LUIZ RONALDO DE ABREU

EFEITO DOS DIFERENTES NÍVEIS DE NITRATO DE SÓDIO ADICIONADO AO LEITE, NOS TEORES DE NITRATO E NITRITO DO SORO E DO QUEIJO PRATO AO LONGO DA MATURAÇÃO

Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura de Lavras, como parte das exigências do curso de Mestrado em Ciência dos Alimentos, para obtenção do grau de "Mestre".

ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA
LAVRAS - MINAS GERAIS
1 9 8 6

EFEITO DOS DIFERENTES NÍVEIS DE NITRATO DE SÓDIO ADICIONADO AO LEITE, NOS TEORES DE NITRATO E NITRITO DO SORO E DO QUEIJO PRATO AO LONGO DA MATURAÇÃO

APROVADA:

PROF. LUIZ CARLOS GONÇALVES COSTA
Orientador

Edson Clemente dos Santos.
PROF. EDSON CLEMENTE DOS SANTOS
Membro

PROF. ISMAEL ANTÔNIO BONASSI
Membro

À minha mãe, Germana

Aos meus irmãos

Aos meus sobrinhos

À minha esposa, Regina

A minha filha, Pollyanna

DEDICO

À memória de meu pai, Roque

e de meu irmão José Mauro

AGRADECIMENTOS

À Escola de Agronomia da Universidade Federal da Bahia pela oportunidade de realização do Curso de Mestrado.

À Escola Superior de Agricultura de Lavras, através do Departamento de Ciência dos Alimentos, pela acolhida e ensinamentos.

Ao Instituto de Laticínios "Cândido Tostes" da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - EPAMIG, Juiz de Fora, pela oportunidade de realização do trabalho de pesquisa em suas instalações industriais e em seus laboratórios.

À CAPES/PICD pela ajuda financeira concedida para a realização do curso.

À Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão - FAEPE, pela ajuda financeira para a impressão da tese.

Ao Prof. Luiz Carlos Gonçalves Costa, modelo de dedicação ao trabalho e ponto de apoio firme e constante, pela orientação segura e eficiente, sugestões, estímulo, amizade e confiança, imprescindíveis para a realização do curso.

Ao Pesquisador Múcio Mansur Furtado, pela idealização do trabalho, pela dedicada orientação e sincera amizade.

Aos Professores Drs. Edson Clemente dos Santos e Ismael Antonio Bonassi, pelas críticas e sugestões, valiosas para o aperfeiçoamento deste trabalho.

Ao Pesquisador Alan Frederico Wolfschoon-Pombo, pela valiosa colaboração ao trabalho e sincera amizade.

Aos Professores Agostinho Roberto de Abreu, Paulo César Lima e Ruben Delly Veiga, pela valiosa orientação no processamento e análise estatística dos dados.

Ao Professor Eufêmio Steiner Gomes Juste Júnior pelos primeiros e constantes incentivos, decisivos em nosso direcionamento profissional.

À Professora Eliana Pinheiro de Carvalho pela valiosa colaboração e sincera amizade.

A todos os Professores do Departamento de Ciência dos Alimentos pela amizade e pela oportunidade de crescimento durante o curso.

Ao amigo Jorge Fernando Guerreiro pela sua valiosa colaboração e inestimável amizade, indispensáveis à realização do curso.

Aos amigos Alino Matta Santana, Anacleto Ranulfo dos Santos e José Carlos R. de Carvalho, pelo apoio, colaboração e sincera amizade.

Ao amigo Ricardo Luís Cardoso, a quem devemos a realização do curso.

Ao pessoal do Laboratório de Controle Físico-Químico do Instituto de Laticínios "Cândidos Tostes": Anna Paola E.F. Pinto, Diogo L.S. Costa, João Pedro M.L. Nelo, Juvelino e Marcelo L. Sobral, pela amizade e colaboração durante o trabalho.

Aos amigos Jorge Luiz F. Ribeiro e Marco Antonio M. Furtado pelas suas valiosas colaborações e sincera amizade.

À secretária do D.C.A., Maristela Carvalho da S. Malves pelas inúmeras vezes em que nos prestou sua colaboração.

Aos funcionários da Biblioteca Central da ESAL, pela colaboração e boa vontade.

À Celeste Aída Maciel pelo paciente trabalho de datilografia.

Aos nossos sogros, Augusto P. da Silva e Maria R. da Silva pela colaboração e amizade.

A todos os funcionários do D.C.A. pelo amistoso convívio durante o curso.

A todos os amigos do curso de Mestrado, pelo apoio, espírito de coleguismo, pela agradável convivência e amizade demonstrados durante nosso convívio.

A todos que, direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Luis Ronaldo de Abreu, filho de Roque Hipólito de Abreu e Germana de Paiva Reis, nasceu na cidade de Nazareno, M.G. em 14 de dezembro de 1955.

Concluiu o curso de 1º grau na Escola Estadual Tiradentes em Lavras, MG., e o 2º grau na Escola Estadual Dr. João Batista Hermeto em Lavras, MG.

Em julho de 1980 obteve o título de Zootecnista pela Escola Superior de Agricultura de Lavras.

Foi Administrador do Setor Pecuário da Empresa Agropecuária Kaaghuy Poty, no Departamento de Kanendiju, Paraguai, de setembro de 1980 a setembro de 1981.

Em maio de 1982 foi selecionado através de Concurso Público na Universidade Federal da Bahia, sendo contratado como Professor Auxiliar de Ensino na Disciplina "Tecnologia de Produtos de Origem Animal".

Em fevereiro de 1984, iniciou o Curso de Mestrado em Ciência dos Alimentos na Escola Superior de Agricultura de Lavras, MG., concluindo-o em abril de 1986.

SUMÁRIO

Página

LISTA DE TABELAS

TABELA Página

LISTA DE FIGURAS

1. INTRODUÇÃO

De todos os derivados do leite, o queijo é o que mais se difundiu pelo mundo e o que recebeu maiores modificações na técnica de elaboração, dando como conseqüência as centenas de tipos, que hoje conhecemos.

Fabricado com o leite de quase todos os mamíferos, porém mais freqüentemente com o de vaca, cabra, ovelha e búfala, é considerado uma excelente fonte de cálcio, fósforo e proteínas. Seu período de conservação é muito superior ao do leite e por ser um produto que possui muitas variedades, oferece ao consumidor possibilidade de escolher, dentre muitos, aquele que melhor lhe convier.

Até a metade do século XIX, a indústria queijeira não apresentou grandes progressos, sendo poucas as variedades produzidas e rudimentares as técnicas empregadas, SOUZA (75). A partir de então, com o desenvolvimento de certas áreas da ciência, correlatas à indústria de laticínios, principalmente a microbiologia, química, mecânica e zootecnia, as técnicas foram aperfeiçoadas, com novos tipos e melhores produtos lançados no mercado.

No Brasil, esta indústria começou a se desenvolver apenas na década de 30. Em virtude da grande extensão territorial e carência de vias de comunicação da época, a fabricação de queijos se tornou um meio mais lucrativo de exploração leiteira, SOUZA (75).

Dentre os tipos de queijos mais consumidos e existentes em maior quantidade no Brasil, e principalmente na Região Sudeste, destacam-se o queijo Prato, a Muzzarela e o Minas, BRASIL (11).

O queijo Prato é considerado um produto tipicamente nacional e teve sua origem a partir de adaptação de técnicas de fabricação de queijos dinamarqueses, holandeses e argentinos, firmando-se como um dos mais importantes queijos elaborados no Brasil. É obtido de leite pasteurizado, de massa semicozida, prensado e que tenha sido maturado no mínimo por 30 dias. As variedades Lanche, Cobocó e Esférico cabem nessa definição, apresentando as mesmas características, com variação somente no formato, RIBEIRO (70).

A sua produção no Brasil, em 1983, foi de 46.616 toneladas, correspondente a 27,7% da produção total de queijos. Entre 1970 e 1983, houve um aumento de 128,86% em sua produção, dados estes colhidos nos estabelecimentos sob inspeção federal, BRASIL (11). Estes dados estatísticos mostram claramente a posição de destaque ocupada pelo produto na indústria de laticínios do Brasil.

Vários defeitos podem ser apontados nos queijos; para o tipo Prato o estufamento (precoce ou tardio) é o mais comum e

mais importante. O estufamento tardio, que é a principal causa de perdas nesse tipo de queijo, aparece quase sempre após 10 dias de fabricação, conferindo ao produto um aspecto repugnante, além de provocar o aparecimento de sabor e aroma desagradáveis.

Embora nenhum levantamento oficial tenha sido feito até hoje no Brasil, o número de queijos que apresenta este defeito parece ser muito elevado, conforme se constata em observações práticas. Nem todo o produto com este defeito é perdido, já que parte deles é transformada em queijo fundido.

Para a prevenção do estufamento dos queijos, várias medidas vêm sendo adotadas; dentre elas, o uso de nitrato de sódio ou potássio é o mais viável às condições brasileiras, pelo baixo custo e simplicidade de aplicação. Adicionado ao leite, grande parte do nitrato sai no soro e o que fica na coalhada é reduzido enzimaticamente a nitrito. O oxigênio liberado durante a redução combina-se com o hidrogênio produzido pelos coliformes, formando água e o nitrito impede que os esporos de Clostridium germinem, evitando com isto os dois tipos de estufamento do produto.

No Brasil, o uso de nitrato é permitido em até 50 gramas para cada 100 litros de leite destinado à fabricação do queijo Prato, BRASIL (10). Existem controvérsias a respeito desta quantidade, pois o nitrato, por ser precursor de substâncias denominadas N-nitrosaminas, muitas das quais possuindo propriedades carcinogênicas, mutagênicas e teratogênicas, pode, se aplicado em excesso, causar danos à saúde, principalmente de crianças. En

tretanto, o nitrato adicionado ao leite é perdido em grande parte no soro e ainda não foi cientificamente confirmado que a adição dessa substância ao leite possa trazer algum problema à saúde de quem vier a consumir o produto resultante. Vários trabalhos científicos vêm confirmar que, mesmo em queijos elaborados sem a adição de nitrato, existe a presença de N-nitrosaminas.

E crescente o uso de soro de queijo na formulação de outros produtos alimentícios, SEA/FAO/UASD (15). Muitos destes alimentos são consumidos principalmente por crianças em idade escolar e, nesta fase, a ingestão de quantidades elevadas de nitrato pode causar sérios problemas ao seu desenvolvimento físico e mental.

O queijo prato ocupa posição de destaque na indústria de laticínios do Brasil. Acredita-se que grande parte de suas perdas, seja devido ao estufamento tardio. Deste modo, faz-se necessário um profundo estudo destas perdas, bem como o conhecimento das técnicas empregadas no controle de tais defeitos.

Face ao exposto, o presente trabalho teve como objetivos:

Determinar a quantidade ideal de $NaNO_3$ adicionada ao leite, que satisfaça ou atenda ao mínimo de NO_2^- exigido no queijo, para inibir o estufamento tardio.

Determinar o aproveitamento residual de NO_3^- no queijo em relação à quantidade original adicionada ao leite, visando eventualmente orientar a determinação legal da quantidade máxima permitida a adicionar.

Determinar a influência do teor de $NaNO_3$ adicionado ao leite para fabricação do queijo Prato, nos teores de NO_3^- e NO_2^- do soro, já que este é eventualmente empregado na elaboração de bebidas e similares.

Determinar a curva de redução de NO_3^- para NO_2^- e o desaparecimento do NO_2^- no queijo no decorrer da maturação, visando conhecer o período em que o queijo seria mais vulnerável ao estufamento tardio (teor mínimo de NO_2^-).

Determinar o grau de contaminação da salmoura, causado pelo uso contínuo da mesma, com queijos contendo NO_3^- e NO_2^-.

Determinar a influência exercida pelo nitrato, no processo de maturação do queijo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A indústria queijeira sofre, com demasiada freqüência, perdas importantes de produto elaborado. Isto acontece pela interferência de múltiplas circunstâncias adversas: pelo complexo, delicado e difícil empenho de lançar no mercado um produto de excelentes qualidades alimentícias e gastronômicas, como é o queijo. A importância dos defeitos é tão grande que, às vezes, implica na inutilização completa de todo o produto fabricado. Isto deixa claro a conveniência, para não dizer a necessidade, de se estudar sistematicamente as causas mais freqüentes dessas perdas e a adoção de medidas convenientes ao controle de tais defeitos, COMPAIRE FERNANDEZ (18).

Cada variedade de queijo possui uma série de características típicas, referentes a seu odor, sabor, cor, consistência, textura e aspecto geral que a distinguem de qualquer outra e dependem das condições de produção e da exatidão adotada no método de trabalho. Por outro lado, qualquer anormalidade, de uma ou mais características, acarretará defeitos de qualidade que tornarão o produto inferior ou pode torná-lo impróprio para o consumo, SEA/FAO/UASD (15).

Há defeitos que são inerentes e específicos de determinados queijos, enquanto outros são comuns a um grande número de tipos. Por outro lado, certas características consideradas como defeitos em alguns queijos, são típicas em outros, SEA/FAO/UASD (15).

Queijos de massa cozida e semicozida, elaborados com leite de alta carga microbiana, apresentam freqüentemente o defeito de estufamento, podendo este ser de dois tipos: se o estufamento ocorre na prensa, na salmoura, ou em alguns dias após sua elaboração, o defeito é denominado "estufamento precoce" e tem como causa a fermentação produzida por bactérias do grupo coliforme. Se o estufamento ocorre alguns dias após a fabricação, geralmente entre 10 e 60 dias, o defeito é denominado "estufamento tardio" e tem como causa a fermentação produzida por certas bactérias do gênero Clostridium, DOLEZÁLEK & VORÍSKOVÁ (21).

O estufamento precoce aparece nos primeiros dias após fabricação do queijo e é devido à fermentação da lactose com formação de gás. Uma vez consumida a lactose, seja por este tipo de fermentação, seja devido à fermentação ácido-lática, o fenômeno já não pode ser verificado após os três primeiros dias de fabricação. Esta fermentação pode, às vezes, ser notada no tanque de fabricação e, neste caso, os grãos de coalhada se tornam esponjosos, aflorando à superfície do soro, também pode ser verificada durante a prensagem e, neste caso, os pistões da prensa são levantados e empurrados pelo aumento de volume do queijo, SEA/FAO/UASD (15).

No controle do estufamento precoce, pode-se dispensar o uso de substâncias químicas. Este defeito pode ser evitado, com uma boa higienização da fábrica, pasteurização do leite e um rigoroso controle higiênico no processo de fabricação, FUNDAÇÃO CENTRO TECNOLÓGICO DE MINAS GERAIS (30).

O estufamento tardio se destaca como a principal causa de perdas na maioria dos queijos de massa cozida e semicozida, por sua gravidade e relativa freqüência. Por ser um defeito que se manifesta quando os queijos se encontram na câmara de maturação, compromete total ou subtotalmente estoques que podem incluir produções de vários dias, COMPAIRE FERNANDEZ (18).

Este defeito é causado por algumas bactérias do gênero Clostridium, que, durante seu crescimento na massa do queijo, produzem principalmente ácido butírico, CO_2 e H_2, KLETER, LAMMERS & VOS (52) e outros produtos que se formam em quantidades variáveis, como ácido acético, vestígios de álcool etílico e produtos solúveis de paracaseína, sendo estes últimos responsáveis por um sabor e odor ainda mais desagradáveis no queijo, COMPAIRE FERNANDEZ (18). O estufamento se dá, pelo acúmulo de CO_2 e H_2 na massa do queijo, EL-GENDY et alii (25).

O estufamento tardio dos queijos é na grande maioria das vezes causado pelo Clostridium tyrobutyricum (9, 18, 25, 27, 36, 39, 46, 51, 52, 57, 65), podendo também, segundo DONNELLY & BUSTA (22), ter como agente causal Clostridium butyricum, Clostridium sporogenes e mais raramente o Clostridium pasteurianum.

