JORGE LUIS FERREIRA RIBEIRO

# AVALIAÇÃO DE ALTERNATIVAS PARA A ADIÇÃO DE NITRATO DE SÓDIO AO LEITE PARA FABRICAÇÃO DE QUEIJO

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



LAVRAS — MINAS GERAIS
1989

AVALIAÇÃO DE ALTERNATIVAS PARA ADIÇÃO DE NITRATO DE SÓDIO AO LEITE PARA FABRICAÇÃO DE QUEIJOS

Aprovada:

Prof. Múcio Mansur Furtado, PhD
Orientador

Prof. Luiz Carlos Gonçalves Costa, MS

Prof. Cláudio Furtado Soares, MS

In Memoriam

Ao meu pai, Sebastião Henriques Ribeiro, que sempre me apoiou e incentivou.

À minha mãe, Eni, às minhas irmãs Rita de Cássia e Rosângela, à minha sempre e sempre amiga Jacilene,

DEDICO

# AGRADECIMENTOS

À ESAL - Escola Superior de Agricultura de Lavras, pelos ensinamentos.

Ao Centro de Pesquisa e Ensino/Instituto de Laticínios "Cândido Tostes", da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - CEPE/ILCT-EPAMIG, Juiz de Fora-MG, pela oportunidade de realização do trabalho de pesquisa em suas instalações e também aos funcionários, pesquisadores e direção, que mesmo em grande crise financeira, auxiliaram na condução deste trabalho de pesquisa.

À CAPES, pela ajuda financeira para a realização do curso.

Ao Pesquisador Múcio Mansur Furtado, pela idealização do trabalho, pela eficiente orientação, pela amizade e principalmente, pelo apoio.

Ao Professor Luiz Carlos Gonçalves Costa, pela grande amizade, por todas as sugestões, estímulo e apoio em todo o decorrer do Curso.

Ao Professor Cláudio Furtado Soares, pelas críticas e sugestões, para o aperfeiçoamento deste trabalho.

Aos amigos Ewalde, Antônio Elísio, Telma ,Elita, Maristela,

Ana, Filomena e Marta, recém formadas no Curso de Farmácia e Bioquímica, pelo auxílio nas análises físico-químicas.

À Eliana (esposa do Professor Múcio) pelo apoio e ajuda na montagem da tese.

À Marise (esposa do Professor Gonçalves) pela amizade e apoio.

Ao Professor Edson Clemente dos Santos, pelas críticas e sugestões.

Ao Pesquisador Rui Verneque, pelos estudos estatísticos.

À Sônia Borges, pela dedicação no serviço de datilografia.

Aos amigos Marco Antonio, Paulo Henrique, André e João Pedro, pelo apoio, colaboração e sincera amizade.

A todos os amigos do Mestrado pela convivência e amizade.

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

# BIOGRAFIA DO AUTOR

Jorge Luis Ferreira Ribeiro, filho de Sebastião Henriques Ribeiro e Eni Maria Ferreira Ribeiro, nasceu na cidade de Rio Pomba, Minas Gerais, em 05 de maio de 1962.

Concluiu o curso de 1º grau no Colégio Pio X, em Santos Dumont, MG e, o 2º grau na Escola Cristo Redentor, em Juiz de Fora, MG.

Em março de 1985, formou-se em Farmácia e Bioquímica pela Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG.

Em 1985, iniciou o Curso de Mestrado em Ciência dos Alimentos, na Escola Superior de Agricultura de Lavras - ESAL, na cidade de Lavras, MG.

SUMMARIO

Página

# LISTA DE TABELAS

Página

Página

# LISTA DE FIGURAS

Figura | Página

Figura | Página

## 1. INTRODUÇÃO

A fabricação de queijos no Brasil é de história relativamente recente, tendo-se firmado, do ponto de vista industrial, no início deste século e sobretudo a partir da década de 20, com o estabelecimento de imigrantes dinamarqueses no Sul de Minas e holandeses na região de Santos Dumont e Barbacena, em Minas Gerais. De lá para cá, cresceu muito o número de fábricas de queijos e aumentou o número de variedades de queijos disponíveis no mercado, FURTADO (19).

O número de fábricas cresceu entre 1982 (411 fábricas) e 1986 (541 fábricas no país). Neste mesmo período, a produção total de queijos aumentou em mais de 37 mil toneladas, o que demonstra que as fábricas de queijos tiveram sua capacidade ampliada de 341,74 toneladas/queijo/fábrica para 373,18 toneladas/queijo/fábrica, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA (47).

O Prato, um queijo tipicamente nacional, ocupa a liderança da produção de queijos no país, com uma produção de 49.203 toneladas. Em 1986, seguido pela Mussarela com 40.059 toneladas neste mesmo ano, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA (47).

Sob a denominação de queijo Prato estão incluídos as variedades Lanche, Cobocó, Gouda e Estepe, que possuem as mesmas raízes e

são muito similares, FURTADO (19).

A participação de Minas Gerais, tradicionalmente o Estado leiteiro do país, continua expressiva na produção de queijos. Em 1986, cerca de 38.38% da produção total de queijo Prato no Brasil, foram produzidos neste Estado, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA (47).

A indústria queijeira sofre freqüentemente importantes perdas na elaboração de produtos. A fabricação industrial de queijos é um processo fermentativo no qual atuam importantes fatores, como microrganismos diversos que se apresentam no leite e que são procedentes do animal produtor, do ambiente de estábulo, das forragens, do ordenhador ou de seus utensílios. Em todos os casos, a importância econômica das perdas é tão grande que às vezes inutiliza-se completamente o produto final, FERNANDEZ (15).

