.

GUERRA, M. M. E BERNARDO, F. M. A. Influência da microflora de cura na ocorrência de *Listeria* spp. em queijos tradicionais. **Revista Portuguesa Ciências Veterinárias**, v. 100, n. 555-556, p. 185-188, 2005.

GUERRA, M. M.; MCLAUCHLIN, J.; BERNARDO, F. A. *Listeria* in ready-to-eat and unprocessed foods produced in Portugal. **Journal Food Microbiology**, London, v. 18, n.4, p.423- 429, ago. 2001

GUTIERREZ, E. M. R., et al. Efeito da radiação gama nas características físico-químicas e microbiológicas do queijo prato durante a maturação. **Revista Ciência e tecnologia de Alimentos**, v.24, n. 4, p. 596-601, 2004.

HOLT, J. G. et al. **Bergey's manual of Determinative Bacteriology**. ed. 9. Baltimore: Williams e Wilkins. 1994. 784p

HUGAS, M. Bacteriogenic lactic acid bacteria for the biopreservation of meat and meat products. **Meat Sci.**, v. 49, Supplement 1, S139-S150, 1998.

IAI - IMPACT, APPLICATIONS, INTERACTIONS. **Projeto Cattle ranching, Land-Use and Deforestation in Brasil, Peru and Ecuador - Relatórios Pará, Maranhão e Acre**. Gainesville, USA: University of Florida. 2001. 40 p.

IDE, L. P. A.; BENEDET, H. D. Contribuição ao conhecimento do queijo colonial produzido na região Serrana do Estado de Santa Catarina, Brasil. **Revista Ciência agrotécnica**, Lavras, v.25, n.6, p.1351-1358, nov./dez., 2001

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo. Cap. 16. 1984. 371 p

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE, 2007, Disponível em <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 20 dez. 2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE, 2008, Disponível em <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 10 jan. 2009.

JAY, J. M. Foods with low numbers of microorganisms may not be the safest foods OR, why did human listeriosis and hemorrhagic colitis become foodborne diseases? **Dairy Food and Environmental Sanitation**, Ames, v.15, n.11, p.674-677, 1995.

JORGE, A. M. Produção de carne bubalina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 29, n. 2, p. 84-95. 2005.

KATIA, S. P. P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e Microbiológicos. **Revista Química Nova**, v.27. n.2. S. P. 2004.

KINDSTEDT, P. S. **Mozzarella and pizza cheese**. In: FOX, P. F. Cheese: chemistry, physics and microbiology. London: Elsevier Applied Publ. Science. 1993, p. 337-362

KOTTWITZ, L. B. M.; GUIMARÃES, I.M. Avaliação microbiológica de queijos Coloniais produzidos no Estado do Paraná. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.17, n.114-115, p.77-80, 2003.

Weimer, Utah State University. Disponível em: www.genome.jgi-psf.org/mic_curt.html. Acesso: 18 mar. 2008

LANGE, C. C.; BRITO J. R. F. **Influência da qualidade do leite na manufatura e vida de prateleira dos produtos lácteos**: papel das altas contagens microbianas. In: BRITO J. R. F; PORTUGAL, J. A (Eds.) Diagnóstico da Qualidade do Leite, Impacto para a Indústria e a Questão dos Resíduos de Antibióticos, Embrapa, Juiz de Fora. 2003, p. 117-138.

LAU, K. Y.; BARBANO, D. M.; RASMUSSEN, R. R. Influence of pasteurization of milk on protein breakdown in Cheddar cheese during aging. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 727-740, 1991.

LELIEVRE, J.; LAWRENCE, R. C. Manufacture of cheeses from milk concentrated by ultrafiltration. **Journal of Dairy Research**, v. 55, n. 3, p. 465-478, 1988.

LEROY, F.; DEVUYST, L. *Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry (Review)*. **Trends in Food Science and Technology**, v. 15, p. 64-78, 2004.

LIMA, M. H. P. Elaboração de queijo de coalho a partir de leite pasteurizado e inoculado com *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*. 1996. 97p. Dissertação (mestrado Ciência e Tecnologia de alimentos) - Universidade Federal do Ceará. 97 p. 1996.

LIMA, M. H. P., et al. Elaboração de queijo de coalho a partir de leite pasteurizado e inoculado com *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*: aspectos bioquímico e sensorial. **Boletim do Centro de Pesquisa e Produção de Alimentos (CEPPA)**, Curitiba, v.16, n.1, p. 37-44, jan/jun. 1998.