A célula do Clostridium tyrobutyricum é caracterizada por BERGEY'S (6), como sendo um bastonete reto, de 1,5 a 4,5 µm de comprimento, móvel, com flagelos peritrichios, com esporo oval, subterminal, gram-positiva, sendo sua temperatura ótima de crescimento 37°C. Segundo WALTER (84), seus esporos germinam numa faixa de pH entre 4,4 e 7,5 com uma faixa ótima entre 5,8 e 6,0. Não fermenta a lactose e sim os lactatos, com uma grande produção de gás, COMPAIRE FERNANDEZ (18) e HOISY et alii (46).

A célula do Clostridium butyricum, tem a forma de um bastonete, reto ou ligeiramente curvo, possui esporo oval, central a subterminal, móvel, com flagelos peritrichios, gram-positiva, tornando-se negativa em culturas velhas. Estas bactérias fermentam a lactose, sendo o lactato utilizado por algumas estirpes, WALTER (84). O Clostridium sporogenes tem a forma de um bastonete reto, móvel com esporo oval subterminal e são gram-positivos, BERGEY'S (6).

Estes microorganismos são anaeróbios, sendo seus esporos, particularmente os de Clostridium tyrobutyricum, encontrados no solo, ração, fezes, feno e principalmente silagem (18, 22, 46, 66, 69, 80). As fezes de animais alimentados com silagem possuem um número elevado de esporos de bactérias butíricas, pois, segundo KOSIKOWSKI & MOCQUOT (54), estes, após serem ingeridos com a silagem, são excretados com as fezes, não sendo destruídos no trato intestinal. Não há crescimento do número de microorganismos e todas as fezes, provenientes de animais alimentados ou não com silagem, contém esporos de bactérias butíricas.

Trabalhos realizados por KURSTEINER (55) mostram a presença de milhões de esporos por grama de fezes de vacas alimentadas com silagem e apenas de 10 a 400 por grama de fezes de vaca que não receberam este alimento.

Após vários estudos, KOSIKOWSKI & MOCQUOT (54) concluíram que o solo contém considerável número de esporos de Clostridium, capaz de produzir fermentação ácido-butírica e que um centímetro cúbico de solo de fazenda, com razoável conteúdo de esterco, contém uma média de 300 a 400 esporos, sendo que estes esporos podem ser ingeridos com a silagem ou com o pasto, passar pelo trato intestinal e serem excretados.

THOMÉ & SWARTLING (80), estudando bactérias butíricas em silagem, concluíram que a contagem desses esporulados nesse alimento depende do tipo de forragem empregada, do método e condições de colheita. Cita também que em uma silagem pobre, com pH elevado, devido a um baixo conteúdo de ácido lático, os esporos germinam, as bactérias se multiplicam e produzem ácido butírico, retornando à forma esporulada. Tal silagem, portanto, contém um número muito elevado desses esporulados.

Para MOREL (66), uma boa silagem não pode conter mais de 1.000 esporos de Clostridium por grama e o milho parece ser o material que melhor se comporta neste aspecto, pois produz uma boa fermentação lática, criando com isto um meio desfavorável à germinação dos esporos. KOSIKOWSKI & MOCQUOT (54) porém, afirmam que mesmo quando se fornece aos animais uma silagem de boa quali

dade, o conteúdo de esporos de bactérias butíricas em suas fezes é elevado.

Como citado anteriormente, nota-se que as fezes dos animais torna-se a mais importante fonte de esporulados que chegam ao leite. Partículas de fezes que caem no balde durante a ordenha e poeira levantada durante a varredura, também ajudam a elevar o número destes microorganismos no leite. Outro fator que contribui para isto é o fornecimento de alimentos às vacas e aos bezerros, durante a ordenha, COMPAIRE FERNANDEZ (18).

KOSIKOWSKI & MOCQUOT (54) salientam que as roupas e as mãos dos ordenhadores podem também ser veículos desses esporulados, sendo que isto depende muito dos hábitos higiênicos desses trabalhadores e que, geralmente, contaminação deste tipo, é mais encontrada em pequenas propriedades.

GRATZ (42) afirma que a pasteurização do leite não destrói os esporos das bactérias butíricas, como se acreditava, sendo este tratamento térmico, inclusive, um estimulante ao aparecimento de fermentação butírica no queijo.

O estufamento tardio constuma-se dar com mais freqüência nos queijos de massa cozida e semicozida, porque neles o dessoramento excessivo limita a fermentação lática, que se opõe em grande parte ao desenvolvimento das bactérias butíricas que se encontram no leite,COMPAIRE FERNANDEZ (18) e DEVOYOD (20).

O desenvolvimento de Clostridium no queijo depende, em parte, do número de esporos susceptíveis de se desenvolverem nes

te alimento e, em parte, de diferentes fatores próprios da tecnologia queijeira que favorecem o desenvolvimento dessas bactérias. Deste modo, queijos com pH relativamente elevado, longo tempo de maturação a uma temperatura de 14 a 15°C, umidade elevada e baixo conteúdo de sal, apresentam condições particularmente favoráveis ao desenvolvimento de bactérias butíricas, DEVOYOD (20).

THOME & SWARTLING (80), informam que na coagulação, virtualmente todos os esporos presentes no leite são retidos na coalhada e, conseqüentemente, passam para o queijo.

Trabalhos realizados por KOSIKOWSKI & MOCQUOT (54), e KURSTEINER (55) mostram que apenas 4 bactérias butíricas por quilograma de queijo são suficientes para causar o estufamento tardio do queijo, quando as condições são favoráveis à germinação de seus esporos.

NIEUWENHOF (67), afirma que em queijos Gouda e Edam, fabricados sem a adição de nitrato, a presença de apenas um esporo de bactéria butírica por mililitro de leite, seria suficiente para causar o estufamento. HOISY et alii (46), estabelecem o número de 200 esporos de clostridium por litro de leite, como sendo o número crítico que o leite, destinado à fabricação de queijos susceptíveis ao estufamento tardio, pode conter.

O Clostridium não causa o estufamento imediatamente após a fabricação do queijo, pois, necessita de um certo espaço de tempo para que certas condições, tais como, presença de lactato, pH, potencial de oxi-redução lhes sejam favoráveis, (22, 36, 51)

e para acumular uma certa quantidade de gás, o suficiente para causar o estufamento, CHAMBA (14).

Nem todos os tipos de queijos são susceptíveis ao estufamento tardio. Ementhal, Gruyère, Gouda e Edam são muito susceptíveis a este defeito, enquanto o Camembert não é afetado. Alguns tipos de queijos com massa de consistência intermediária como o Tilsit, oferecem graus variáveis de alteração, COMPAIRE FERNANDEZ (18) e KOSIKOWSKI & MOCQUOT (54).

Segundo COMPAIRE FERNANDEZ (18), a temperatura de cozimento da massa de alguns queijos cria um menor potencial de oxi-redução nos queijos e contribui para formar compostos mais facilmente assimiláveis pelas bactérias butíricas. Um outro fator a ser considerado é a presença de casca no queijo, pois esta retém o gás formado no interior da massa, provocando o seu estufamento, GALESLOOT (35). Em queijos de massa mole, sem casca, o gás escaparia rapidamente e a atividade do Clostridium não seria notada, KOSIKOWSKI & MOCQUOT (54). A redução no conteúdo de água do queijo durante a maturação é um fator importante na prevenção do estufamento tardio, devido a um aumento na concentração de sal (NaCl) desta água, sendo que a embalagem em cry-o-vac não permite esta redução de umidade, aumentando com isto o risco da germinação dos esporos de Clostridium, quando presentes no queijo, GALESLOOT (35).

Em alguns queijos estufados, as cavidades podem atingir 10 centímetros ou mais de diâmetro, provocando algumas vezes o

rompimento da casca do queijo. A forma e o tamanho das cavidades dependem da consistência da massa. Se o queijo estiver bastante duro, as aberturas se apresentam como gretas angulares, SEA/FAO/ UASD (15).

COMPAIRE FERNANDEZ (18) salienta que quanto mais precoce for o aparecimento do defeito, maiores serão as cavidades no interior do queijo.

O queijo Prato apresenta características que o colocam entre aqueles que possuem razoável tendência ao estufamento tardio, FURTADO & LOURENÇO NETO (32). É um produto de massa semicozida, lavada e salgada através de salmoura e, na maioria das vezes, embalado em cry-o-vac, FURTADO & WOLFSCHOON-POMBO (34).

GOODHEAD et alii (40) informam que embora o conteúdo de sal nos queijos susceptíveis ao estufamento tardio seja suficiente para prevenir a germinação de esporos de Clostridium, a penetração do sal, da superfície até seu interior é lenta, especialmente em grandes queijos nos quais a concentração de sal no centro dos mesmos demora a se igualar às outras partes. Trabalhos realizados por FURTADO & SOUZA (33), com queijo Prato de 2 quilos, utilizando a salga em uma salmoura a 17% de sal, mostram uma evolução gradativa na aquisição de sal por parte dos queijos, encontrando uma variação de 0,58% a 1,19% de NaCl num período de 12 a 72 horas.

A concentração de sal (NaCl) que previne a germinação dos esporos de Clostridium, não é a mesma para todas as espécies,

havendo diferenças até mesmo entre estirpes de uma mesma espécie, GALESLOOT (35).

Estudos realizados por VOS (82) mostraram que em queijos no qual a germinação dos esporos de Clostridium foi, por algum processo, inibida, ainda contém esporos dessa bactéria com seu número permanecendo, aproximadamente, constante durante a estocagem do queijo. GALESLOOT (35) informa que se este queijo for fundido, aumentando-se-lhe o conteúdo de água mais que o conteúdo de sal, a fermentação butírica poderá ocorrer neste queijo fundido.

Dentre as várias medidas empregadas na prevenção do estufamento tardio nos queijos, o uso de nitrato de sódio ou potássio, é um dos meios mais simples e eficiente, (1, 20, 38, 39, 40, 56, 63, 65, 67, 76, 84).

Para STEPHANY, ELGERSMA & SCHULLER (76), a adição de nitrato é indispensável na fabricação de queijos cuja salga é feita em salmoura. Segundo GOODHEAD et alii (40), esta adição se torna indispensável, principalmente em grandes queijos, porque nestes a concentração de sal no centro demora muito para se igualar às outras partes, ficando o produto vulnerável ao estufamento tardio. Este aditivo inibe o desenvolvimento do Clostridium quando a atividade de água da massa é alta e o teor de sal (NaCl) no interior do queijo é baixa, GALESLOOT (35).

Segundo NIEUWENHOF (67), mesmo quando a produção de leite é feita de forma higiênica, a adição de nitrato ao leite de fa

bricação de queijos susceptíveis ao estufamento tardio, deve ser considerada como uma necessidade tecnológica.

LANGEVELD (56), conduzindo experimentos de bactofugação, observou que em uma concentração de 0,9 esporos de Clostridium tyrobutyricum, por mililitro de leite, o uso da técnica só era eficiente no controle do estufamento tardio, quando se adicionava nitrato ao leite.

DEVOYOD (20) afirma que as doses de nitrato eficazes para evitar o estufamento tardio em queijos de massa semicozida, tais como o Gouda e o Edam, variam entre 5 e 20 gramas para cada 100 litros de leite, sendo desnecessário o emprego de quantidades maiores. GALESLOOT (35), estudando meios de controlar o estufamento tardio de queijos Edam, concluiu que o uso de 10 gramas de nitrato para cada 100 litros de leite, previne o desenvolvimento de bactérias butíricas, durante o período em que o sal ainda não penetrou completamente até o interior dos queijos. LANGEVELD (55) descreve estudos conduzidos no "Statens Forsogsmejeri at Hillerod", Dinamarca, em que o uso de 5 gramas de nitrato de sódio para cada 100 litros de leite foi o suficiente para evitar o estufamento tardio de queijos "Samsõe".

Quando se necessita da presença de nitrato nos queijos, faz-se necessária a adição deste ao leite de fabricação, pois, segundo GUIGAMP & LINDEN (44), os níveis de nitrato no leite cru são muito baixos. MATHIEU et alii (61) informam que estes níveis são da ordem de 0,3 a 0,5 miligramas por litro, ficando muito a-

quém dos níveis mínimos necessários ao controle do estufamento em queijos. NIJHUIS et alii (68) encontraram, para o leite cru, a média de 0,15 miligramas por litro, enquanto que, para o leite pasteurizado, a média foi de 0,38 miligramas por litro.

O nitrato em si não é o responsável pela prevenção do estufamento tardio dos queijos. Porém, uma vez adicionado ao leite, ele é reduzido enzimaticamente a nitrito, sendo este o inibidor da germinação dos esporos das bactérias butíricas (20, 35, 36, 37, 40, 46, 78), ficando o nitrato apenas como uma fonte disponível de nitrito, ROBERTS (70).

BERGERE & HERMIER (5), após vários estudos demonstraram que o nitrito, mesmo em quantidades muito pequenas, inibe a germinação dos esporos de Clostridium tyrobutyricum.

A redução de nitrato a nitrito é feita enzimaticamente, sendo a xantina oxidase (E.C. 1232) a principal enzima envolvida no processo (21, 36, 39, 67, 85).

A xantina oxidase é uma enzima presente no leite da maioria dos mamíferos, sendo sua principal fonte o leite de vaca (8, 13, 47, 86) e o fígado de bezerros, SCOTT (73). É uma enzima ferro-sulfúrica, contendo também flavina adenina dinucleotideo e molibdênio, METZIER (62). No leite esta enzima encontra-se em dois estados, livre e associada a membrana dos glóbulos graxos, constituindo cerca de 8% das proteínas existentes nestas membranas e sua atividade enzimática é acentuadamente maior quando se encontra no estado livre. Assim, a movimentação do leite, nos la

tões, sua passagem pelas bombas sanitárias e outros agentes, provocam a ruptura da membrana e sua consequente liberação, favorecendo sua atividade, o que resulta em melhorias no processo de redução do nitrato adicionado ao leite, BHAVADASAN (7).

KOSIKOWSKI & MOCQUOT (54) salientam que a pasteurização do leite destinado à fabricação de queijos foi, por muito tempo, considerada um meio de controlar o estufamento tardio; entretanto, na prática, o aquecimento do leite à temperatura de pasteurização favorece o desenvolvimento das bactérias butíricas e, segundo GALESLOOT (37), isto acontece devido a uma diminuição do potencial de oxi-redução do meio e a destruição de certa quantidade de xantina oxidase, principalmente a que se encontra livre no leite. FURTADO e LOURENÇO NETO (32) afirmam que, desta forma, é de fundamental importância um rigoroso controle do binômio tempo/temperatura na pasteurização do leite destinado à fabricação de queijos susceptíveis ao estufamento tardio.

Além da xantina oxidase, certas enzimas (nitratases), de origem microbiana, podem também fazer a redução do nitrato a nitrito, embora com menor intensidade, DEVOYOD (20). Estas enzimas podem ser produzidas por certas espécies de Lactobacillus, e pelas bactérias do grupo Coliforme, (17, 21, 67).

CROSBY & SAWYER (19) salientam que o modo preciso de inibição do estufamento tardio, através do uso de nitrato, não está completamente elucidado, mas que um número de fatores interde

pendentes estão envolvidos, como a concentração do nitrito e do sal comum, o pH do queijo, o rigor do tratamento térmico dado ao leite, o número de esporos presentes, entre outros.