Diversos tipos de defeitos podem afetar os queijos, suas origens são muito diversas. Muitos defeitos são decorrentes de fabricação na qual não se observou a técnica correta, outros decorrem de má qualidade de ingredientes ou ainda de deficiências técnicas no tratamento físico dos queijos, ou seja, prensagem, cuidados na maturação e controle de temperaturas, maturação e estocagem. De maneira geral, existem regras específicas para o combate e prevenção dos diversos defeitos. Um dos defeitos mais temidos é o estufamento dos queijos, que pode ocorrer no final da fabricação (prensagem ou salga) ou no decorrer da maturação. No primeiro caso, é conhecido como estufamento precoce e é causado por bactérias do grupo coliforme. Na maioria das vezes, tem sua origem na recontaminação do leite pasteurizado e, portanto, tem estreita relação com a boa qualidade dos

ingredientes adicionados, particularmente o fermento lático. Já o segundo tipo de estufamento, conhecido como estufamento tardio tem causas bem definidas mas a solução não reside na sanitização, sendo um defeito complexo. No Brasil, fabrica-se uma elevada quantidade de queijos maturados, como aqueles da linha Prato dentre outros. Todos são susceptíveis de apresentar estufamento. Quando tal ocorre, os queijos são profundamente alterados do ponto de vista estético, físico-químico e organolêptico, de maneira que dificilmente podem ser vendidos no mercado regular, FURTADO (19).

A fabricação de queijos resulta na obtenção de um líquido amarelo-esverdeado que é o soro. Para cada litro de leite coagulado para fabricação de queijos, produz-se de 0,6 a 0,9 litros de soro. Estima-se que em 1986, somente nas indústrias registradas no Serviço de Inspeção Federal (SIF) foram produzidos aproximadamente 11.501 toneladas de soro, sendo que apenas cerca de 2,13% deste total foi industrializado visando a produção de soro em pó, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA (47).

O soro pode ser visto sob dois aspectos:

1. como um agente de poluição, considerando-se um produto descartável. A descarga do soro em cursos d'água pode provocar a destruição da flora e fauna devido à sua alta demanda biológica de oxigênio (DBO) que é da ordem de 30.000 a 40.000 mg de $O_2$ por litro de soro;

2. como um produto nobre, que pelo seu teor em proteínas solúveis rica em aminoácidos essenciais e presença de grande número de vitaminas do grupo B, deve ser processado para alimentação humana ou de animais.

Bebidas ricas em proteínas tem sido formuladas nos últimos anos com finalidade terapêutica, utilizando o soro como elemento básico da receita. Ocorre porém que, para evitar o estufamento tardio em queijos, provocado por bactérias do gênero Clostridium (as principais espécies são o Clostridium tyrobutyricum, Clostridium butyricum e Clostridium sporogenes) o leite é adicionado de $NaNO_3$ (nitrato de sódio) ou $KNO_3$ (nitrato de potássio) para a fabricação de queijos. Como tais compostos são solúveis, grande parte deles se perde no soro, DEVOYOD (10).

O nitrato pode ser reduzido a nitrito na parte superior do trato gastro-intestinal de crianças e pela microflora bucal ao nível da saliva, DORANGE (13). No soro, a presença de bactérias capazes de reduzir nitratos faz também aumentar o teor nitritos, DEVOYOD (10).

Os riscos genéticos da consumação de nitrato e de nitrito não se limitam aos efeitos mutagênicos eventuais dos nitritos, mas também à reatividade química elevada que conduzem à formação de derivados "nitrosos". Os nitritos são susceptíveis de nitrosação ao nível do trato digestivo humano ; Compostos C, S ou N-nitrosos podem ser formados. Compostos C ou S nitrosos são mutagênicos, mas os compostos N-nitrosos são os que apresentam o maior risco. A formação de nitrosaminas ou de nitrosamidas é resultante da reação de nitrato com aminas secundárias ou terciárias, aminoácidos ou amidas, DORANGE (13).

A utilização do soro sem contaminação com nitrato ou nitrito , visando a elaboração de produtos lácteos, minimizaria a carência proteica de origem animal, que atinge uma grande parte da população

brasileira (gestantes, nutrizes, crianças e pessoas idosas) notadamente aquela parte proveniente de classes sociais de baixa renda. Por outro lado, o aproveitamento industrial do soro de queijo, contribuiria para a redução do custo operacional da produção de queijos e para a preservação do meio ambiente.

O presente trabalho teve como objetivos principais:

1. Determinar a quantidade ideal de nitrato a adicionar ao tanque de fabricação contendo apenas 55% do volume original de soro, de maneira tal que se obtenha no queijo o mínimo necessário para a preservação do estufamento tardio (0,5 mg a 1 mg de nitrito por quilograma de queijo), ABREU (1). Assim, cerca de 45% do soro estaria isento de nitrato e poderia ser utilizado para elaboração de bebidas e similares;

2. Determinar a quantidade ideal de nitrato a ser adicionada à salmoura contendo 20% de NaCl e que atenda ao mínimo exigido no queijo para inibir o estufamento tardio, ficando assim todo o soro livre de nitrato;

3. Determinar a curva de redução de nitrato e nitrito no queijo ao longo da maturação, visando conhecer o período em que o queijo seria mais vulnerável ao estufamento tardio nos dois diferentes tratamentos de adição de nitrato de sódio;

4. Determinar o INP (Índice de Profundidade), INEM (Índice de Extensão da Maturação), teores de NaCl, $NO_3^-$, $NO_2^-$ e os valores de pH no decorrer da maturação dos queijos elaborados pelos dois tratamentos de adição de nitrato. Estes índices serão eventualmente medidos nas regiões da casca e do centro do queijo.