MACEDO, A. C. TAVARES, T. G., MALCATA, F. X. Influence of native lactic acid bacteria on the microbiological, biochemical and sensory profiles of Serra da estrada cheese. **Food Microbiology**. N. 21, p. 233 – 240, 2004

MACHADO, E. C. **Característica físico - químicas e sensoriais do queijo Minas artesanal produzido na região do Serro**, Minas gerais. 2002. 49p Dissertação (Mestrado) - Belo Horizonte , MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002.

MACHADO, R. C. **Estudo dos sistemas de criação da agricultura familiar através da abordagem das práticas: o caso de bovinos leiteiros da agricultura familiar na microrregião de Marabá-PA**. 2000. 181p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará, Belém – PA. 2000.

MARTINS, J. M. **Características físico-química e microbiológicas durante a maturação do queijo minas artesanal da região do Serro**. 2006. 191p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, 2006.

MC BREARTY, S., et al. Influence of two commercially available bifidobacteria cultures on Cheddar cheese quality. **International Dairy Journal**, n.11, p. 599-610, 2001.

MENDIA,C., et al. Effect of pasteurization and use of a native starter culture on proteolysis in a ewe's milk cheese. **Journal Food Control**, v. 11, p. 195-200, 2000.

MENDONZA, C.; OYÓN, R. Estudio comparativo de dos coberturas para queso llanero maduro. **Revista Faculdade de Agronomia**. Maracay, n. 28, p. 1-11. 2002.

MORENO, I. **Ocorrência e caracterização de bacteriocinas de Lactococos e sua utilização no processamento de queijo Minas Frescal**. 1996. 94p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade de São Paulo. 1996.

MUNCK, A. V. Queijo de Coalho – Princípios básicos da fabricação (Palestra). **Revista do Instituto de Laticínio Cândido testes**, juiz de Fora – MG, v. 59, n. 339, p. 13 – 15, 2004.

MURIANA, P. M. Bacteriocins for control of *Listeria spp.* in food. **Journal Food Protein**, Supplement, p. 54-63, 1996.

NARIMATSU, A., et al. Avaliação da proteólise e do derretimento do queijo prato obtido por ultrafiltração. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, p. 177–182, dez. 2003.

NASCIMENTO M. G. F., et al. Estudo transversal sobre alguns fatores de risco na contaminação natural de coliformes fecais em queijo minas frescal. **Revista Higiene Alimentar**, v. 15, n. 86, p. 55-59, 2001.

NASSU R. T., et al. Diagnóstico das condições de processamento de queijo de coalho e manteiga da terra no Estado do Ceará. **Revista Higiene Alimentar**, v.15, n. 89, p. 28-36, 2001.

NASSU, R.. T., et al. Diagnóstico das Condições de Processamento e Caracterização Físico-Química de Queijos Regionais e Manteiga no Rio Grande do Norte. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Fortaleza, CE, Dez, 2003.

OLIVEIRA, J. S. **Como fazer queijos**: fundamentos tecnológicos. Rio de Janeiro: Tecnoprint, , 1987, 146 p

ONER, Z., KARAHAN, A. G., ALOGLU, H. Changes in the microbiological and chemical characteristics of an artisanal Turkish white cheese during ripening. **Journal Food Science e Technology**. n. 39, p. 449-454. 2006.

PAIVA, M. S. D.; CARDONHA, A. M. S. queijo de coalho artesanal e industrializado produzidos no Rio Grande do Norte: estudo comparativo da qualidade microbiológica. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 61, p.33, 1999.

PARDI, M. C., et al. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**: tecnologia da sua obtenção e transformação. Goiânia: Universidade de Goiás, 1993. v. 1, 586 p

PECUÁRIA LEITEIRA. **Isto é Amazonia** - O Portal da Floresta Powered by Mambo Generated: 11 March, 2008. Disponível em: <http://www.istoeamazonia.com.br>
Acesso: 11 mar. 2009.

PEREIRA, D. B. C., et al. **Físico-químico do leite e derivados** – Métodos analíticos. 1. ed. Juiz de Fora - MG: oficina de Impressão gráfica e Editora Ltda., 2001. 190p.