VOS (82), estudando a influência do nitrato no potencial de oxi-redução do queijo, concluiu que o sal eleva este potencial, sugerindo que a inibição das bactérias butíricas está associada a esta elevação do potencial de oxi-redução do queijo. GALESLOOT (36), ao realizar o mesmo estudo, também encontrou um aumento do potencial de oxi-redução do queijo elaborado com leite adicionado de nitrato. Porém, seus estudos comprovaram que a inibição do estufamento não é devido à elevação do potencial de oxi-redução, pois, a inibição ocorre mesmo quando este potencial se mantém baixo pela adição direta do nitrito, em substituição ao nitrato. Para BENEDICT (4), o nitrito ou o ácido nitroso, formado a partir deste, parece agir nos esporos, atuando no processo enzimático, nos ácidos nucléicos e nas membranas da célula.

Como o nitrito em níveis elevados inibe a atuação das bactérias láticas, o uso de nitrato é tecnologicamente mais viável, pois em doses adequadas, o nitrato age como uma fonte de nitrito, mantendo este em níveis suficientes para a prevenção do estufamento e adequado à atuação das bactérias láticas, necessárias à maturação do queijo, (21, 36, 71).

GOODHEAD et alii (40) determinaram a curva de redução de nitrato a nitrito, em queijos Gouda elaborado com leite contendo 15 gramas de $NaNO_3$ por 100 litros de leite; um máximo de 1

mg de nitrito por quilograma de queijo foi encontrado 2 semanas após a fabricação, sendo que os níveis médios estiveram, após a 3ª semana, em torno de 0,5 mg/kg. Nestas condições, não se observou a presença de queijos estufados.

Boeckhout, citado por GOODHEAD et alii (40) afirma que existe uma relação direta entre o teor de nitrato adicionado ao leite e o teor de nitrito presente no queijo feito com este leite. GALESLOOT (35), porém, informa que existem limites para esta relação e que a atividade da xantina oxidase se perde dentro de 3 semanas após a fabricação do queijo, limitando assim a redução de nitrato a nitrito.

Pouco se sabe a respeito dos produtos formados a partir do nitrato e dos mecanismos das reações envolvidas. Segundo GALESLOOT (36), parte do nitrato é reduzido a nitrito sob a influência da xantina oxidase. O nitrito assim formado se acumula até um certo nível, mas suficiente para prevenir o estufamento tardio. GOODHEAD et alii (40) salientam que, não havendo um contínuo acúmulo do nitrito na massa do queijo, fica claro que este se converte em outros produtos.

Já se tem conhecimento de algumas vias pelas quais o nitrito desaparece do queijo. Entre elas, a reação com a caseína foi demonstrada por Beckhout citado por GOODHEAD et alii (40), incubando caseína com nitrito em meio de ácido lático e lactato. Foi comprovado que uma grande proporção do nitrito reagiu com os amino - grupos livres de caseína. Outra rota de decomposição do

nitrito, foi encontrada por Fourrand & Moecquot, citados por GOODHEAD et alii (40), os quais descobriram que o óxido nítrico, óxido nitroso ou nitrogênio, são formados a partir do nitrito pela ação redutora de bactérias láticas. O ácido nitroso pode ser incluido entre os produtos de decomposição do nitrito (4, 29, 43).

Entre as reações envolvidas no desaparecimento do nitrito do queijo, existe uma que pode levar à formação de N-nitrosaminas. Estes compostos, alguns dos quais são altamente carcinogênicos, mutagênicos e teratogênicos, podem ser formados pela reação do ácido nitroso com aminas secundárias e terciárias (26, 29, 39, 48, 49, 58). Entre as N-nitrosaminas, a dimetil-nitrosamina (DMNA) é a mais freqüentemente detectada em queijos (23, 24, 41, 48). Diferentes fatores influenciam a reação de formação de N-nitrosaminas, sendo o pH o mais importante; a formação de DMNA se dá em meio ácido com um pH ótimo em torno de 3,4 (40, 48, 49, 50, 60).

As constatações dos efeitos maléficos das N-nitrosaminas foram obtidas através de experiências feitas com animais de laboratório, sobretudo em ratos, pois as dificuldades metodológicas impedem o estudo dos efeitos destas substâncias no ser humano, MONTESANO (64). Devido ao fato de vários estudos comprovarem os efeitos carcinogênicos da maioria das nitrosaminas para os animais de laboratório, não há razão para se acreditar que o ser humano não seja susceptível à ação carcinogênica desta classe de compostos, STEPHANY et alii (76).

Embora haja um número considerável de dados referentes à presença de N-nitrosaminas em produtos de carne curada, em fumo e alguns outros produtos, em queijos, estes dados, além de serem escassos, são na maioria das vezes contraditórios, GRAY, IRVINE & KAKUDA (43).

SEM et alii (74), após analisarem queijos, elaborados com e sem a adição de nitrato ao leite, observaram que N-nitrosaminas estavam presentes tanto nas amostras provenientes de queijos feitos com a adição de nitrato, como nas provenientes de queijos elaborados sem a adição deste aditivo, concluindo, assim, que não haveria relação entre a ocorrência de N-nitrosaminas e a adição de nitrato.

STEPHANY, ELGERSMA & SCHULLER (76), depois de analisarem queijos Edam e Gouda contendo diferentes níveis de nitrato, concluíram que não existe correlação entre o conteúdo de N-nitrosaminas do queijo e o seu conteúdo em nitratos. GOODHEAD et alii (40) fabricaram queijos Gouda com diferentes níveis de nitrato, variando de 0 a 60 gramas para cada 100 litros de leite e não detectaram em nenhum caso a presença de nitrosaminas em níveis superiores a 2 µg/kg de queijo.

O queijo Prato não apresenta condições favoráveis à formação de N-nitrosaminas, pois seu pH está normalmente dentro de uma faixa de 5,2 a 5,4, FURTADO & LOURENÇO NETO (31) e, nestas condições, a formação de nitrosaminas fica prejudicada, (40, 43, 48, 49, 50).

Além de ser uma fonte de N-nitrosaminas, o nitrito pode, em quantidades elevadas, agir de maneira tóxica ao organismo humano. O mais importante efeito tóxico do nitrito é provocar a metahemoglobinemia, pela oxidação da hemoglobina, passando-a da forma ferrosa à forma férrica, diminuindo com isto a eficiência da hemoglobina no transporte de oxigênio no sangue, sendo as crianças mais vulneráveis que os adultos, LOWY & MANCHON (59) e SWANN (77). Em doses elevadas, o nitrito pode causar atraso no desenvolvimento físico e mental das crianças, CROSBY & SAWYER (19) e USCHER & TELLING (81). O Nitrito também diminui as reservas hepáticas de Vitamina A e influencia na estabilidade de vitaminas do complexo B, sobretudo a Tiamina. O Nitrato age como agente vasodilatante e hipotensivo, podendo também causar disturbios funcionais da tiróide, LHUISSIER et alii (59).

Segundo a Organização Mundial de Saúde, citada por NIJHUIS et alii (69) a ingestão diária aceitável de $NaNO_3$ e $NaNO_2$, por quilo de peso, é de 5 mg e 0,2 mg respectivamente. A contribuição de queijos a esta ingestão é muito pequena, mesmo aqueles elaborados com leite adicionado de nitrato, GRAY, IRVINE & KAKUDA (43) e TERPLAN, BUCSIS & HEERDEGEN (79). A maior parte da ingestão de nitrato vem das carnes curadas, vegetais e da água, GOÜGH et alii (41) e WALKER (83).

Nos Países Baixos, a adição de nitrato ao leite destinado à fabricação de queijos semelhantes ao Prato, como o Gouda e o Edam, se limita a 20 gramas para cada 100 litros de leite, RO

CHIZE (72). O limite de 50 gramas de nitrato por 100 litros de leite, está muito acima dos níveis estabelecidos como suficiente para a prevenção do estufamento tardio dos queijos. GALESLOOT (35) estabelece 15 gramas/100 litros como suficiente para a prevenção deste defeito, sendo que, para GOODHEAD et alii (40), 10 gramas por 100 litros de leite é o bastante para manter o nitrito em níveis capazes de prevenir o estufamento tardio. LANGEVELD (55) afirma que somente 5 gramas de nitrato é o suficiente para prevenir o estufamento de queijos do tipo "Samsõe". Para HOISY et alii (46), a quantidade de nitrato utilizada na elaboração de queijos de massa semicozida e cozida não deve ultrapassar 30 g/ 100 litros de leite, devendo ficar entre 10 e 20 gramas, sendo que 7,5 gramas constitui o mínimo eficaz, desde que o leite não esteja muito contaminado com esporos de bactérias butíricas.

No processo de fabricação do queijo, a maior parte do nitrato adicionado ao leite sai no soro, o que poderia eventualmente apresentar riscos potenciais de saúde, caso este soro seja empregado na formulação de outros alimentos, DEVOYOD (20).

GOODHEAD et alii (40), estudando o destino do nitrato durante a fabricação do queijo Gouda, elaborado com leite contendo 15 gramas de nitrato por 100 litros de leite, demonstraram que o conteúdo inicial de nitrato na massa do queijo, imediatamente após a fabricação, foi de aproximadamente 56 mg/kg, sendo o restante arrastado pelo soro.

DEVOYOD (20) afirma que para eliminar completamente o

risco para o consumidor que utiliza alimentos preparados à base de tal soro, faz-se necessário uma diminuição dos teores de nitrato e de nitrito do mesmo, podendo-se obter tal resultado com a diluição dele, com outro, isento desses compostos.

No Brasil, a utilização do soro para a formulação de outros produtos ainda é muito pequena. Atenção especial deve ser dispensada àqueles alimentos preparados à base de soro, que são destinados à alimentação infantil, DEVOYOD (20).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material

- LEITE: Foi utilizado leite fresco, padronizado para 3,6% de gordura e pasteurizado pelo sistema HTST. Em cada fabricação foram empregados 100 litros de leite, com adição de nitrato de sódio nos seguintes níveis: 10, 20 e 50 gramas por fabricação (100 litros de leite). Para cada nível foram realizadas 4 fabricações.
- NITRATO: Utilizou-se o nitrato de sódio P.A. previamente dissecado em estufa, por um período de 3 horas a uma temperatura de 105°C.
- SALMOURA: Foi preparada uma salmoura com volume de 100 litros, contendo 20% de sal (NaCl), a qual permaneceu com um pH entre 5,2 e 5,3 e uma temperatura entre 10 e 12°C. A cada 3 lotes de queijos que passavam por esta salmoura, seu teor de sal (NaCl) era corrigido para 20%.

3.2. Métodos

a) LEITE: No leite destinado à elaboração dos queijos, foram feitas as seguintes determinações:

- Acidez titulável: Foi determinada em 10 ml de leite, utilizando fenolftaleína 2% alcoólica como indicador e solução de hidróxido de sódio N/9 como titulante; a acidez é expressa em Graus Dornic. Utilizou-se um acidímetro de Dornic.

- Gordura: Foi utilizado o método do Lactobutirômetro de Gerber, segundo técnica descrita pelo Laboratório Nacional de Referência Animal (LANARA - M.A.) (12).

- Dosagem de NO_3^- e NO_2^-: Segundo técnica descrita pela FIL-IDF (28).

b) ELABORAÇÃO DOS QUEIJOS: Foram elaborados lotes de queijos Prato de meio quilograma, utilizando 100 litros de leite para cada lote, segundo técnicas tradicionais, FURTADO & WOLFSCHOON-POMBO (34). Foram feitas adições de $NaNO_3$ nos seguintes níveis: 10, 20 e 50 gramas para cada 100 litros de leite.

- Prensagem dos queijos: Os queijos foram prensados por um período de 1 hora, empregando uma pressão de 1,38 quilogramas por centímetro quadrado. Após a prensagem, os queijos permaneceram na forma por um período de 16 horas, após o que, eram retirados da forma, retiravam-se os dessoradores, cortavam-se suas arestas sendo os queijos novamente prensados (sem os dessoradores) por mais 5 minutos.

  Após sua prensagem, os queijos foram submetidos às seguintes determinações:

- Dosagem de NO_3^- e NO_2^-: Segundo técnica descrita pela FIL-IDF - (28).

- Extrato seco total: O E.S.T. foi determinado segundo técnica descrita pelo LANARA - M.A. (12).

- Gordura: Foi utilizado o método ácido butirométrico Van-Gulik, descrito pelo LANARA - M.A. (12).

- pH: O pH do queijo foi determinado através de um potenciômetro Radio-Meter modelo pH-meter 26 (PHM 26).

- Índice de maturação: Foi determinado segundo a fórmula:

$$I.M. = \frac{\text{Proteína solúvel}}{\text{Proteína total}} \times 100$$

. Proteína total: Determinada pelo método Micro Kjeldahl, descrito pela A.O.A.C. (3).

. Proteína solúvel: Determinada pelo método Micro Kjeldahl, descrito pela A.O.A.C. (3) e KOSIKÓWSKI (53).

O método Micro Kjeldahl determina o nitrogênio total. A porcentagem de proteína foi calculada multiplicando-se o valor encontrado por 6,38. Os resultados incluem o nitrogênio não proteico NNP.

c) SORO: O soro foi submetido às seguintes análises:

- pH: O pH do soro foi determinado através de um potenciômetro Radio-Meter, modelo pH-meter 26 (PHM 26).

- Acidez titulável: Seguiu-se a mesma técnica empregada para o leite.

Para estas duas análises, o soro foi retirado logo após o corte da coalhada.

- Dosagem de NO_3^- e NO_2^-: Segundo técnica descrita pela FIL-IDF (28).

- Extrato seco total: Foi determinado segundo técnica descrita pelo LANARA - M.A. (12).

Para estas duas análises, o soro foi retirado ao final da primeira mexedura, que teve uma duração de 20 minutos.

d) SALGA DOS QUEIJOS: De cada fabricação, foram utilizados 10 kg de queijos para serem submetidos à salga, que teve duração de 7 horas. Após cada passagem de uma sequência dos tratamentos (10, 20 e 50 gramas de $NaNO_3$/100 litros de leite), a salmoura foi submetida às seguintes determinações:

- pH: Foi seguida a mesma técnica empregada para o soro.

- Acidez titulável: Foi seguida a mesma técnica empregada para o leite.

- Dosagem de NaCl: Segundo técnica descrita pelo LANARA - M.A. (12).

- ° Beaumé: Determinado, utilizando-se um Areômetro de Beaumé.

- Dosagem de NO_3^- e NO_2^-: Segundo técnica descrita pela FIL-IDF (28).

e) SECAGEM DOS QUEIJOS: Após a salga, os queijos foram colocados em uma câmara de secagem, por um período de 16 horas e submetidos ao final deste tempo às seguintes determinações:

- Dosagem de NO_3^- e NO_2^-: Segundo técnica descrita anteriormente.

- Dosagem de NaCl: Segundo técnica descrita pelo LANARA - M.A. (12).

f) MATURAÇÃO DOS QUEIJOS: Os queijos foram maturados por um período de 36 dias e neste período as determinações tiveram a seguinte periodicidade: F + 12 dias, F + 24 dias e F + 36 dias, considerando "F" o dia da fabricação.

- No dia F + 3 (16 horas após a salga), os queijos foram embalados em película de polietileno (cry-o-vac) e colocados em uma câmara de maturação com uma temperatura de 14 ± 1°C e umidade relativa do ar entre 85 e 95%.

As determinações feitas nesta fase foram:

. Dosagem de NO_3^- e NO_2^-: Segundo técnica descrita anteriormente.

. Índice de maturação: Segundo técnica descrita anteriormente.

TRATAMENTO ESTATÍSTICO

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. Foram testados 3 níveis de nitrato de sódio (10, 20 e 50 gramas para cada 100 litros de leite), sendo cada nível repetido 4 vezes.

O método de comparação de médias foi o de Tuckey ($P \leq 0,05$).