# 2. REVISÃO DA LITERATURA

## 2.1. O Estufamento Tardio dos Queijos

A contaminação do leite com Clostridea pode causar estufamento tardio no queijo, EL-GENGY et alii (27) e LANGEVELD & GALESLOOT (92). No estufamento há produção de gases ($CO_2$ e $H_2$) e formação de ácido butírico. A causa normal desta produção de gás é a fermentação do lactato por espécies do Clostridea, com formação de flavor inaceitável, BOTAZZI (5) e EL-GENDY et alii (27).

O aproveitamento dos queijos com estufamento tardio é impossível pelo seu aspecto repugnante e seu odor característico de manteiga rancificada (ácido butírico), o que os torna impróprios para o consumo, FERNANDEZ (15).

O estufamento aparece após poucas semanas de fabricação, dependendo do número de esporos, EL-GENGY et alii (27) e de outros fatores como o pH e o teor de sal do queijo. O defeito aparece freqüentemente em queijos duros e semi-duros, nos quais, devido a uma desoragem mais intensa, o teor de lactose é baixo. Limita-se assim a fermentação lática que se opõe em grande parte ao desenvolvimento do Clostridium tyrobutiricum por causar um abaixamento do pH a um nível suficiente para inibição dos anaeróbios, GALESLOOT & HASSING

(26) e MAUBOIS (46).

O estufamento determina o aparecimento de cavidade na massa do queijo, tanto maiores quanto mais intensa for a contaminação. A estrutura interna da massa do queijo é destruída, podendo provocar até o rompimento da superfície do queijo FERNANDEZ (15). Na fermentação há formação de produtos gasosos com $CO_2$ e $H_2$, podendo-se ainda produzir em quantidades variáveis, ácido acético, vestígio de álcool etílico e produtos solúveis da paracaseína, sendo estes últimos os responsáveis pelo sabor e odor mais desagradáveis do queijo, ALAIS (2) e FERNANDEZ (15).

O gás carbônico é bastante solúvel em água e portanto sua presença em forma de olhaduras no queijo só se manifestará quando este saturar completamente o meio aquoso em que está dissolvido. Entretanto, qualquer elevação da temperatura a que se submete o queijo, diminui drasticamente a solubilidade do $CO_2$ na água fazendo com que olhaduras surjam precocemente. Já com o hidrogênio ($H_2$) ocorre diferente: não é solúvel em água e quando produzido provoca a formação imediata de olhaduras no queijo, que serão maiores à medida que o defeito se manifesta mais precocemente no queijo. É que quando o queijo está mais jovem a massa apresenta menor elasticidade (índice de maturação mais baixo) e, além disso, com um conteúdo residual de glicose, que pode ser facilmente fermentada, FURTADO (18).

GALESLOOT (24) afirma que uma diminuição no conteúdo de água do queijo durante a maturação é um fator importante na prevenção do estufamento tardio, devido a um aumento correspondente na concentração de sal. Por outro lado o envolvimento dos queijos em

embalagens impermeáveis não permite esta diminuição da umidade, aumentando com isto o risco da germinação dos esporos de Clostridea , quando presentes.

Além disso, as temperaturas elevadas a que se submetem a coalhada dos queijos de massa cozida tem provavelmente uma influência favorável no aparecimento do defeito pela diminuição do potencial de oxiredução, pela formação de compostos facilmente assimiláveis pelos Clostridea , bem como pela destruição de microrganismos antagônicos, ALAIS (2).

## 2.2. A Contaminação do Leite

A pasteurização do leite, seja pelo processo rápido (HTST) ou lento, estimula mais do que impede a fermentação butírica, FERNANDEZ (15) e ZERFIRDIS & MANOLKIDIS (63).

Os Clostridea são encontrados no trato intestinal de animais, no solo e por isso, encontrados também em estercos, forragens (silagem), água, pêlo de animal, poeira, vasilhames e no ar FERNANDEZ (15) e FURTADO (18), (Ver Tabela 1). KOSIKOWSKI & MOCQUOT (41) afirmam que em 1 $cm^3$ de solo de fazenda contém em média 300 a 400 esporos. Vacas alimentadas com forragens ensiladas e contendo esporos de Clostridea sofrem, no tubo digestivo, proliferação destas bactérias, que são eliminadas nas fezes, posteriormente, DONNELLY & BUSTA (12) e VEYSSEYRE (58). DEVOYOD (10), afirma que apenas 1 esporo/100 ml de leite pode causar o estufamento tardio e que os tra-

TABELA 1 - Classificação da forragem ensilada quanto à presença de Clostridea, segundo FURTADO (26).

| Esporos por grama de forragem ensilada | Classificação |
|---|---|
| Menos de 100 | ótimo |
| de 100 a 1.000 | bom |
| de 1.000 a 10.000 | ruim |
| acima de 10.000 | péssimo |

tamentos térmico do leite são insuficientes para a prevenção do problema. KURSTEINER, segundo FERNANDEZ (15), demonstrou que só 4 células deste bacilo/kg de queijo é o suficiente para provocar o estufamento.