PEREIRA, D. B. C.; SOUZA, H. M.; COSTA JR, L. C. G. Métodos analíticos para controle de qualidade de queijos. Juiz de Fora: Epamig/CT. **Revista do Instituto de Laticínio Candido Tostes**. s/d.

PERESI, J. T. M., et al. Queijo Minas tipo frescal artesanal e industrial: qualidade microscópica, microbiológica e teste de sensibilidade aos agentes antimicrobianos. **Revista Higiene Alimentar**, v.15, p.63-70, 2001.

PEREZ, R. M. **Perfil sensorial, físico-químico e funcional de queijo de coalho comercializado no município de Campinas**. 2005. 122p. Dissertação (mestrado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, 2005.

PERRY, K. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Revista Química Nova**, v.27, n. 2, Mar/Abr, 2004.

PIMENTEL FILHO, N. J., et al. modulação de parâmetros microbiológicos e do pH pelo cloreto de sódio, no fermento endógeno utilizado na produção de queijo Minas artesanal do Alto Paranaíba. **Revista do Instituto de Laticínio Candido Tostes**. Juiz de Fora, MG, v. 60, n. 345. p. 295 – 298, Jul./Ago. de 2005.

PINHEIRO A. J. R., MOSQUIM, M. C. A. V. **Processamento de leite de consumo**. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Tecnologia de Alimentos. Viçosa. 1991. **Apostila**

POCCARD CHAPUIS, R., et al. A cadeia produtiva do leite: uma alternativa para consolidar a agricultura familiar nas frentes pioneiras da Amazônia Oriental? In IV ENCONTRO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE SISTEMAS DE PRODUÇÃO. BELÉM, 2001. **Anais...** Belém: Sociedade Brasileira de Sistemas de Produção, 2001. p.1 - 16.

RAMOS, E.; GAUDIER, F. L.; HEARING, L. R.; DEL VALLE, G. O.; JENKINS, S and BRIONES, D. **Group b Streptococcus colonization** in pregnant diabetic women. *Obstet e Gynecol*, v. 2, n. 89, p. 257-260, 1997.

ROBINSON, R. K.; WILBEY, R. A **Fabricacion de queso**. 2. ed. Zaragoza, Espana: Editorial Acribia, S.A., 2002. 488 p.

ROY, D.; MAINVILLE, I. E.; MONDOU, F. Selective enumeration and survival of bifidobacteria in fresh cheese. **International Dairy Journal**, n.7, p. 785-793. 1997.

RYSER, E. T.; MARTH, E. H. Occurrence of *Listeria* in foods: milk and dairy foods. In: MILLER, A. J.; SMITH, J. L.; SOMKUTI, G. A. (Eds.). **Topics in industrial microbiology: foodborne listeriosis**. London: Elsevier, p.151-163. 1990. Cap. 23

SALAMA, M. S.; MUSAFIJA JEKNIC, T.; SANDINE, W. E.; GIOVANNONI, S. J. An ecological study of lactic acid bacteria: isolation of new strains of *Lactococcus* including *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*. **Jornal Dairy Science**. n. 78, p. 1004-1017. 1995.

SAMARŽIJA, D.; ANTUNAC, N.; LUKA HAVRANEK, J. **Taxonomy, physiology and growth of *Lactococcus lactis***: In: D. Samaržija et al: Taxonomy, physiology and growth of Mljekarstvo, v. 1, n. 51, p. 35-48, 2001.

SANTOS, M. V. **Manejo de ordenha e qualidade do leite**. São Carlos: SENAR/EMBRAPA, 2006.

SAS, Statistical Analysis System, versão 6.08. The SAS Institute, Cary, N.C., 1992.

SBAMPATO, C. G.; ABREU, L. R.; FURTADO, M. M. Queijo gorgonzola fabricado com leite pasteurizado por ejetor de vapor e HTST: parâmetros físicos-químicos e sensoriais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira-PAB**, v. 35, n. 1, p. 191-200, 2000.

SCHAACK, M. M.; MARETH E. H. Behavior of *Listeria monocytogenes* in skim milk fermentation with mesophilic lactic starter cultures. **Journal of Food Protection**, v. 51, p. 600-606.1998.

SCHILLINGER, U.; LÜCKE, F-K. Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 55, p. 1.901-1.906, 1989.

SCHOLZ, W. **Elaboración de queso de oveja y de cabra**. Zaragoza: ed. Acribia, 1997.

SEBRAE/CEARÁ. In: **Projeto de melhoria da qualidade do queijo de coalho produzido no Ceará**. Fortaleza / CE. 1998, 205 p.