Foram determinadas equações de regressão simples para: transferência de nitrato do leite para o queijo; teor de NO_2^- aos 12 dias; teor de NO_2^- aos 24 dias e teor de NO_2^- aos 36 dias; com os respectivos coeficientes de determinação.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Resultados

Os resultados encontram-se reunidos nas Tabelas de 1 a 6 e nas Figuras de 1 a 7, a fim de facilitar suas análises. Os resumos das análises de variância das médias encontram-se nas Tabelas de 3 a 9 do "apêndice".

4.1.1. NO_3^- e NO_2^- do Queijo

Os teores médios de NO_3^- do queijo encontram-se na Tabela 1 e na Figura 1. O resumo da análise de variância de suas médias, encontra-se nas Tabelas 3 e 8 do apêndice.

Os teores médios de NO_2^- do queijo são apresentados pela Tabela 2 e Figura 2. O resumo da análise de variância de suas médias, encontra-se nas Tabelas 4 e 9 do apêndice.

O modelo matemático que representa a transferência de nitrato, do leite para o queijo é dado pela equação:

$$Y = 2,9564X - 0,2637 \quad \text{com} \quad r^2 = 99,900\%$$

onde:

Y = miligramas de NO_3^- por quilograma de queijo

X = gramas de nitrato de sódio adicionado para cada 100 litros de leite.

Os modelos matemáticos que relacionam os teores de NO_3^- e NO_2^- do queijo em diferentes estágios de maturação e seus respectivos coeficientes de determinação são:

- Aos 12 dias de maturação:

  $Y = 6,7910X + 0,613$ com $r^2 = 0,952$

- Aos 24 dias de maturação:

  $Y = 5,418X + 0,406$ com $r^2 = 0,749$

- Aos 36 dias de maturação:

  $Y = 3,793X + 0,365$ com $r^2 = 0,891$

onde:

Y = miligramas de NO_2^- por quilograma de queijo

X = miligrama de NO_3^- por quilograma de queijo

TABELA 1 - Evolução dos teores médios de NO_3^- (mg/kg) em diferentes estágios da fabricação e maturação (14 ± 1°C) do queijo Prato elaborado com leite contendo diferentes níveis de $NaNO_3$.

Estágios de Fabricação e Maturação	Gramas de $NaNO_3$/100 litros de leite					
	10		20		50	
	$(\bar{x})$	$s(\bar{x})$	$(\bar{x})$	$s(\bar{x})$	$(\bar{x})$	$s(\bar{x})$
Pós-Prensa	31,146 Aa	0,654	66,613 Ba	0,871	165,481 Ca	1,490
Pós-Salga	28,248 Ab	0,535	60,272 Bb	0,391	147,198 Cb	1,092
12 dias	23,410 Acd	0,313	43,174 Bc	2,216	141,671 Cbc	0,922
24 dias	21,324 A d	0,222	39,476 Bd	1,876	137,016 C cd	1,533
36 dias	18,313 A e	0,893	36,551 Bd	0,721	132,634 C d	1,299

- Letras maiúsculas comparam médias no sentido de linha pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).
Letras minúsculas comparam médias no sentido de coluna pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

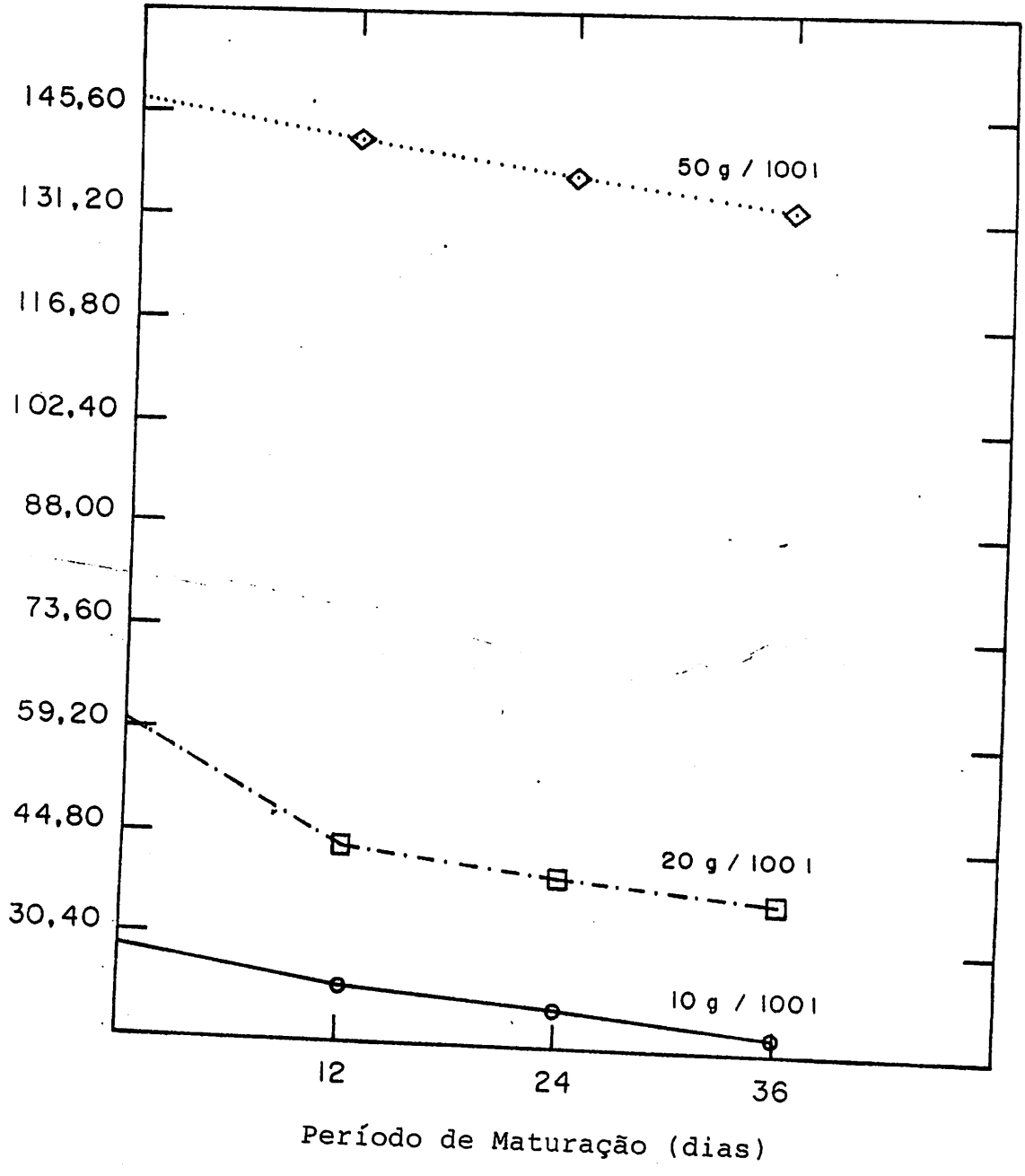
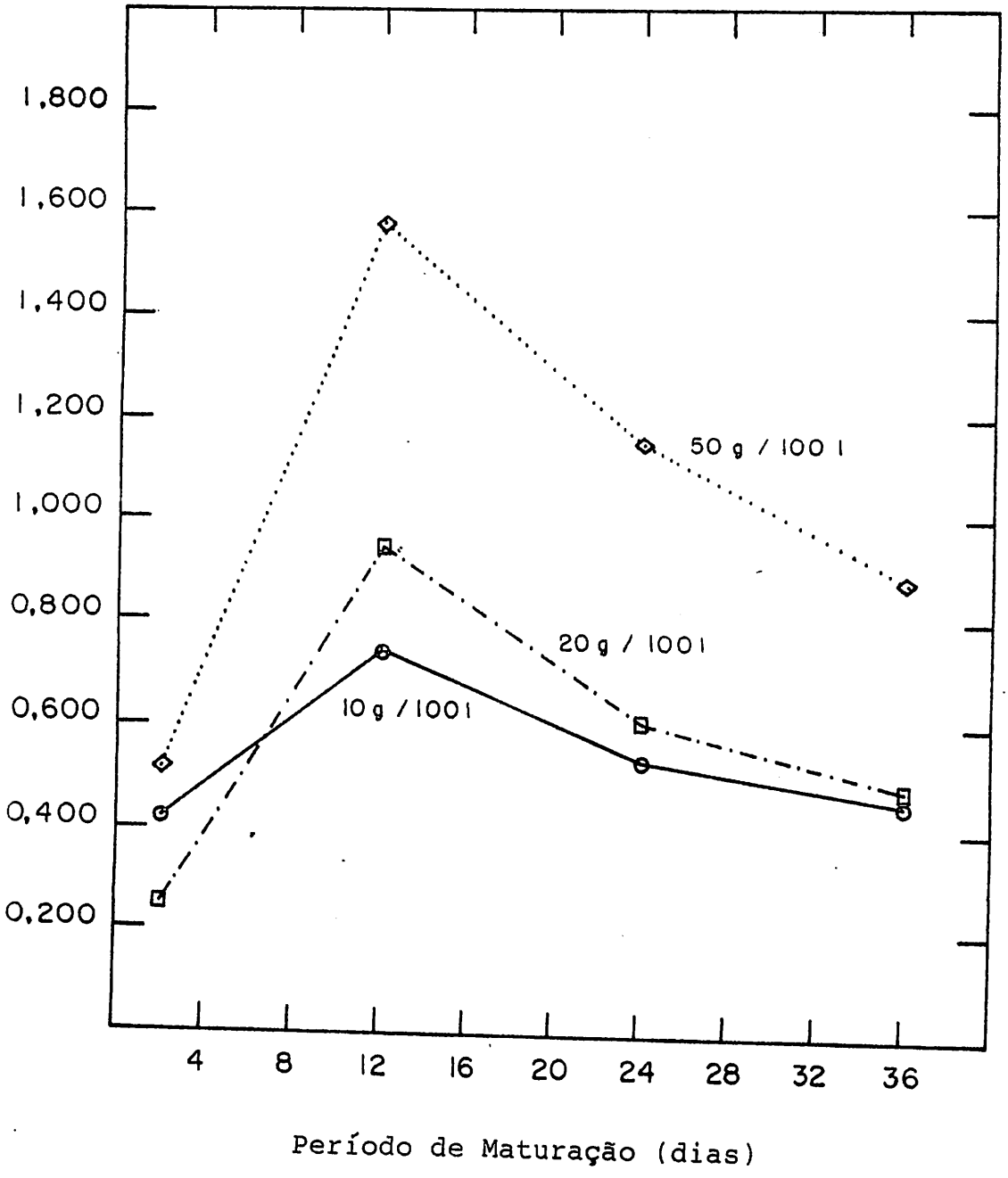


FIGURA 1 - Evolução dos teores de nitrato do queijo, durante o período de maturação.

TABELA 2 - Evolução dos teores médios de NO_2^- (mg/kg), em diferentes estágios de fabricação e maturação (14 ± 1°C) do queijo Prato elaborado com leite adicionado de diferentes níveis de $NaNO_3$.

Estágios de Fabricação e Maturação	Gramas de $NaNO_3$/100 litros de leite					
	10		20		50	
	$(\bar{x})$	$s(\bar{x})$	$(\bar{x})$	$s(\bar{x})$	$(\bar{x})$	$s(\bar{x})$
Pós-Prensa	0,411 Aa	0,142	0,204 Ac	0,037	0,566 Ac	0,050
Pós-Salga	0,419 Aa	0,118	0,247 Ac	0,016	0,514 Ac	0,000
12 dias	0,738 Aa	0,043	0,944 Ba	0,043	1,572 Ca	0,016
24 dias	0,531 Aa	0,043	0,609 Ab	0,062	1,151 Bb	0,120
36 dias	0,454 Aa	0,009	0,479 Ab	0,049	0,875 Bb	0,043

- Letras maiúsculas comparam médias no sentido de linha pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).
  Letras minúsculas comparam médias no sentido de coluna pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).



:GURA 2 - Evolução dos teores de nitrito do queijo, durante o período de maturação.

4.1.2. NO_3^- e NO_2^- do Soro

Os teores médios de NO_3^- do soro encontram-se na Tabela 3 e Figura 3. O resumo da análise de variância, utilizada para a comparação de suas médias, encontra-se na Tabela 5 do apêndice.

Os teores médios de NO_2^- do soro, são apresentados pela Tabela 4 e Figura 4. O resumo da análise de variância empregada na comparação de suas médias está na Tabela 5 do apêndice.

O modelo matemático que representa a transferência de nitrato, do leite para o soro do queijo é dado pela equação:

$$Y = 7,1441X - 0,5069, \quad \text{com} \quad r^2 = 99,94\%$$

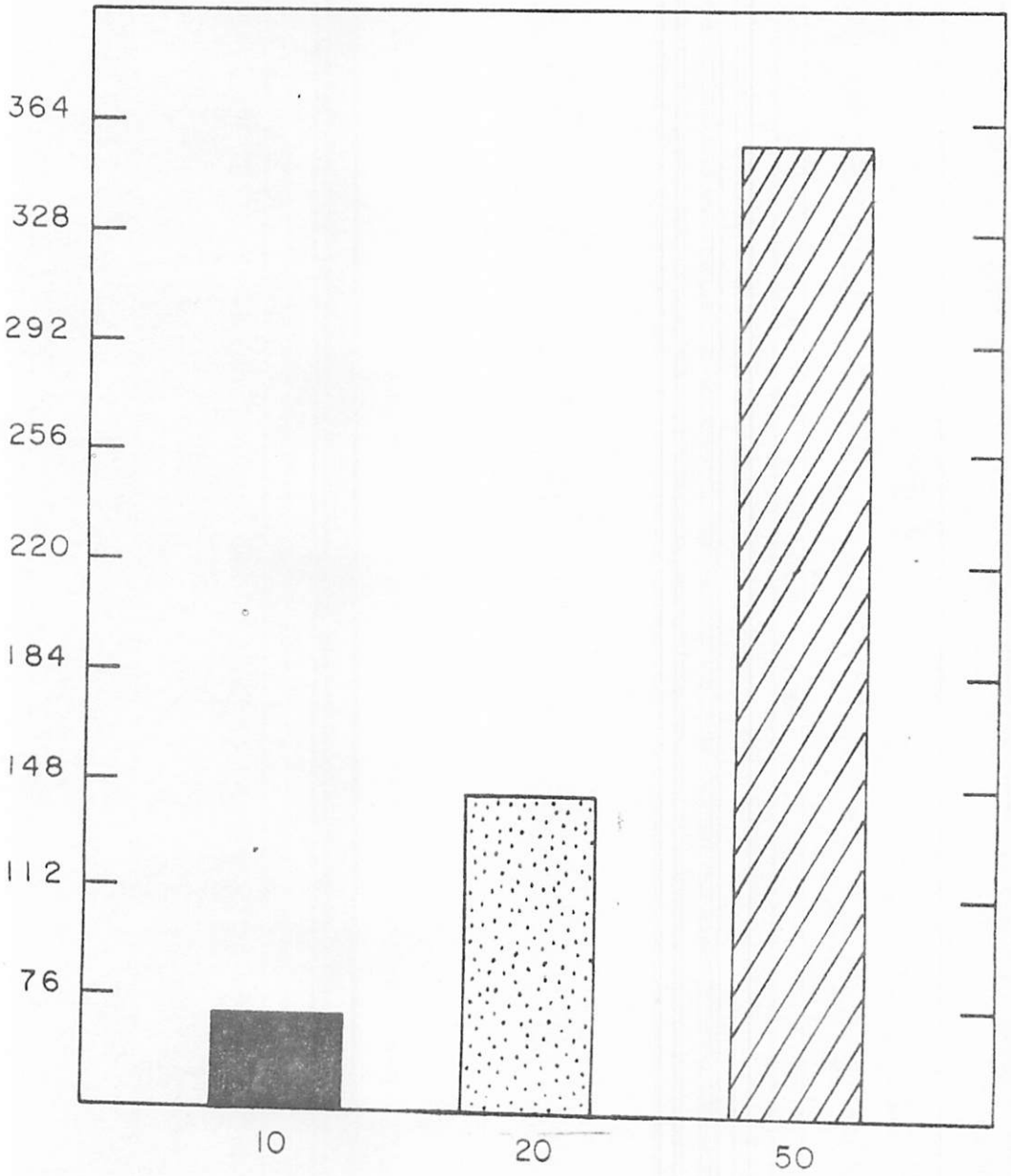
onde:

Y = miligramas de NO_3^- por litro de soro

X = gramas de nitrato de sódio adicionado para cada 100 litros de leite.