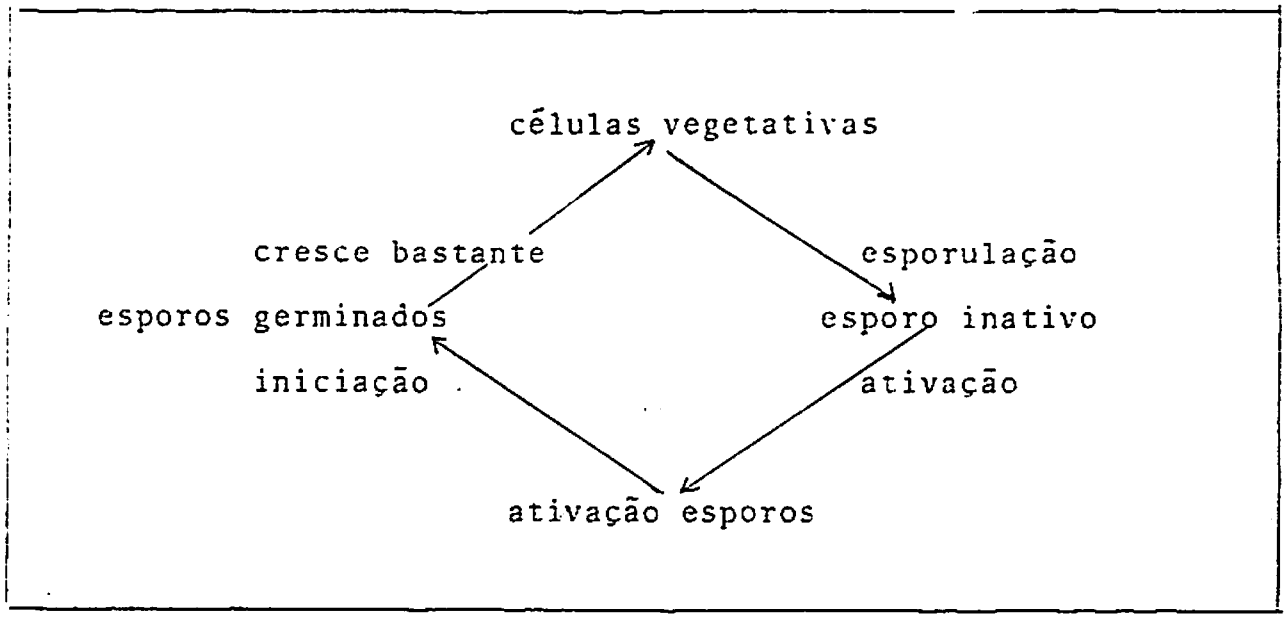
Segundo o Estabelecimento Federal da Indústria Leiteira de Liebefeld, com 42.800 bactérias/kg,o queijo apresenta-se após 12 dias de fabricação, fortemente estufado e que abaixo de 0,42 bactérias/kg este se apresenta normal, mesmo após um bom período de maturação,FERNANDEZ (15).

## 2.3. Caracterização dos Clostridea.

A fermentação butírica é causada por germes do grupo Clostridea que são bactérias móveis, gram positivas, bastante grandes (0,8 a 6 micras), da família Bacillaceae. Segundo FURTADO (18) possuem uma característica importante, que é a capacidade de formação de esporos centrais ou subterminais.

As formas vegetativas em condições adversas se transformam em formas esporuladas, sendo que as formas vegetativas podem ser destruídas por um aquecimento a 76-78ºC, durante 12 minutos. Já as formas esporuladas são muito termoresistentes e suportariam aquecimento até 80ºC por 10 minutos, FERNANDEZ (15) e FURTADO (18).

O estágio de latência do esporo é caracterizado por mínimo de estágio metabólico, WALKER (59).




Ciclo de esporulação do Clostriea. WALKER (59).

O Clostridium esporulado resiste à pasteurização e a espécie de maior interesse é o Clostridium tyrobutiricum devido principalmente à grande atividade fermentativa. Fermenta quase sempre glucose e lactato de sódio, havendo também as espécies Clostridium butyricum, e Clostridium sporogenes, BOTTAZZI & BATTISTOTTI (6); FOSTER et alii (16); JAY (38); KLETER et alii (40) e MATTEUZZI & ANNIBALDI (45).

DONNELLY & BUSTA (12) associa o C. pasteunianum ao problema de esporulação em queijos. Estas quatro espécies tem temperatura ótima de crescimento em torno de 37ºC.

O Clostridium tyrobutiricum que é uma variedade do C. butyricum, é sacarolítico, fermentando muitos açúcares (glicose, sucrose, manitol), mas não a lactose e sim os lactatos, produzindo ácido butírico, $H_2$, $CO_2$ FERNANDEZ (15) e WALKER (59).

## 2.4. O Crescimento no Queijo

Supõe-se que o cozimento da massa na fabricação dos queijos, ao criar um menor Eh, contribui para a formação de compostos mais facilmente assimiláveis para estas bactérias ou destroi as bactérias menos resistentes ao calor que poderiam opor-se aos Clostridea Outros fatores que favorecem a aparição e, sobretudo, a intensidade dos defeitos desta fermentação, é a presença de casca no queijo, o que aumentaria a pressão interna dos gases, além de influenciar na concentração de sal e no pH do produto, FERNANDEZ, (15).

O desenvolvimento de Clostridea depende, em parte, do número de esporos susceptíveis de se desenvolver no queijo e, em parte de diferentes fatores próprios da tecnologia que favorecem o desenvolvimento desta bactéria. Deste modo, queijos com pH relativamente elevado, longo tempo de maturação a uma temperatura de 14 a 15 graus centígrados, umidade elevada e baixo conteúdo de sal, apresentam condições particularmente favoráveis ao desenvolvimento dessas bactérias, DEVOYOD (10).

O C. tyrobutiricum ocorre no queijo na forma de colônias. Colônias vegetativas morrem rápido, porém fatores adversos provocam a esporulação. O C. tyrobutiricum causa baixo Eh no queijo, LANGEVELD & GALESLOOT (42).

Durante o desenvolvimento do C. butyricum, pode haver fermentação de carbohidratos para produzir um grande número de componentes como ácidos graxos, aldeidos e álcoois; os principais compo

nentes são o ácido butírico e o butanol. A fermentação butírica é acompanhada por produção de $H_2$ e $CO_2$. O C. butyricum tem capacidade de fermentar glicose e é mais sensível ao NaCl do que o C. tyrocutyricum.