SECRETARIA EXECUTIVA DE ESTADO DE AGRICULTURA, Efetivo pecuário do Pará 1996 -2005. Disponível em: <http://www.sagri.org.com.br>> Acesso em 07 nov. 2007.

SENA, M. J. **Perfil epidemiológico, resistência a antibióticos e aos conservantes nisina e sistema lactoperoxidase de *Staphylococcus* sp. isolados de queijos coalho comercializados em Recife-PE**. 2000. 75p. Tese (Doutorado) - Escola Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2000.

SETTI, M. C. **Programa pecuária leiteira “proleite”**. Manejo de ordenha e qualidade do leite, SENAR, São Paulo. 2008. 38p.

SILVA, A. T.; VAN DENDER, G. F. Produtos lácteos com teor reduzido de gordura: importância e estratégia para obtenção e otimização da qualidade sensorial. **Revista do instituto de Laticínios Candido Toste** v. 60, n.342, p. 3-12, 2005.

SILVA, C. R. B., et al. Maturação de queijo prato: comparação entre o produto integral e o produzido com teor reduzido de gordura. **Revista do instituto de Laticínios Candido Toste**, v. 60, n. 345, p. 235-237, 2005.

SILVA, R. P. P. E. Contagem de células somáticas e análises físico-químicas e microbiológicas do leite cru tipo C produzido na região do Agreste do estado de Pernambuco. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 23, n. 1, p. 89-95, 2006.

SILVA, V. R.; OLIVEIRA, V. L. **O Queijo do Marajó tipo “creme” derivado do leite de búfala: Uma alternativa para o desenvolvimento sustentável do agronegócio no município de Soure**. 2003. 70p. Monografia (Especialização em Empreendedorismo Rural e Desenvolvimento Sustentável), Universidade do Estado do Pará, Belém, 2003.

SILVA, W. O.; GROOTENBOER, C. S. Avaliação das práticas adotadas na produção de leite para uma fábrica de laticínios situada no Rio de Janeiro. **PUBVET**, v.2, n.9, 2008.

SOUSA, R. A., et al. Incidência de *Listeria Monocitogeneses* em Queijo de Coalho Artesanal, Comercializado a temperatura Ambiente, em, Fortaleza, CE. **Revista Higiene alimentar**, v. 20, n. 138, p. 66-69, Jan./Fev. 2006.

STILES, M.E., HOLZAPFEK, W.H. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. **International Journal of Food microbiology**, v.36, n.1, p.1-29, 1997.

STILES, M.E.; HASTINGS, J.W. Bacteriocin production by lactic acid bacteria. **Trends Food Science Technology**., p. 247-251, oct., 1991.

STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. New York: Academic Press. 1993, 308 p.

TOURRAND, J. F. et al. Produção leiteira em área de fronteira agrícola da Amazônia: o caso do município de Uruará, PA na Transamazônica. In: HOMMA, A. K. O. **Amazônia: meio ambiente e desenvolvimento agrícola**. Brasília: Embrapa-SPI/Belém: EMBRAPA - CPATU. 1998. p. 345-386.

VAKALERIS, D. G.; PRICE, W. V. A. rapid spectrophotometric method for measuring cheese ripening. **Journal Dairy Science.**, v. 42, p. 264- 276, 1959.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of food**. American public. Health Association, 1992.
VINDEROLLA, C. G.; MOCCHIUTTI, P. E.; REINHEIMER, J. A. Interactions among lactic acid starter and probiotic bacteria used for fermented dairy products. **Journal of Dairy Science**, n. 85, p. 721-729. 2002.

WAKELING, I.N.; MACFIE, H.J. Designing consumer trials balanced for first and higher orders of carry-over effect when only a subset of k samples from t may be tested. **Food Quality and Preference**, v.6, p.299-308. 1995.

WOLFSCHOON-POMBO, A. F. índice de proteólise em alguns queijos brasileiros. **Boletim do Leite**, Rio de Janeiro, n.661, p.1-8, 1983.

ZIEMER, C. J. E GIBSON, G. R. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies, **Science Dairy Journal**. n. 8, p. 473-479, 1998.

ZOCCAL, R., et al. **Mudanças no mapa da produção de leite no Brasil**. Novos desafios para o leite no Brasil. Embrapa Gado Leite, 2007, p. 25-34.