TABELA 3 - Teores médios de NO_3^- do soro de queijo Prato, elaborado com leite adicionado de diferentes níveis de $NaNO_3$.

Níveis de $NaNO_3$ Adicionado ao Leite (g/100 l)	Teor de NO_3^- (mg/lt)	
	Média ($\bar{x}$)	s ($\bar{x}$)
10	70,163 a	1,249
20	143,406 b	0,637
50	356,442 c	2,475



Níveis de Nitrato Adicionado ao Leite (g/100 litros)

GURA 3 - Teores de nitrato do soro do queijo.

TABELA 4 - Teores médios de NO_2^- do soro de queijo Prato, elaborado com leite adicionado de diferentes níveis de $NaNO_3$.

Níveis de $NaNO_3$ Adicionado ao Leite (g/100 litros)	Teor de NO_2^- (mg/lt)	
	Média ($\bar{x}$)	s ($\bar{x}$)
10	0,903 a	0,778
20	1,088 a	0,202
50	1,645 a	0,045

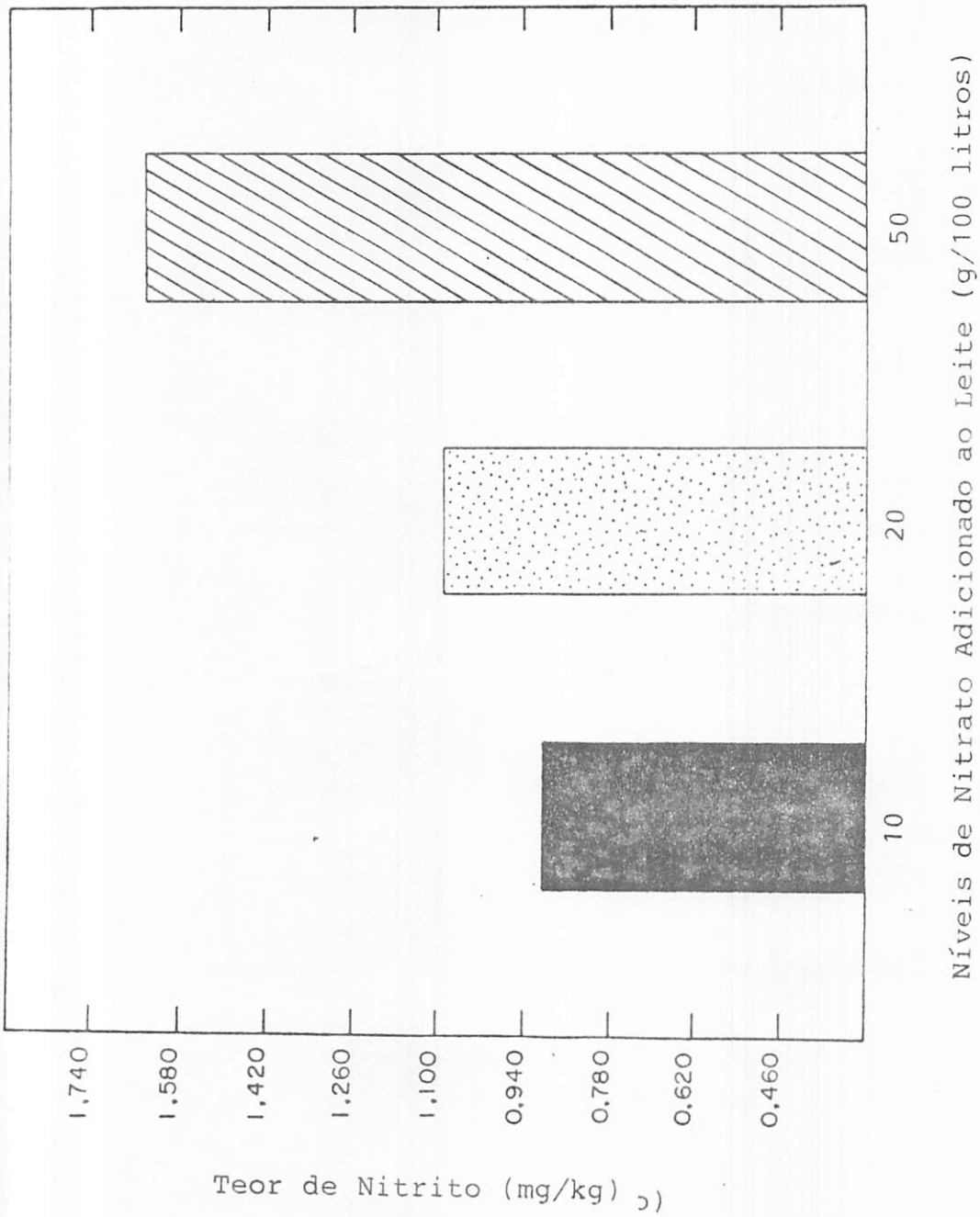


FIGURA 4 - Teores de nitrito do soro do queijo.

4.1.3. NO_3^- e NO_2^- de Salmoura

Os teores médios de NO_3^- e NO_2^- na salmoura durante sua utilização na salga dos queijos, encontram-se na Tabela 5 e Figuras 5 e 6.

TABELA 5 - Acúmulo de NO_3^- e NO_2^- na salmoura, com a passagem de queijos Prato, elaborados com 10, 20 e 50 gramas de $NaNO_3$/100 litros de leite, respectivamente*.

Lotes de Queijos	NO_3^- (mg/litro)	NO_2^- (mg/litro)
3	2,563	0,144
6	5,211	0,740
9	7,802	1,579
12	10,260	2,230

* Cada 3 lotes corresponde a uma sequência dos três tratamentos.

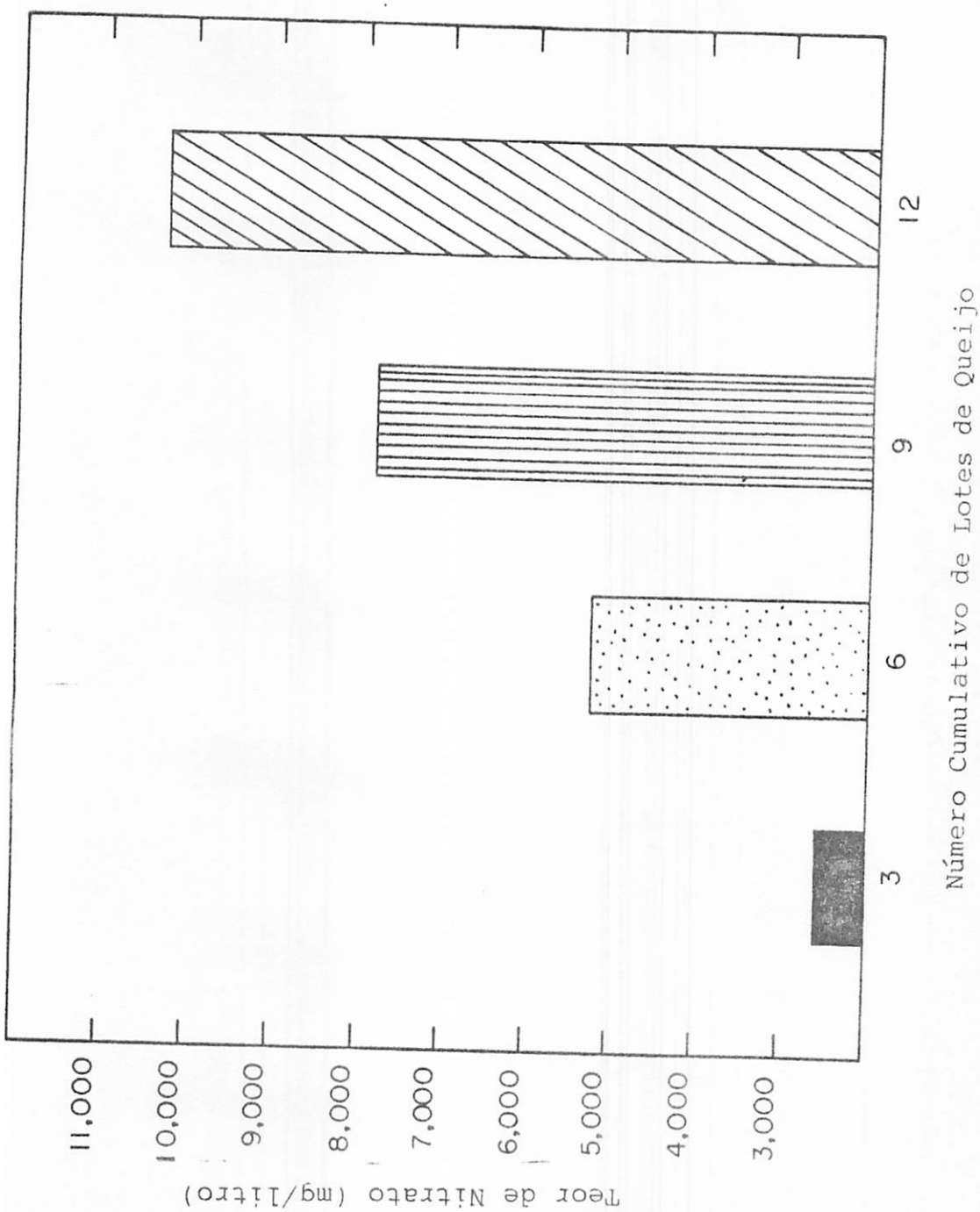


FIGURA 5 - Acúmulo de nitrato na salmoura.

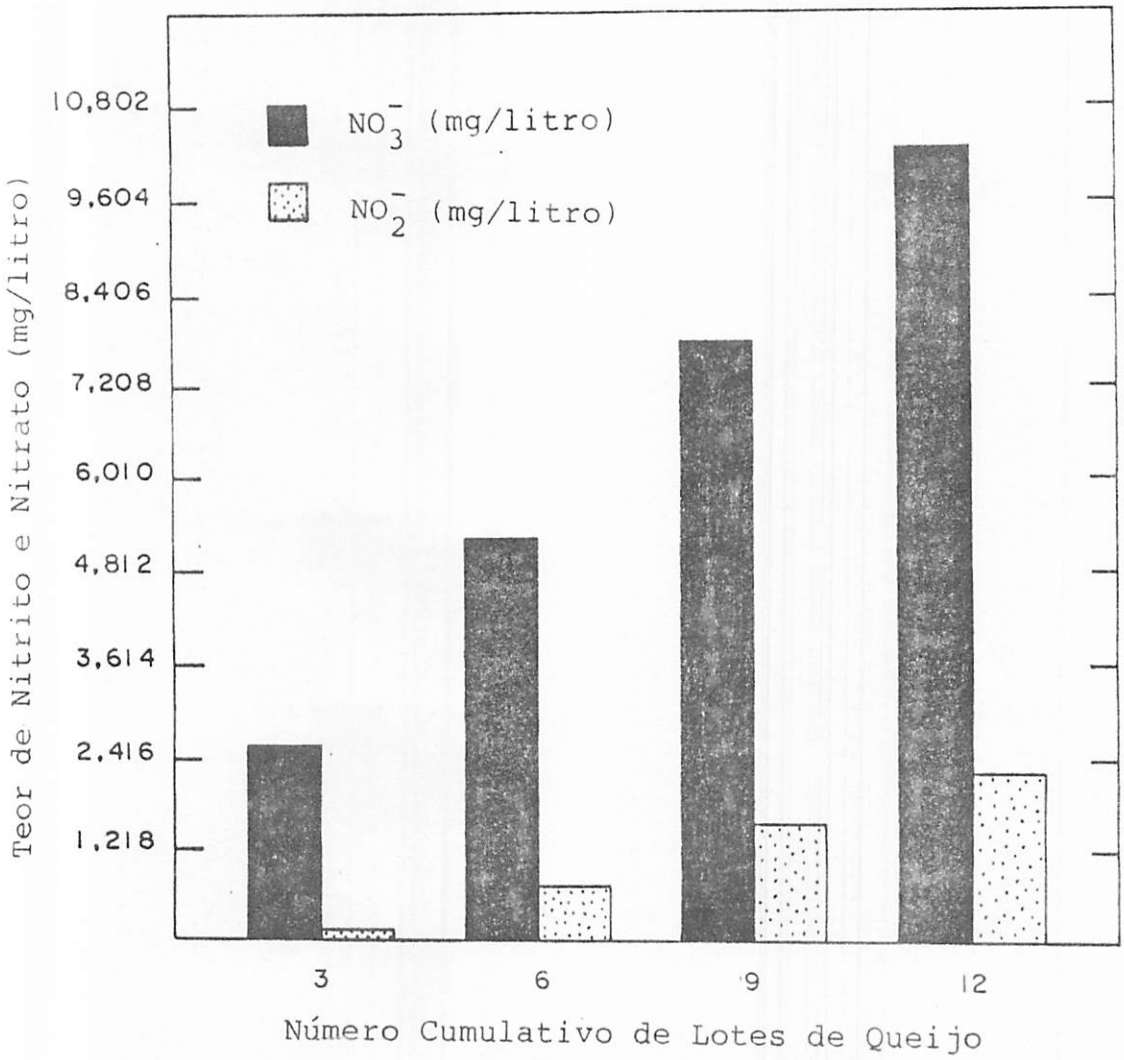


FIGURA 6 - Acúmulo de nitrato e nitrito na salmoura.

4.1.4. Índices de Maturação do Queijo e pH

A evolução dos índices médios de maturação do queijo, encontra-se na Tabela 6 e Figura 7. O resumo da análise de variância utilizada para a comparação de suas médias, encontra-se na Tabela 6 do apêndice.

A evolução do pH médio do queijo, é apresentada pela Tabela 7. O resumo da análise de variância utilizada na comparação de suas médias, encontra-se na Tabela 7 do apêndice.

TABELA 6 - Evolução dos índices médios de maturação (PS/PT x 100%)* do queijo Prato, e laborado com diferentes níveis de $NaNO_3$.

Tempo de Maturação (Dias)	Gramas de $NaNO_3$/100 litros de leite					
	10		20		50	
	($\bar{x}$)	s($\bar{x}$)	($\bar{x}$)	s($\bar{x}$)	($\bar{x}$)	s($\bar{x}$)
01	4,14 a	0,065	4,02 a	0,105	4,01 a	0,065
12	9,61 a	0,120	8,91 b	0,115	8,38 c	0,050
24	13,74 a	0,460	14,51 a	0,135	12,23 b	0,080
36	17,24 a	0,065	17,23 a	0,080	15,94 b	0,155

- Comparações de médias no sentido de linha pelo Teste de Tukey ($P < 0,05$).

* PS e PT definidos como % N x 6,38.