O C. sporogenes é putrefativo anaeróbio. Junto com o C. perfringens e C. butyricum são os mais comuns no leite e também um do mais comuns agentes de estufamento em queijo (depois do C. tyrobutyricum), e resistente à aplicação de calor na fabricação do queijo. Provoca formação de gases no centro do mesmo produzindo um odor desagradável. Requer uma temperatura de estocagem alta e $A_w$ também alta. O desenvolvimento do gás no queijo é a partir de poucas semanas após a fabricação e provocando então o estufamento tardio. Este Clostridea não se desenvolve facilmente no queijo devido à sua sensibilidade a ácido e sal (NaCl) e sua inabilidade para competir com outros organismos, WALKER (59).

Os Clostridea provocam a união, assim como os lactobacilos, em pH neutro, das aminas secundárias com os nitritos, RIBEIRO (53).

## 2.5. Meios de Combate ao Estufamento Tardio

Existem vários métodos para combater o problema, porém nenhum deles é efetivo quando considerado individualmente. Sempre que possível, o ideal é conjugar dois ou mais processos permitindo obter bons resultados, MORAES (49).

Os métodos mais aplicados são:

1. adição de nisina de S. lactis, ALAIS (2), FURTADO (18), MORAES (48);

2. adição de lisozima ao leite, FURTADO (18), MORAES (49);

3. aplicação de $H_2O_2$ ao leite, seguida de tratamento com catalase visando eliminar os resíduos de $H_2O_2$, ALAIS (2), FURTADO (18), MORAES (49);

4. bactofugação (método físico), BJÖRCK & CLAESSON (4), FURTADO (18), MORAES (49);

5. seleção do leite, MORAES (49);

6. desnate natural (método físico), FURTADO (18), MORAES (49);

7. adição de formaldeido ao leite, MORAES (49);

8. uso de KCl, MORAES (48);

9. aplicação de calor, DONNELLY & BUSTA (12), FURTADO (18);

10. aplicação de RIV & RUV, DONNELLY & BUSTA (12);

11. uso de sorbato ou ácido sórbico, DONNELLY & BUSTA (12);

12. adequada salga do queijo, ALAIS (2), ZERFIRDIS & MANOLKIDIS (63);

13. uso de nitrato e nitrito na fabricação do queijo, ALAIS (2) e NIEUWENHOF (51).

2.5.1. O uso da nisina.

A nisina é um antibiótico que controla a formação de esporos. A combinação nisina-nitrito inibe o crescimento do C. sporogenes, DONNELLY & BUSTA (12), TAYLOR et alii (57).

A nisina aplicada pura ou combinada com o peróxido de hidrogênio ou calor possui potente ação inibidora contra os bacilos esporulados, especialmente o C. tyrobutyricum e não apresenta toxicidade. O inconveniente é que por se tratar de antibiótico, este tipo age também sobre bactérias benéficas à fabricação dos queijos (bactérias láticas), além de ser progressivamente destruída pela nisinase, elaborada por algumas cepas de bactérias láticas imune a ação deste antibiótico e à alta sensibilidade das cepas de S. lactis produtoras de nisina e ataques por bacteriófagos, DONNELLY & BUSTA (12) e VEISSEYRE (58).

2.5.2. O uso da lisozima.

A lisozima, que é uma enzima isolada a partir da clara do ovo, é capaz de destruir a parede de certas bactérias. A dose máxima permitida na França é de 25 mg do pó por litro de leite. Os inconvenientes são que além de uma certa fração do C. tyrobutyricum resistir à ação desta enzima, tem como fator principal o preço elevado, além de não ser ainda bem conhecida, havendo necessidade de sua regulamentação no Brasil, FURTADO (18); MOREL (50).

2.5.3. O uso de peróxido de hidrogênio.

O peróxido de hidrogênio possui a capacidade de inativar esporos de anaeróbios. Pode ser usado para inibir o crescimento do C. tyrobutyricum , C. perfringens e C. sporogenes, DONNELLY & BUSTA (12). EL-GENDY et alii (27) afirmam ainda que 0,02% de $H_2O_2$ inibe o crescimento do Clostridea e a produção de gás. Possue como inconvenientes, a necessidade de maior tempo para a fabricação, devido ao tempo de tratamento do leite com o peróxido de hidrogênio; elevando o custo da fabricação ligeiramente e exige que o queijo seja maturado por no mínimo 60 dias, FURTADO (18).

2.5.4. A bactofugação do leite.

A bactofugação baseia-se no princípio do uso da força centrífuga para reduzir a carga bacteriana do leite. Sabe-se que os esporos bacterianos caracterizam-se por apresentar densidade mais elevada em relação à densidade do leite (densidade dos esporos de 1,2 a 1,3 g/ml e densidade do leite igual a 1,03 g/ml). A bactofugadora elimina de 90 a 99% dos esporos do leite, porém tem como grandes inconvenientes o elevado custo, sendo aconselhável a sua utilização somente quando há um volume superior a 50.000 t/ano; quando a contaminação é superior a 1.000 e 2.000 esporos por litro de leite não são destruídos suficientemente, e esta técnica provoca também a modificação de textura da massa, BERGERE et alii (3) e

MOREL (50).

2.5.5. Seleção do leite na plataforma da fábrica.

A seleção do leite para a fabricação de queijos no Brasil é de baixa confiabilidade e de difícil aplicação prática devido a complexidade do sistema de coleta e as deficiências no transporte deste leite, FURTADO (18).

2.5.6. O desnate natural do leite.

O desnate natural envolve a separação de gordura por afloramento à superfície e ao mesmo tempo provoca uma melhora da qualidade do leite abaixo da linha de creme, uma vez que ocorre um fenômeno de agregação de gordura com os microrganismos. Há o inconveniente do teor de gordura do leite para a fabricação do queijo ser baixo, necessitando por isso a adição de creme, FURTADO (18), MORAES (49).

2.5.7. Outros meios de combate e prevenção.

A adição de formaldeido ao leite é proibido no Brasil. A inativação dos esporos anaeróbios é conseguida apenas com

temperaturas acima de 100ºC. Temperaturas abaixo de 100ºC servem para ativar a esporulação. O inconveniente é que altas temperaturas destroem enzimas e bactérias presentes ao leite e benéficas para a fabricação de queijos,DONNELLY & BUSTA (12).

O sorbato ou ácido sórbico são utilizados na Europara para controle de formação de esporos anaeróbicos, DONNELLY & BUSTA (12), não possuindo estudos no Brasil.

## 2.6. O Uso de Nitrato e Nitrito

O uso de nitrato para o controle do estufamento foi descrito por J. Pecreboom em 1830. O nitrato previne a germinação e o crescimento dos esporos de Clostridea, GALESLOOT & HASSING (26), GOODHEAD et alii (30).

Como o NaCl penetra lentamente no queijo salgado em salmoura, o nitrato então atua inibindo o Clostridium, GOODHEAD et alii (30).

GOODHEAD et alli (30) observaram que, embora o conteúdo de sal nos queijos susceptíveis de estufamento tardio, seja suficiente para previnir a germinação de esporos de Clostridea, a penetração de sal, da superfície até seu interior é lenta e especialmente em queijos grandes nos quais a concentração de sal no centro dos mesmos demora a se igualar às outras partes, visto que a salga nestes queijos é feita através de salmoura. Durante este período, o nitrato presente no queijo previne a fermentação butírica. Este aditivo

inibe o desenvolvimento de Clostridea quando a atividade de água é alta e o teor de sal (NaCl) no interior da massa ainda é baixo. GRAY et alii (31).

GALESLOOT (24) concluiu que, o sal presente no queijo numa concentração suficiente, após o nitrito ter prevenido o desenvolvimento de Clostridea será capaz de evitar a germinação dos esporos e que o nitrito evita o desenvolvimento desta bactéria durante o tempo em que o sal ainda não penetrou no interior do queijo.

ROBERTSON (1973), segundo GALESLOOT & HASSING (26) afirma que o nitrato impede a produção de $H_2$ e não impede a produção de $CO_2$.

As formas de nitrato e de nitrito empregadas são: $KNO_3$, $NaNO_3$, $KNO_2$ e $NaNO_2$, MORAES (48).

Segundo VEISSEYRE (58), o $KNO_3$ é o mais eficaz e deve-se utilizar 10 a 20 g/100 litros de leite.

MORAES (48) verificou, utilizando em seu trabalho 5, 10, 20 e 50 g de $NaNO_3$ e de $NaNO_2$ por 100 litros de leite que o nitrito possue maior influência na inibição do que o nitrato.

Na Europa, nitrato é usado a aproximadamente 20g/100 litros de leite para evitar o estufamento tardio, DONNELLY & BUSTA (12).

ABREU (1), utilizando $NaNO_3$ em seu trabalho mostrou que 10g/100 litros de leite é suficiente para evitar o estufamento tardio em queijos Prato de 500 gramas.

GOODHEAD et alii (30) e Frazier (1967), segundo SURAZYNSKI & PETERSON (56) afirmam que a ação bacteriostática deve-se ao efeito do nitrito no metabolismo do enxofre, sua ação nos grupos amino

de aminoácidos, principalmente a níveis mais baixos de pH e à sua reação com monofenóis, como a tirosina.

Sabe-se ainda que em combinação com NaCl ocorre potencialização da ação de ambos, MORAES (48).

Os últimos trabalhos sugerem que o óxido nitroso obtido a partir de nitrito é o principal responsável pela atividade antimicrobiana e que os nitritos diminuem a resistência térmica das bactérias esporuladas, MORAES (48).

Frazier (1962) conforme citado por MORAES (48), afirma que os nitratos são capazes de prejudicar o crescimento de bactérias anaeróbias ao elevar o Eh do meio, favorecendo assim o crescimento de organismos aeróbios.

A redução do nitrato à nitrito libera oxigênio e este se combina com o hidrogênio produzido pelos bacilos butíricos (ou coliformes) para formar água, evitando assim o estufamento, FURTADO (18).

Segundo GUINGAMP et alii (34), os efeitos nocivos dos nitritos são: metahemoglobinemia, diminuição da fosforilação oxidativa e inibição de enzimas microssomais, diminuição de eficácia vitamínica da ração alimentar, reatividade com diferentes constituintes bioquímicos, efeitos cancerígenos dos compostos N-nitrosos e efeitos mutagênicos dos nitratos e nitritos.

O nitrito atua negativamente na bactéria ácido-lático causando maturação desfavorável do queijo, DOLEZALEK & VARISKOVA (16).

Como o nitrito inibe as bactérias láticas , o uso de nitrato é preferível. Neste caso, o nitrito formado não inibe essas bac-

térias porque sua concentração permanece baixa, GALESLOOT (25), ROBERTS (54).

Fornaud & Mocquot, segundo GOODHEAD et alii (30) afirmam que bactérias ácido lático reduzem o nitrato. Já no trabalho realizado por DOLEZALEK & VARISKOVA (11) nem nitrato nem nitrito afetaram o crescimento das bactérias ácido láticas (S.lactis, S.cremoris, S.thermophilus e L.helveticus).

A adição de nitrato portanto, necessita para ser efetiva, que o mesmo seja transformado em nitrito pelos organismos redutores de nitrato, daí o fato do nitrito agir mais prontamente contra os microrganismos. Os nitritos são produtos químicos capazes de reagir com as aminas secundárias dando origem às nitrosaminas, MORAES (48).