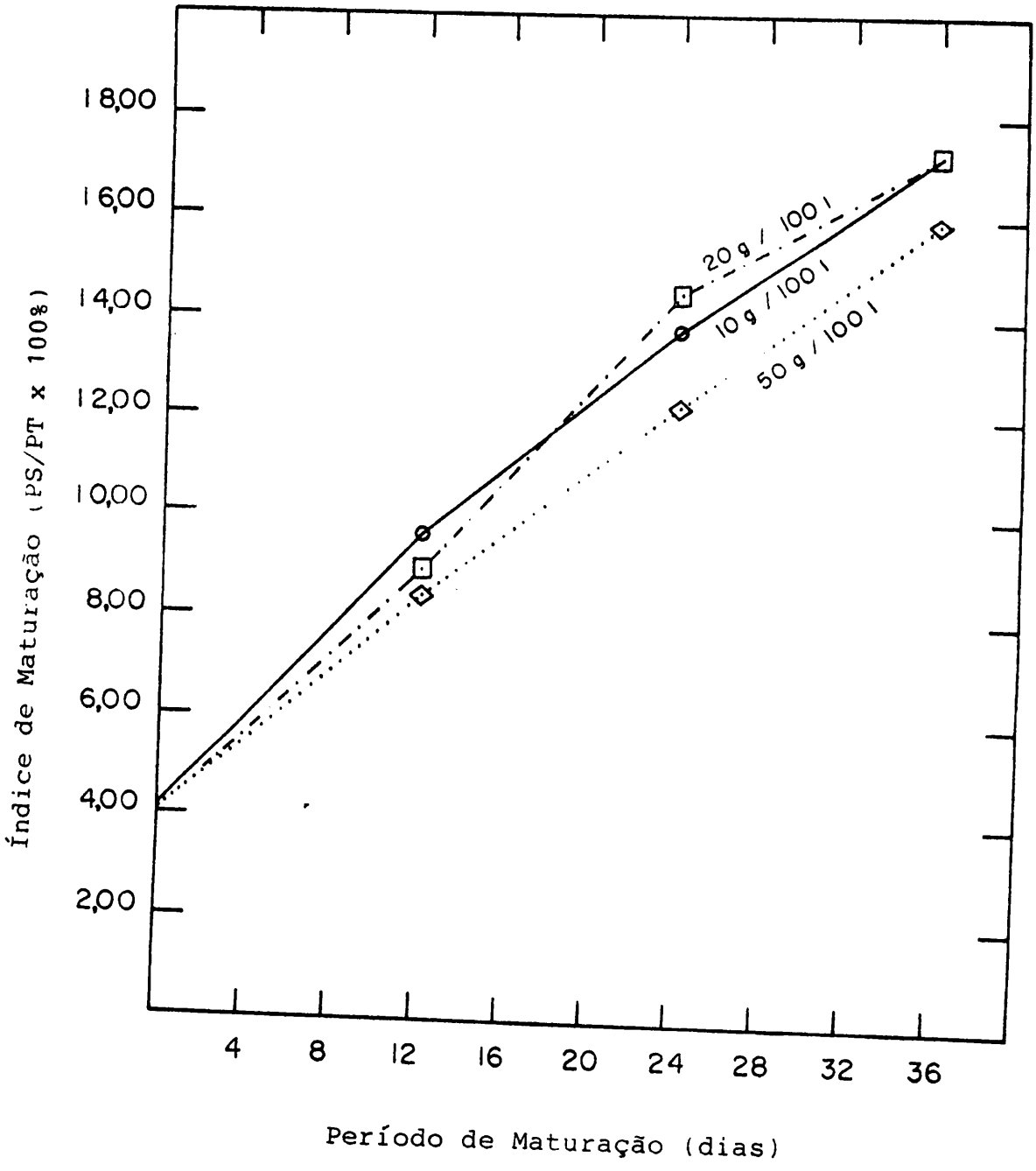


FIGURA 7 - Evolução do índice de maturação (extensão), do queijo.

TABELA 7 - Evolução do pH médio do queijo Prato, elaborado com leite adicionado de diferentes níveis de $NaNO_3$.

Período de Maturação (Dias)	Níveis de $NaNO_3$ (gramas/100 litros de leite)					
	10		20		50	
	$(\bar{x})$	$s(\bar{x})$	$(\bar{x})$	$s(\bar{x})$	$(\bar{x})$	$s(\bar{x})$
01	5,12 a	0,011	5,09 a	0,014	5,20 b	0,015
12	5,31 ab	0,003	5,29 a	0,009	5,33 b	0,003
24	5,33 a	0,007	5,34 ab	0,003	5,35 b	0,003
36	5,36 ab	0,006	5,35 a	0,007	5,38 b	0,003

- Comparações de médias no sentido de linha pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

4.2. Discussão

4.2.1. Transferência do Nitrato Adicionado ao Leite, para o Queijo e para o Soro

A maior parte do nitrato adicionado ao leite é arrastada pelo soro, DEVOYOD (20). Isto acontece em função do maior teor de umidade do soro em relação ao queijo, pois segundo GOODHEAD et alii (40), o NO_3^- é dissolvido pela água e apenas uma quantidade muito pequena parece ficar adsorvida na superfície da micela de caseína coagulada. Nos resultados das análises de NO_3^- do queijo recém-fabricado (pós-prensa) e do soro, observa-se que os teores de NO_3^- do soro são, em todos os níveis, superiores aos teores de NO_3^- do queijo, o que está em concordância com os autores anteriormente citados, (Tabelas 1 e 3 e Figuras 1 e 3).

Verificou-se uma alta correlação estatística (0,9995) entre os níveis de $NaNO_3$ adicionado ao leite e os teores de NO_3^- do queijo. Igualmente observou-se uma alta correlação estatística (0,9997) entre os níveis de nitrato adicionado ao leite e os teores de NO_3^- do soro do queijo Prato. Estas correlações estão em concordância com ARORA (2), GALESLOOT (35) e GOODHEAD et alii (40), que afirmam ser os teores de NO_3^- do queijo proporcionais aos níveis de nitrato adicionado ao leite.

Os teores médios de NO_3^- no queijo, fornecidos pela adição de 10 g de $NaNO_3$/100 litros de leite estão abaixo dos encontrados

por GOODHEAD et alii (40) (36mg/kg) em queijo Gouda elaborado com a mesma quantidade deste aditivo, (Tabela 1 e Figura 1). Para o nível de 20 g de $NaNO_3$/100 litros de leite, os teores de NO_3^-, logo após a fabricação do queijo, estão semelhantes aos obtidos por estes autores e ligeiramente superiores aos encontrados por ARORA (2), também trabalhando com o queijo Gouda. O nível de 50 g/100 litros de leite forneceu teores de NO_3^- ao queijo, proporcionalmente inferiores aos obtidos por GOODHEAD et alii (40), que encontraram teores de 137mg/kg de queijo quando se empregaram 40 g de $NaNO_3$/100 litros de leite e 212mg/kg com o uso de 60 g de $NaNO_3$/100 litros de leite, (Tabela 1 e Figura 1).

4.2.2. Transferência de NO_3^- do Queijo para a Salmoura

Durante a salga em salmoura, à medida que o sal penetra, por difusão, na massa do queijo, ocorre uma evasão de soro do queijo para a salmoura, HARDY (45). Como o NO_3^- encontra-se dissolvido na parte aquosa do queijo, GOODHEAD et alii (40), os teores deste íon são diminuídos durante o processo de salga. Entre os estágios de pós-prensa e pós-salga, ocorreu em todos os níveis um decréscimo nos teores de NO_3^-, indicando que, além de uma provável redução deste íon, ocorreu uma transferência deste do queijo para a salmoura. Esta transferência ficou comprovada pelas análises de NO_3^- realizadas na salmoura, (Tabelas 1 e 5 e Figuras 5 e 6).

4.2.3. Redução do NO_3^- Durante o Período de Maturação

O declínio nos teores de NO_3^- durante o período de maturação ocorreu em função somente de sua transformação dentro da massa dos queijos. Antes de serem colocados na câmara de maturação, os queijos foram embalados em película de polietileno (cryo-vac), não havendo possibilidade de ocorrer desidratação neste período.

As curvas de redução do NO_3^- mostraram um declínio mais pronunciado no início e uma posterior tendência à estabilidade, (Tabela 1 e Figura 1), concordando com os resultados obtidos por ARORA (2), GOODHEAD et alii (40) e NIEWENHOF (67), todos trabalhando com o queijo Gouda. Entretanto, a redução inicial apresentou um declínio menos pronunciado, em relação aos obtidos pelos autores citados. O comportamento da curva de redução do NO_3^- parece estar relacionado com a atividade da xantina oxidase na massa do queijo, pois segundo GALESLOOT (36) esta enzima possui uma atividade mais elevada no início da maturação do queijo, desaparecendo após a 3ª semana de maturação.

Durante o período de maturação do produto, a redução nos teores de NO_3^- não se comportou de maneira proporcional aos níveis de $NaNO_3$ adicionado ao leite. Analisando os resultados dos teores de NO_3^- (Tabela 1), observa-se que, entre o início e o término da maturação, o nível de 20 g de $NaNO_3$/100 litros de leite apresentou uma redução ligeiramente superior ao nível de 10 g de

$NaNO_3$/100 litros. O nível de 50 g de $NaNO_3$/100 litros apresentou uma redução em termos proporcionais inferior ao nível de 10 g/100 litros e, em termos proporcionais e absolutos, inferior ao nível de 20 g/100 litros de leite. Estes resultados sugerem que a atividade das enzimas redutoras do NO_3^- foi maior ao nível de 20 g/100 litros de leite e menor ao nível de 50 g/100 litros. A redução, feita enzimaticamente, parece ficar limitada pela atividade das enzimas envolvidas e não pela quantidade de substrato, sugerindo que todos os níveis são suficientes para saturar as enzimas presentes.

4.2.4. Teores de NO_2^- do Queijo

Comparando-se os resultados referentes aos teores de NO_3^- e de NO_2^- dos queijos, pode-se verificar que o rápido declínio nos teores de NO_3^- nos 12 primeiros dias de maturação é acompanhado de um aumento acentuado dos teores de NO_2^- no mesmo período e em todos os níveis empregados, (Tabelas 1 e 2 e Figuras 1 e 2). Estes resultados estão de acordo com os encontrados por GALESLOOT (36) e GOODHEAD et alii (40) em queijo Gouda elaborado com diferentes níveis de nitrato; Entretanto, ARORA (2), analisando queijos Gouda elaborados com 20 g de $NaNO_3$/100 litros de leite, encontrou teores menores de NO_2^-, com média de 0,3 mg/kg de queijo após a 4ª semana de maturação. Este aumento dos teores de NO_2 ocorreu em função do rápido declínio nos teores de NO_3, em

virtude da maior atividade da xantina oxidase no início da maturação. Como esta atividade enzimática decresce rapidamente no decorrer da maturação, GALESLOOT (36) supõe-se que, após uma elevação nos teores de NO_2^-, haja um decréscimo desses teores, o que foi confirmado pelos resultados dos teores de NO_2^- (Tabela 2 e Figura 2).

Os resultados mostram que não ocorreu um acúmulo constante nos teores de NO_2^- do queijo (Tabela 2 e Figura 2), evidenciando que este é convertido em outras substâncias no decorrer da maturação. As maneiras pelas quais o NO_2^- é convertido na massa do queijo, têm sido discutidas por diversos autores (3, 18, 26, 29, 39, 40, 41, 48, 49, 50, 58).

O início da maturação do queijo é marcado pela acentuada diminuição nos teores de NO_3^- do produto, provocando, por conseguinte, um acúmulo nos teores de NO_2^-, GOODHEAD et alii (40). No decorrer da maturação, com a perda de atividade da xantina oxidase e a transformação do NO_2^- em outras substâncias, poder-se-ia esperar um decréscimo constante nos teores de NO_2^- do queijo, até que estes atingissem valores nulos; porém, a existência de outras nitratases de origem microbiana no queijo DEVOYOD (20) e NIEWENHOF (67), mantém o NO_2^- em níveis satisfatórios, para, junto com o NaCl, evitar o estufamento tardio, o que foi confirmado pelos dados referentes às análises de NO_2^- do produto, (Tabela 2).

A salga do queijo Prato é feita através de salmoura, FURTADO E WALFSCHOON-POMBO (34); conseqüentemente seu centro fica por algum tempo isento de sal. Neste período, o teor mais ele

vado de NO_2^- confere ao queijo maior proteção contra o estufamento tardio. Após o 12º dia o sal já distribuído uniformemente na massa do queijo, HARDY (45), age em conjunto com o NO_2^-, protegendo o produto contra a germinação do esporo de Clostridium, fazendo com que a queda nos teores de NO_2^-, observada entre o 12º e o 24º dia, não diminua acentuadamente a proteção oferecida contra eventual contaminação com bactérias produtoras de gás, como as do gênero Clostridium.

Os teores de NO_2^- fornecidos pela adição de 10 g de $NaNO_3$, para 100 litros de leite, parecem ser suficientes para inibir o estufamento tardio do queijo Prato (Tabela 2). Trabalhos realizados em queijos Gouda e Edam, por GALESLOOT (35), apresentaram resultados semelhantes, comprovando este autor ser este nível suficiente para inibir o estufamento tardio deste produto de origem holandesa.

O nível de 20 g/100 litros de leite apresentou uma maior queda nos teores de NO_3^-, acompanhada por um maior aumento em termos relativos, nos teores de NO_2^-, sugerindo, portanto, que este nível apresentou uma maior atividade enzimática (Tabelas 1 e 2 e Figuras 1 e 2).

Os três níveis apresentaram, após o 12º dia, teores diferentes de NO_2^-, porém todos com teores de NO_2^- acima dos limites mínimos, estipulados por GALESLOOT (40) como suficientes para a prevenção do estufamento tardio. No 24º e 36º dias ocorreram diferenças significativas entre o nível de 50 g/100 litros e os ou

tros 2 níveis, não havendo diferenças entre os níveis de 10 e 20 g/100 litros de leite (Tabela 2 e Figura 2).

4.2.5. Teores de NO_3^- e NO_2^- na Salmoura

O desaparecimento do NO_3^- na massa do queijo é devido principalmente à ação da xantina oxidase. Na salmoura, a atividade desta enzima pode ser considerada nula, pois a pequena quantidade que porventura migra do queijo durante o período de salga fica diluída no grande volume desta salmoura. Deve-se, além disto, considerar que o curto período de vida ativa desta enzima, em torno de 3 semanas, elimina a possibilidade de seu acúmulo na salmoura. Assim, parece razoável supor que a passagem, pela salmoura, de queijos contendo NO_3^-, irá provocar um constante acúmulo deste íon nesta salmoura, o que foi confirmado pelos dados obtidos (Tabela 5 e Figuras 5 e 6).

Entre o período de pós-prensa e pós-salga não foram verificadas diminuições nos teores de NO_2^- dos queijos (Tabela 2). Entretanto, os dados obtidos evidenciam um constante acúmulo deste íon na salmoura, (Tabela 5 e Figura 6), sugerindo que, ao mesmo tempo em que ocorre uma migração de NO_2^- do queijo para a salmoura, ocorre, também, uma redução de NO_3^- a NO_2^- na massa do queijo, compensando, assim, as perdas de NO_2^- durante a salga do queijo.

Analisando os resultados obtidos, poder-se-ia supor que

uma salmoura utilizada por queijos elaborados com o emprego de nitrato possuiria, em princípio, teores de NO_3^- e NO_2^- proporcionais à quantidade de queijos que passa pela mesma, bem como aos teores de NO_3^- e NO_2^- que estes queijos possuem (Tabelas 1, 2 e 5).