Alguns compostos nitrosos são carcinogênicos e muitos resultam da reação entre aminas terciária e secundária com ácido nitroso, GRAY et alii (31).

Em 1976, a F.A.O e a O.M.S estabeleceram uma dose admissível diária de 3,65 mg do íon nitrato e 0,133 mg do íon nitrito por quilograma de massa corporal do homem e uma DL 50 de 2,3 g/kg de nitrato e 0,05g g/kg de nitrito, FURTADO ~~et alii~~ (~~20~~ 18).

O nitrito é que possue problema toxicológico. Ele pode reagir com numerosos grupamentos funcionais de origem alimentar por intermédio de suas propriedades oxidantes ou redutoras, GUINGAMP & LINDEN (33).

A imposição dos teores de nitrato são devido à sua capacidade de reduzir a nitrito, inclusive por bactérias da flora digestiva, GUINGAMP & LINDEN (33).

[redacted]

Os microrganismos catalisam a aparição de nitrosaminas pois sua formação se dá provavelmente em meios ácidos que são geralmente os alimentos, GUINGAMP & LINDEN (33).

Parece não haver correlação entre a adição de nitratos ao leite e formação de N-nitrosaminas no queijo, FURTADO (18).

Teores de nitrato e nitrito em leites cru são baixos e dependem da alimentação das vacas. Na França estes teores são da ordem de 0,3 a 0,5 mg/litro, GUINGAMP & LINDEN (33).

## 2.7. O Papel da Enzima Xantino-Oxidase.

A maior parte do nitrato é reduzido a nitrito pela xantina-oxidase e/ou pelas nitratases normalmente presentes no leite, NIEUWENHOF (51), ZERFIRDIS & MANOLKIDIS (63).

A xantina-oxidase (xantina oxigênio oriredutase) é uma enzima que catalisa a oxidação de bases púricas, da hipoxantina e da xantina até ácido úrico, com oxigênio molecular como o elétron aceptor. Porém, não é específica e uma grande variedade de compostos têm servido como substrato (elétron doador), BJÖRCK & CLAESSON (4) e CERBULIS E FARRELL(8).

A desnaturação da proteína pelo calor ou por tratamento com ácido libertam os íons metal e flavina e destroi a atividade irreversivelmente. Logo, a pasteurização do leite inativa consideravelmente a enzima enquanto que a estocagem à baixa temperatura não a afeta, CERBULIS & FARRELL(8) e SCOTT (55). Normalmente após 3 sema

nas de maturação a sua atividade desaparece do queijo, FURTADO (18).

A xantina oxidase é envolvida na formação expontânea do flavor no leite. Muitas substâncias podem inibir a atividade da enzima, entre outros está o NaCl, SCOTT (55).

## 2.8. A Maturação do Queijo: Fatores e Meios de Avaliação.

O sal, além de conferir sabor à massa, intervém também como complemento da dessoragem do queijo, na formação da casca, no desenvolvimento microbiano, na textura do produto por dissolver parte da caseína e regula consideravelmente a atividade enzimática em diversos níveis. Atua também no desenvolvimento dos fenômenos de proteólise e lipólise, FURTADO E LOURENÇO NETO (21), GODINHO E FOX (29) e HARDY (35).

A maturação dos queijos é resultado de proteólise, desaminação e descarboxilação; fermentação do ácido lático e degradação dos lactatos; lipólise e degradação dos ácidos graxos. Depende de pH, Eh, umidade; composição da fase aquosa (sobretudo o conteúdo de sal); temperatura ambiente e composição da atmosfera, SURAZYNSKI E PETERSON (56).

A maturação pode ser dividida em duas fases principais: uma, chamada de pré-maturação, onde há troca de lactose e a degradação primária da caseína; e a outra, chamada maturação propriamente dita, onde se formam odores e sabores característicos dos queijos, SURAZYNSKI & PETERSON (56).

A degradação da proteína, a proteólise, e seu controle analítico representa um fator de qualidade do produto, indicando o seu estágio de maturação, WOLFSCHOON-POMBO & LIMA (62). Este controle analítico, que é a hidrólise da proteína, é verificado através da extensão (índice de maturação), da profundidade da maturação e pelo teor relativo de caseina (teor relativo de caseina caracterizando a degradação proteica do queijo. Maior o teor relativo de caseina, menor degradação proteica, logo, mais firme será a consistência do queijo), WOLFSCHOON-POMBO et alii (61) e WOLFSCHOON-POMBO & LIMA (62).

A proteólise do queijo é considerada resultante de várias atividades enzimáticas (proteinases, peptidases) sendo que os principais constituintes são a quimosina (renina, coalho), enzimas do fermento lático adicionado e da flora natural do leite. Estas enzimas proteolíticas (ecto e endocelulares) são produzidas pelas bactérias láticas. Organismos, por ventura presentes como resultado de contaminação casual também poderiam contribuir para essa degradação, SURAZYNSKI & PETERSON (16), WOLFSCHOON-POMBO & LIMA (62).

Entre os produtos de degradação da caseína, se encontram substâncias que possuem aroma e sabor, especialmente os aminoácidos e seus produtos de decomposição: ácidos, aminas, amoníaco, SURAZYNSKI & PETERSON (56).

Portanto, as proteínas totais, solúveis e o índice de maturação dos queijos são elementos de maior importância para a composição final e características do produto. O acompanhamento destes dados em um queijo permite conhecer o índice de aproveitamento dos

dos elementos do leite na coalhada, atividade proteolítica do coalho e fermento, bem como o momento ideal de lançamento do queijo no mercado, GUINGAMP & LINDEN (33).