4.2.6. Maturação do Queijo

O processo de maturação do queijo corresponde a uma fase de digestão enzimática da coalhada. As enzimas atuantes neste processo podem ter 3 origens: as enzinas naturais do leite, as enzimas provenientes do coalho e as enzimas de origem microbiana, produzidas pelos microorganismos do fermento adicionado ao leite de fabricação. Dentre estas 3 enzimas, as de origem microbiana são as mais importantes. Assim, todos os fatores susceptíveis de agir sobre o desenvolvimento dos microorganismos podem influir decisivamente no processo de maturação dos queijos, CHOISY et alii (16). O uso do nitrato na fabricação do queijo, quando empregado em doses excessivas, traz problemas de qualidade ao produto. Isto acontece porque este aditivo, quando em grande quantidade na massa do queijo, prejudica o desenvolvimento e atuação das bactérias láticas e por conseqüência, a maturação do queijo, DOLEZÁLEK & VORISCOVÁ (21), GALESLOOT (35) e ROBERTS (71); podendo também, provocar o aparecimento de manchas avermelhadas na massa do queijo. Além disto, o uso excessivo de nitrato na fabricação de queijos pode trazer problemas à saúde do consumidor, já

que este aditivo é precursor de algumas substâncias que ingeridas em grande quantidade são tóxicas ao organismo (15, 20, 39, 43).

O queijo logo após a prensagem, apresentou uma mesma proporção de proteínas solúveis em relação às proteínas totais, porque nesta fase o fenômeno de maturação está ainda no seu início (Tabela 6 e Figura 7). No 12º dia de maturação, os três níveis apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre si; nesta fase já se constatam os efeitos inibidores do nitrato no processo de maturação, pois neste período os teores de NO_2^- foram também estatisticamente diferentes entre si (Tabelas 2 e 6). Assim verificou-se que existe uma relação inversa entre os teores de NO_2^- do queijo e seus índices de maturação. Os resultados obtidos no 24º e no 36º dias de maturação vêm confirmar esta relação, pois os níveis de 10 e 20 g/100 litros de leite não apresentaram diferenças significativas entre si nos índices de maturação, bem como nos teores de NO_2^- (Tabelas 2 e 6). A diferença ocorre quando se compara o índice de maturação e o teor de NO_2^- entre o nível de 50 g/100 litros de leite e os outros 2 níveis, pois o primeiro mostrou um menor índice de maturação e um maior teor de NO_2^- em relação aos dois últimos (Tabelas 2 e 6). GOODHEAD et alii (40) afirmam que um excesso de nitrato utilizado na fabricação de queijo, além de não trazer vantagens adicionais para o controle do estufamento tardio, prejudica seu processo de maturação, o que ficou confirmado pelos resultados obtidos.

Entre os fatores que interferem no processo de matura-

ção do queijo, pode-se apontar o seu teor de NaCl, HARDY (45). Os resultados obtidos mostram claramente que as diferenças observadas nos índices de maturação não sofreram interferência deste sal, mesmo quando considerado como sal na água do queijo (Tabelas 1 e 2 do apêndice). Isto porque seus teores ficaram dentro de índices considerados normais ao processo de maturação do queijo. Desta forma, os teores de NO_2^- e NO_3^- parecem ser os únicos fatores que influenciaram mais intensamente os índices de maturação dos queijos.

4.2.7. pH

Evidenciou-se um pH ligeiramente superior para o nível de 50 gramas de nitrato/100 litros de leite, mostrando uma possível diminuição na atuação das bactérias láticas, devido ao excesso de nitrato e nitrito no queijo (Tabela 7). Entretanto, esta diferença é tecnologicamente desprezível, ficando o pH de todos os níveis dentro dos especificados para o queijo Prato, FURTADO & LOURENÇO NETO (31).

5. CONCLUSÕES

Após a análise dos resultados obtidos, é lícito concluir que:

O nitrato adicionado ao leite de fabricação do queijo Prato teve sua maior parte arrastada pelo soro.

Os teores de NO_3^- do queijo recém fabricado e do soro foram proporcionais à quantidade de nitrato adicionada ao leite.

Do NO_3^- que ficou no queijo, uma parte (em torno de 9,7 %) migrou para a salmoura durante o período de salga desses queijos.

Durante o início da maturação, a queda na curva de NO_3^- foi mais acentuada, tendendo a se estabilizar após os 12 primeiros dias de maturação.

No início da maturação, em virtude do maior decréscimo nos teores de NO_3^- do queijo, houve uma elevação dos teores de NO_2^-. Após atingir um pico no 12º dia, os teores deste íon decresceram até o 36º dia de maturação; este fato foi observado em todos os níveis empregados.

Durante o processo de salga dos queijos, ocorreu uma e

vasão de NO_2^- do queijo para a salmoura, porém os teores deste íon no queijo não foram alterados, devido a uma possível redução do NO_3^- ocorrido nesta fase.

Ocorreu um acúmulo constante de NO_3^- e NO_2^- na salmoura utilizada pelos queijos elaborados com nitrato.

Não existiu uma relação direta entre a quantidade de nitrato adicionada ao leite e os teores de NO_2^- do soro e do queijo recém fabricado.

No decorrer da maturação o teor de NO_2^- do queijo foi proporcional aos teores de NO_3^- do queijo e à intensidade com que este ion foi reduzido neste período.

Empregando-se os níveis adequados de nitrato na fabricação do queijo Prato, a época de consumo deste produto deve ser a partir do 24º dia de maturação, pois neste estágio de maturação, já se observou um decréscimo acentuado nos teores de NO_3^- e já foi ultrapassado o pico em seus teores de NO_2^-.

Com o emprego de 50 gramas de nirtato para 100 litros de leite, os índices de maturação do queijo tiveram seus valores diminuídos em relação aos outros 2 níveis empregados. Igualmente, houve modificações no pH do queijo, ficando seus valores ligeiramente superiores aos obtidos com o emprego dos de 10 e 20 gramas de nitrato para 100 litros de leite.

O uso excessivo de nitrato, além de não trazer benefícios ao controle do estufamento dos queijos, eleva os custos operacionais da produção queijeira, pois, é um produto importado, com preços bastante elevados.

6. RESUMO

Queijos Prato de meio quilograma foram elaborados por técnicas tradicionais, com leite adicionado de $NaNO_3$, utilizando níveis de 10, 20 e 50 gramas para cada 100 litros de leite.

A maior parte do nitrato adicionado ao leite, foi arrastada pelo soro, que apresentou teores médios de NO_3^- de 70,1632, 143,4063 e 366,4421 mg/litro respectivamente. No queijo recém fabricado, os teores deste íon foram de 31,15, 66,61 e 165,481 mg/kg respectivamente. Os teores de NO_3^- do soro e do queijo, foram proporcionais aos níveis de nitrato adicionado ao leite, exibindo uma correlação quase perfeita.

Durante a salga ocorreu uma diminuição nos teores de NO_3^- do queijo. As curvas dos teores deste íon durante o período de maturação, apresentaram uma redução mais acentuada nos 12 primeiros dias, mostrando posteriormente uma tendência à estabilidade.

Os teores de NO_2^-, do soro e do queijo recém fabricado, não foram proporcionais ao nitrato adicionado ao leite. No queijo, as curvas dos teores deste íon, apresentaram uma elevação en

tre o dia da fabricação e o 12º dia de maturação, alcançando neste estágio de maturação, teores médios de 0,738, 0,944 e 1,572 mg/kg respectivamente. A partir deste período, seus teores tiveram um decréscimo até o 36º dia da maturação, atingindo neste dia, os teores de 0,454, 0,479 e 0,875 mg/kg respectivamente. Os teores deste íon durante o período de maturação dos queijos, foram proporcionais aos teores de NO_3^- presentes na massa deste queijo.

Os teores de NO_3^- e NO_2^- da salmoura utilizada por estes queijos, tiveram um aumento constante entre o início e o final de sua utilização.

O índice de maturação do queijo não sofreu interferência, quando foram utilizados os níveis de 10 e 20 gramas de nitrato para cada 100 litros de leite, porém este índice foi ligeiramente reduzido pelo emprego de 50 gramas de nitrato por 100 litros de leite. O pH do queijo sofreu uma pequena elevação nos queijos fabricados com 50 gramas de nitrato, em relação aos queijos fabricados com os outros dois níveis.

7. SUMMARY

A-half kilogram Prato cheeses, were manufactured by tradicional technics, with milk added of $NaNO_3$, by employing levels of 10, 20 and 50 grams to each 100 liters of milk.

Most of the nitrate added to the milk, was leached by the whey, which showed average contents of NO_3^- within the range of 70.1632, 143.4063 and 356.4421 mg/liter respectively. In the recently made cheese, the average contents of this ion were 31.15, 66,61 and 165.481 mg/kg respectively. The contents of NO_3^- of the whey and cheeses, were proportional to the levels of nitrate added to the milk, displaying an almost perfect correlation.

During salting, a decrease in the contents of NO_3^- took place. The curves of the contents of this ion during the period of ripening, showed a marked decrease on the first 12 days, afterwards displaying a tendency towards stability.

The contents of NO_2^-, of the whey and cheese recently made, were not proportional to the nitrate added to the milk. In the cheese, the curves of the content of this ion showed a rise between the manufacture day and the 12nd day of ripening, reach

ing in this stage of ripening, average contents of 0.738, 0.944 and 1.572 mg/kg, respectively. From this period, their contents had a decrease up to the 36th day of ripening, with contents of 0.454, 0.479 and 0.875 mg/kg, respectively. The contents of this ion during the period of ripening of the cheese were proportional to the contents of NO_3^- present in the mass of the cheese.

The contents of NO_3^- and NO_2^- of the brine utilized for these cheeses, had a constant increase between the beginning and the end of its utilization.

The index of ripening of the cheeses, did not undergo interference as the levels of 10 and 20 grams of nitrate to each 100 liters of milk were utilized, but this index was slightly decreased by the use of 50 g of nitrate respecting the cheeses made with the other two levels.

[redacted]

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALAIS, C. Science du lait: principes des tecniques laitières. 4.ed. Paris, Sepaic, 1984. 814p.

2. ARORA, S.K. Nitrate in chesse: its effect on E. coli and formation of n-nitrosamines. Guelph, the University of Guelph, 1980. 105p. (Tese M.S.).

3. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 12ed. Washington, 1975. 1094p.

4. BENEDICT, R.C. Biochemical basis for nitrite-inhibition of Clostridium botulinum in cured meat. Journal of Food Protection, Michigan, 43(11):877-91, Nov. 1980.

5. BERGERE, J.L. & HERMIER, J. Le lait de fromagerie. In: ECK, A., Coord. Le fromage. Paris, Lavoisier, 1984. pt. 2, p. 181-92.

6. BERGEY's manual of determinative bacteriology. 8.ed. Baltimore, the William et Wilkins, 1974. 1250p.

7. BHAVADASAN, M.K.; ABRAHAM, M.J. & GANGULI, N.C. Influence of agitation on milk lipolysis and release of membrane-bound oxidase. Journal of Dairy Science, Champaign, 65(9):1692-5, Sept. 1982.

8. BJORCK, L. & CLAESSON, O. Xanthine oxidase as a source of hydrogen peroxide for the lactoperoxidase system in milk. Journal of Dairy Science, Champaign, 62(8):1211-5, Aug. 1979.

9. BOURGEOIS, C.M.; LE PARC, O.; ABGRALL, B. & CLERET, J.J. Membrane filtration of milk for count spores of Clostridium tyrobutyricum. Journal of Dairy Science, Champaign, 67 (11):2493-9, Nov. 1984.

10. BRASIL. Ministério da Agricultura. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Brasília, 1980. 166p.

11. _____. Secretaria de Inspeção de Produtos Animais. Brasília, 1983, p.ir.

12. _____. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. II. Métodos físicos e químicos. Brasília, 1981, p.ir.

13. CERBULIS, J. & FARREL, Jr., H.M. Xanthine oxidase activity in dairy products. Journal of Dairy Science, Champaign, 60(2):170-6, Feb. 1977.

14. CHAMBA, J. Manifestation de la fermentation butyrique dans l'emmental. La Technique Laitière, Rennes Cedex, (986): 9-13, Avr. 1984.

15. CHILE. Secretaria de Estado de Agricultura/ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A AGRICULTURA E A ALIMENTAÇÃO/UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SANTO DOMINGO. Manual correspondiente al modulo III - B; elaboracion de quesos. Santiago, 1985. 1323p.

16. CHOISY, C.; DESMAZEAUD, M.; GRIPON, J.C.; LAMBERET, G.; LENOIR, J. & TOURNEUR, C. Les phénomènes microbiologiques et enzymatiques et la biochimie de l'affinage. In: ECK, A., coord. Le fromage. Paris, Lavoisier, 1984. pt.1, cap.4, p.62-83.

17. COLLINS-THOMPSON, D.L. & RODRIGUEZ LOPEZ, G. Depletion of sodium nitrite by lactic acid bacteria isolated from vaccum-packed bologna. Journal of Food Protection, Michigan, 44 (8):593-5, Aug. 1981.

18. COMPAIRE FERNANDEZ, C. Comentarios sobre la hinchazón butírica del queso. Revista Española de Lecheria, Madrid, (35):7-19, 1960.

19. CROSBY, N.T. & SAWYER, R. N-nitrosamines: A review of chemical and biological properties and their estimation in foodstuffs. Advances in Food Research, New York, 22:1-71, 1976.

20. DEVOYOD, J.J. L'emploi des nitrates dans la fabrication des fromages. Annales de la Nutrition et de L'Alimentation, Paris, 30:789-92, 1976.

21. DOLEZÁLEK, J. & VORISKOVÁ, A. Effect of nitrate and nitrite on bacteria of the eschericheae group and species of genus Clostridium. In: INTERNATIONAL DAIRY CONGRESS, 15, London, 1959. Bungay, Richard Clay, 1959. V.2, p.616-21.

22. DONNELLY, L.S. & BUSTA, F.F. Anaerobic sporeforming microorganism in dairy products. Journal of Dairy Science, Champaign, 64(1):161-6, Jan. 1981.

23. DORANGE, J.J. Effects mutagènes des nitrates et des nitrites. Annales de la Nutrition et de L'Alimentation, Paris, 30: 859-66, 1976.

24. EDWARDS, S.T. & SANDINE, W.E. Symposium; microbial metabolites of importance in dairy products. Journal of Dairy Science, Champaign, 64(12):2431-8, Dec. 1981.

25. EL-GENDY, S.M.; NASSIB, T.; ABED-EL-GELLEL, H. & HANAFY, N. E.H. Survival and growth of Clostridium species in the

presence of hydrogen peroxide. Journal of Food Protection, Michigan, 43(6):431-2, June 1980.

26. ELGERSMA, R.H.C.; SEN, N.P.; STEPHANY, R.W.; SCHULLER, P.L.; WEBB, K.S. & GOUGH, T.A. A collaborative examination of some dutch cheeses for the presence of volatile nitrosamines. Netherland Milk and Dairy Journal, Amsterdan, 32 (2):125-42, June 1978.

27. FATICHENTI, F.; BERGERE, J.L.; DEIANA, P. & FARRIS, G.A. Antagonistic activity of Debariomyces hansenii towards Clostridium tyrobutyricum and Clostridium butyricum. Journal of Dairy Researche, London, 50(4):449-57, Nov. 1983.

28. FEDERATION INTERNATIONAL LATIÈRE. Comission E. Analytical methods, laboratory Techniques. Determination of nitrate & nitrite in cheese, report of group E8. In: ANNUAL SESSIONS IN SALZBURG, 59, Salzburg, 1975. Salzburg, Austria, 1975. n.p. (E-DOC. 65).

29. FOREMAN, J.K. & GOODHEAD, K. The formation and analysis of n-nitrosamines. Journal of the Science of Food and Agriculture, London, 26:1771-83, 1975.

30. FUNDAÇÃO CENTRO TECNOLÓGICO DE MINAS GERAIS. Manual para fabricação de laticínios. Belo Horizonte, 1985. p.ir. (Série de Publicações Técnicas, 14).

31. FURTADO, M.M. & LOURENÇO NETO, J.P. de M. Algumas considerações a respeito da fabricação dos queijos Prato e Minas curado. In: ENCONTRO E CONCURSO DE QUEIJOS DA INDÚSTRIA DE LATICÍNIOS E COOPERATIVAS DO SUL DE MINAS, 3, Lavras, 1984. Material técnico. Lavras, ESAL, 1984. 17p.

32. _____ & _____. Estudo rápido sobre a composição média dos queijos Prato e Minas no mercado. Boletim do Leite, Rio de Janeiro, (605):4-10, mar. 1979.

33. _____ & SOUZA, H.M. Estudo rápido sobre a evolução da salga do queijo Prato em salmoura. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, 36(213):5-10, jan./fev. 1981.

34. _____ & WOLFSCHOON-POMBO, A.F. Étude de quelques aspects de la fabrication des fromages brésiliens Prato et Minas. Le Lait, Paris, (21):21-23, Juin 1977.

35. GALESLOOT, T.E. Concerning the action of nitrate in preventing butyric acid fermentation in cheese. Netherland Milk and Dairy Journal, Amsterdan, 15:405-10, 1961.

36. _____. Effect of oxidising salts upon the oxidation reduction potential of cheese and upon the development of butyric acid bacteria in cheese. Netherland Milk and Dairy Journal, Amsterdan, 15:68-79, 1961.

37. _____. Some factors affecting the efficiency of nitrate in controlling the butyric acid fermentation in Edam and Gouda cheese. Netherland Milk and Dairy Journal, Amsterdan, 18(2):136-8, June 1964.

38. _____ & HASSING, F. Effect of nitrate and chlorate and mistures of these salts on the growth of coliform bacteria. Results of model experiments relatade to gas defects in cheese. Netherland Milk and Dairy Journal, Amsterdan, 37(1/2):1-10, 1983.

39. GOODHEAD, K. & GOUGH, T.A. The reliability of a procedure for the determination of nitrosamines in food. Food and Cosmetics Toxicology, London, 13:307-12, 1975.

40. _____; _____; WEBB, K.S.; STADHOUDERS, J. & ELGERSMA, R.H.C. The use of nitrate in the manufacture of Gouda cheese. Lack of evidence of nitrosamine formation. Netherland Milk and Dairy Journal, Amsterdam, 80(3/4):207-21, 1976.

41. GOUGH, T.A.; MACPHAIL, M.F.; WEBB, K.S.; WOOD, B.J. & COLEMAN, R.F. An examination of some foodstuffs for the presence of volatile nitrosamines. Journal of the Science of Food and Agriculture, London, 28:345-51, 1977.

42. GRATZ, O. Experiments on hard cheese made from milk pasteurized with the holder method. In: INTERNATIONAL DAIRY CONGRESS, 20, Paris, 1978. Bungay, Richard Clay, 1978. V.E, 766-7.

43. GRAY, J.I.; IRVINE, D.M. & KAKUDA, Y. Nitrates and n-nitrosamines in cheese. Journal of Food Protection, Michigan, 42(3):263-72, Mar. 1979.

44. GUIGAMP, M.F. & LINDEN, G. Teneurs en NOx du lait et des produits laitiers: aspects technologiques et biochemiques. Le Lait, Paris, 63:425-42, Nov./Dec. 1983.

45. HARDY, J. L'activité de l'eau et le salage des fromages. In: ECK, A., coord. Le fromage. Paris, Lavoisier, 1984. pt.1, cap.3, p.37-63.

46. HOISY, C.; GUEGUEN, M.; LENOIR, J.; SEHMIDT, J.L. & TOURNEUR, C. Les phénomènes microbiens. In: ECK, A., coord. Le fromage, Paris, Lavoisier, 1984. pt.3, cap.1, p.279-90.

47. KEENAN, T.W.; MOON, T.W. & DYLEWSKI, D.P. Lipid globules retain globule membrane material after homogenization. Journal of Dairy Science, Champaign, 66(2):196-203, Feb. 1983.

48. KLEIN, D. & DERBY, G. Les composés n-nitroses: ocurrence et formation. Caher de Nutrition et de Dietetique, Paris, 16 (2):89-107, 1981.

49. KLEIN, D.; LAFONT, P. & KESHAWARZ, A. Influence des microorganismes sur la formation des nitrosamines. Annales de la Nutrition et de L'alimentation, Paris, 32:425-35, 1978.

50. _____; POULLAIN, B. & DEBRY, G. Les nitrosamines revue. Annales de la Nutrition et de L'Alimentation, Paris, 30: 1-13, 1976.

51. KLETER, G.; LAMMERS, W.L. & VOS, E.A. The influence of pH and concentration of lactic acid and NaCl on the growth of Clostridium tyrobutyricum in whey and cheese. 2. Experiments in chesse. Netherland Milk and Dairy Journal, Amsterdan, 38(1):31-41, Mar. 1984.

52. _____; _____ & _____. The influence of pH and concentration of lactic acid and NaCl on the growth of Clostridium tyrobutyricum in whey and cheese. 1. Experiments in whey. Netherlands Milk and Dairy Journal, Amsterdan, 36(2):78-87, June 1982.

53. KOSIKOWSKI, F. Determination of Soluble Protein in Cheese. In: ____. Cheese and Fermented Milk Foods. 3.ed. Michigan, Edwards Brothers, 1970. cap.21, p.351-2.

54. _____ & MOCQUOT, G. Influence of silage on quality of cheese milk. In: ____. Advance in cheese technolology. Rome, FAO, 1958. p.21-33.

55. KURSTEINER, J. Emmentalerkäse - qualitatsproduktion und das konservierte crünfutter (silofutter). Schweizerisch Landwirtschaft Liche Forschung. Bern, 1:4-9, 1926.

56. LANGEVELD, L.P.M. Effect of the bactofugation of milk on the butyric acid fermentation in Gouda Cheese. Netherland Milk and Dairy Journal, Amsterdan, 25(1):11-8, Mar. 1971.

57. LEMBKE, V.F.; KRUSCH, U.; PROPEK, D.; RATHJEN, G. & TEUBER, M. Verwendung von entkeimungszentrifugen zur senkung des nitratzusatzes in der schinittkaseherstellung. Milchwirtschftliche Forschungsberichte, Kiel, 36:31-61, 1984.

58. LHUISSIER, M.; SUSCHETET, M. & CAUSERET, J. Influence des nitrites et des nitrates sur certains aspects de l'état de nutrition vitaminique. Annales de la Nutrition et de L'Alimentation, Paris, 30:839-45, 1976.

59. LOWY, R. & MANCHON, P. Efects toxiques divers des nitrates et des nitrites. Annales de la Nutrition et de L'Alimentation, Paris, 30:839-45, 1976.

60. MAGEE, P.N. Toxicity of nitrosamines: their possible human health hazards. Food and Cosmetics Toxicology, London, 9: 207-18, 1971.

61. MATHIEU, H.; LUQUET, F.M.; MOUILLET, L. & BOUDIER, J.P. Présence de nitrates et de nitrites dans le lait. Evaluation de la teneur des laits français en nitrate-nitrites: en-

quêts 1973, 1974, 1975, 1979. Annales de la Nutrition et de L'Alimentation, Paris, 34:1045-52, 1980.

62. METZIER, D.E. Coenzymes - nature's special reagents. In: ____. Biochemistry - the chemical reactions of living cells. New York, Academic Press, 1977. p.428-516.

63. MONZANI, A.; PARENTI, C.; PLESSI, M. & COPPINI, D. Nitrati e nitriti nel formaggio permigiano reggiano. Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia, Rome, 32(1):1-14, 1981.

64. MONTESANO, R. Concérogénicité des composés n-nitrosés. Annales de la Nutrition et de L'Alimentation, Paris, 30: 867-71, 1976.

65. MORAES, J.M. Influência de diferentes concentrações de nitratos e nitritos na inibição de esporulados anaeróbios gasógenos do leite. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, 36(215):21-3, maio/jun. 1981.

66. MOREL, F. Les "butyriques": un problème qui touche 50% des fabrications fromageres. Production Laitière Moderne, Paris, (114):57-61, 1983.

67. NIEUWENHOF, F.F.J. Mesophilic lactobacilli as a cause of nitrate reduction in Gouda cheese. Netherland Milk and Daiy Journal, Amsterdan, 31(3):153-62, June 1977.

68. NIJHUIS, V.H.; HEESCHEN, W.; BLUTHGEN, A. & TOLLE, A. Zum vorkommen von nitrat ind nitrit in milch und milcherzeugnissen eine situationsanalyse. Milchwissenschaft, Kiel, 35(11):678-80, 1980.

69. OTERHOLM, B. & ENGAN-SKEI, I. Anaerobic sporeformers and the milking environment. Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte, Kiel, 33(4):337-42, 1981.

70. RIBEIRO, J.A. Queijo prato e variedades. In: ____. Fabricação de queijos. 2.ed. Rio de Janeiro, SIA, 1961. p. 109-21.

71. ROBERTS, T. the microbiological role of nitrite and nitrate. Journal of the Science of Food and Agriculture, London, 26:1755-60, 1975.

72. ROCHIZE, S. Les nitrates et nitrites comme additifs aux aliments. Annales de la Nutrition et de L'Alimentation, Paris, 30:715-42, 1976.

73. SCOTT, D. Oxireductases. In: REED, G., ED. Enzymes in food processing. 2.ed. New York, Academic Press, 1975. Cap.9, p.219-54.

74. SEN, N.P. & DONALDSON, B. Improved colorimetric for determining nitrate and nitrite in foods. Journal of Association of Official Analitycal Chemists, Ontario, 61(6): 1389-94.

75. SOUZA, E.A. de. Antiguidade e importância da indústria de queijo. In: ____. Tecnologia da fabricação de queijos. Juiz de Fora, Lar Católico, 1960. p.5-7.

76. STEPHANY, R.W.; ELGERSMA, R.H.C. & SCHULLER, P.L. Nitrate, nitrite and n-nitrosamine contents of various types de dutch cheese. Netherland Milk and Dairy Journal, Amsterdan, 32(2):143-8, June 1978.

77. SWANN, P.F. The toxicology of nitrate, nitrite and n-nitroso compounds. Journal of the Science of Food and Agriculture, London, 26:1761-70, 1975.

78. TAYLOR, S.L.; SOMERS, E.B. & KRUEGER, L.A. Antibotulinal effectiveness of nisin-nitrite combinations in cultures medium and chicken frankgurter emulsions Journal of Food Protection, Michigan, 48(3):234-9, Mar. 1985.

79. TERPLAN, V.G.; BUCSIS, L. & HEERDEGEN, C. Nitrosamine in futter milch und milchprodukten. Archiv fur Lebensmitterlhygiene, Hannover, 31:1-32, Jan./Feb. 1980.

80. THOMÉ, K.E. & SWARTLING, P. Influence of silage quality on cheese milk and cheese quality. In: INTERNATIONAL DAIRY CONGRESS, 8, Hague, 1953. Proceedings... Hague, 1953. V.2, p.69-75.

81. USCHER, C.D. & TELLING, G.M. Analysis of nitrate and nitrite in foodstuffs: a critical review. Journal of the Science of Food and Agriculture, London, 2:17-93-805, 1975.

82. VOS, E.A. The influence of potassium nitrate on butyric acid fermentation of cheese. Netherland Milk and Dairy Journal, Amsterdan, 2:223-45, June 1948.

83. WALKER, R. Naturally occuring nitrate/nitrite in foods. Journal of the Science of Food and Agriculture, London, 26: 1735-42, 1975.

84. WALTER, H.W. Aerobic and anaerobic spore-forming bacteria and food spoilage. In: DEFIGUEIREDO, M.P. & SPLITTSTOESSER, D.F. Food microbiology: public health and spoilage aspects. Westport, AVI, 1976. Cap.12, p.356-86.

85. ZERFIRIDIS, G.K. & MANOLKIDIS, K.S. Contents of Nitrates and nitrites in some greek and imported cheeses. Journal of Food Protection, Michigan, 44(8):576-9, Aug. 1981.

86. ZIKAKIS, J.P. & WOOTERS, C. Activity of xanthine oxidase in dairy products. Journal of Dairy Science, Champaign, 63 (6):893-904, June 1980.

9. APÊNDICE

TABELA 1 - Extrato seco total do queijo Prato*, elaborado com leite adicionado de diferentes níveis de $NaNO_3$.

Níveis de $NaNO_3$ Adicionado ao Leite (g/100 litros)	E.S.T. - %	
	Média ($\bar{x}$)	$S(\bar{x})$
10	55,54	0,53
20	54,66	0,90
50	52,64	0,27

* Determinado logo após a prensagem.

TABELA 2 - Teores médios de sal (NaCl) do queijo Prato, 16 horas após sua salga, elaborado com leite adicionado de diferentes níveis de $NaNO_3$.

Níveis de $NaNO_3$ Adicionado ao Leite (g/100 litros)	Teor de Sal (NaCl) - %	
	Média ($\bar{x}$)	$s(\bar{x})$
10	1,90	0,07
20	1,90	0,04
50	1,78	0,05

TABELA 3 - Resumo da análise de variância dos teores médios de NO_3^- do queijo, em diferentes estágios da fabricação e da maturação.

C.V.	G.L.	Quadrados Médios				
		Pós-Prensa	Pós-Salga	F* + 12	F* + 24	F* + 36
Níveis de $NaNO_3$	2	19385,7935	15154,2421	16052,0076	17485,5878	15089,2450
Resíduo	9	4,5441	2,1751	7,8125	7,892	4,0064

F = Dia da fabricação.

TABELA 4 - Resumo da análise de variância dos teores médios de NO_2^- do queijo, em diferentes estágios da fabricação e da maturação.

C.V.	G.L.	Quadrados Médios				
		Pós-Prensa	Pós-Salga	F* + 12	F* + 24	F* + 36
Níveis de $NaNO_3$	2	0,1314	0,2121	0,7556	0,4556	0,2225
Resíduo	9	0,0320	0,0666	0,0054	0,0264	0,0031

F = Dia da fabricação.

TABELA 5 - Resumo da análise de variância dos teores médios de NO_3^- e NO_2^- do soro.

C.V.	G.L.	Quadrados Médios	
		NO_3^-	NO_2^-
Níveis de $NaNO_3$	2	88469,5796	0,5976
Resíduo	9	10,7845	0,1596

TABELA 6 - Resumo da análise de variância dos índices médios de maturação do queijo, em diferentes estágios da fabricação e da maturação.

C.V.	G.L.	Quadrados Médios			
		Pós-Prensa	F* + 12	F* + 24	F* + 36
Níveis de $NaNO_3$	2	0,0211	1,5044	5,3683	1,8593
Resíduo	9	0,0259	0,0400	0,3160	0,1741

F = Dia da fabricação.

TABELA 7 - Resumo da análise de variância do pH do queijo, em diferentes estágios de fabricação e da maturação.

C.V.	G.L.	Quadrados Médios			
		Pós-Prensa	F* + 12	F* + 24	F* + 36
Níveis de $NaNO_3$	2	0,0129	0,0013	0,0006	0,0007
Resíduo	9	0,0007	0,0001	0,0001	0,0001

F = Dia da fabricação.

TABELA 8 - Resumo da análise de variância dos teores médios de NO_3^- do queijo, em diferentes níveis de $NaNO_3$/100 litros de leite.

C.V.	G.L.	Quadrados Médios		
		10 Gramas	20 Gramas	50 Gramas
Estágios de Fabricação e Maturação	4	107,75	716,69	652,09
Resíduo	15	1,37	7,89	8,49

TABELA 9 - Resumo da análise de variância dos teores médios de NO_2^- do queijo, em diferentes níveis de $NaNO_3$/100 litros de leite.

C.V.	G.L.	Quadrados Médios		
		10 Gramas	20 Gramas	50 Gramas
Estágios de Fabricação e Maturação	4	0,074	0,36	0,77
Resíduo	15	0,029	0,01	0,02