A extensão ou índice da maturação é a quantidade de substâncias nitrogenadas solúveis acumulada durante o processo, e expressas como % de nitrogênio total. Deve-se principalmente à ação proteolítica do coalho sobre as caseinas do queijo. A extensão pode ser julgada a partir da produção de aminoácidos livres (alanina, asparagina, glicina, glutamina, histidina, leucina, metionina, treocina, valina) que contribuem para o flavor dos queijos, RICHARDSON (52), WOLFSCHOON-POMBO (60), WOLFSCHOON-POMBO & LIMA (62).

A profundidade abrange substâncias nitrogenadas de baixo peso molecular, acumuladas durante o processo. Compostos característicos são os aminoácidos, oligopeptídeos, aminas, etc.. Nitrogênio não proteico são substâncias de baixo peso molecular que não se precipita, na presença de ácido tricloroacético 12%, WOLFSCHOON-POMBO & LIMA (62).

Em essência, o coalho influencia a extensão da proteólise , enquanto que as bactérias, através das suas amino peptidases, carboxipeptidases, dipeptidases, determinam a profundidade da proteólise, WOLFSCHOON-POMBO et alii (61).

A ação enzimática do coalho (quimosina) se extende durante todo o período de maturação, produzindo peptídeos de alto (e eventualmente baixos) pesos moleculares, porém sem chegar à produção de aminoácidos. As proteínas do soro permanecem sem serem modificadas (hidrolisadas), WOLFSCHOON-POMBO (60).

Uma proteólise intensa resulta numa maior degradação de $\alpha_{s_1}$

caseina e num maior amolecimento (consistência) do queijo, WOLFSCHOON-POMBO (60).

As mudanças na textura do queijo devidas à proteólise não têm sido bem estudadas. Sabe-se que para uma mesma solubilização de nitrogênio, isto é, extensão de proteólise, texturas muito diferentes são obtidas de acordo com o tipo de queijo. A proteólise produz também substâncias que são importantes para o flavor e aroma dos queijos, ou para formação de precursores do flavor,WOLFSCHOON-POMBO (60).

A maior degradação da proteína expressa o teor relativo de caseina (menor índice) relaciona-se com a menor firmeza do queijo, WOLFSCHOON-POMBO (60).

ALAIS (2) afirma que quanto maior o teor de umidade de um queijo, mais rápida ocorre a proteólise, modificando a consistência e o sabor deste queijo.

Durante a maturação, há aumento de pH pois diminui a percentagem de ácido lático. Há aumento no índice de maturação e há aumento da percentagem sal/umidade, FURTADO et alii (20).

O pH é regulado pela formação de ácido lático a partir de lactato. Ele fornece a medida de atuação do fermento lático durante a elaboração, ao mesmo tempo que permite uma avaliação do grau de desmineralização da massa do queijo, FURTADO et alii (20), WOLFSCHOON-POMBO et alii (61).

O abaixamento do pH durante a salga deve ser devido meramente à adição de NaCl, GEURTS et alii (28).

Quando diminue o pH devido ao aumento de $HNO_2$ não dissociado,

aumenta o efeito antibacteriano do nitrito, JAY (38).

Em pH neutro, os Clostrideas, assim como os lactobacilos provocam a união das aminas secundárias com os nitritos, RIBEIRO (53).

Durante a maturação do queijo há um aumento gradual do pH e este aumento de pH é devido à destruição do ácido lático, formação de subprodutos não ácidos e ácidos não dissociados ou de fraca dissociação (como ácido acético e ácido carbônico) e liberação de produtos alcalinos resultantes da decomposição proteica. Parece haver relação entre pH e índice de maturação (extensão), e o pH baixo faz diminuir a resistência do esporo de Clostridea ao calor, DONNELLY & BUSTA (12) e FURTADO et alii (20).

O pH da salmoura abaixa progressivamente e geralmente se estabiliza a um valor próximo do pH do queijo enquanto que a acidez aumenta. A acidez indicando o envelhecimento da salmoura e o pH indicando a concentração iônica, INSTITUT TECHNIQUE DU GRUYERE (37).

## 2.9. O Soro: Características e Aproveitamento.

Por ser um sal solúvel, a maior parte do nitrato adicionado ao leite de fabricação de queijo sai no soro. Daí o alto teor de nitrato encontrado em soro de queijo elaborado com a adição de nitrato ao leite, DEVOYOD (10).

Goodhead, citado por GRAY et alii (31), estudou o comportamento do nitrato na fabricação de queijo Gouda, elaborado com 15g de nitrato de sódio por 100 litros de leite e observou que apenas

4.1% do nitrato adicionado era transferido para o queijo, ficando o restante no soro.

HOLSINGER et alii (36), afirmam que durante alguns anos vários técnicos têm formulado bebidas ricas em proteínas para atender ao propósito terapêutico, utilizando o soro como veículo básico desta receita, e no passado, o soro já era recomendado principalmente na Grécia, Europa Oriental e Europa Central para a cura de dispepsia, anemia, artrite, gota, doenças hepáticas e até mesmo tuberculose.

A Figura 1, baseada em afirmações de DELANEY (9), MANN (44) e MAUBOIS (46) mostra as várias aplicações do soro.

No soro, a presença de bactérias capazes de reduzir nitratos (como por exemplo: enterobactérias) faz também aumentar o teor de nitrito, DEVOYOD (10). A reação do nitrito pode afetar o grupamento heme da hemoglobina. A ingestão diária de nitrato por gestantes pode provocar abortos. Esta dose afeta a afeta a captura de iodo pela tiróide e abaixa o teor de vitamina A no fígado, LOWY & MANCHON (43).

A formação de nitrosaminas ou de nitrosamidas é resultante da reação de nitrito sobre uma amina secundária ou terciária, um aminoácido ou uma amida, DORANGE (13).

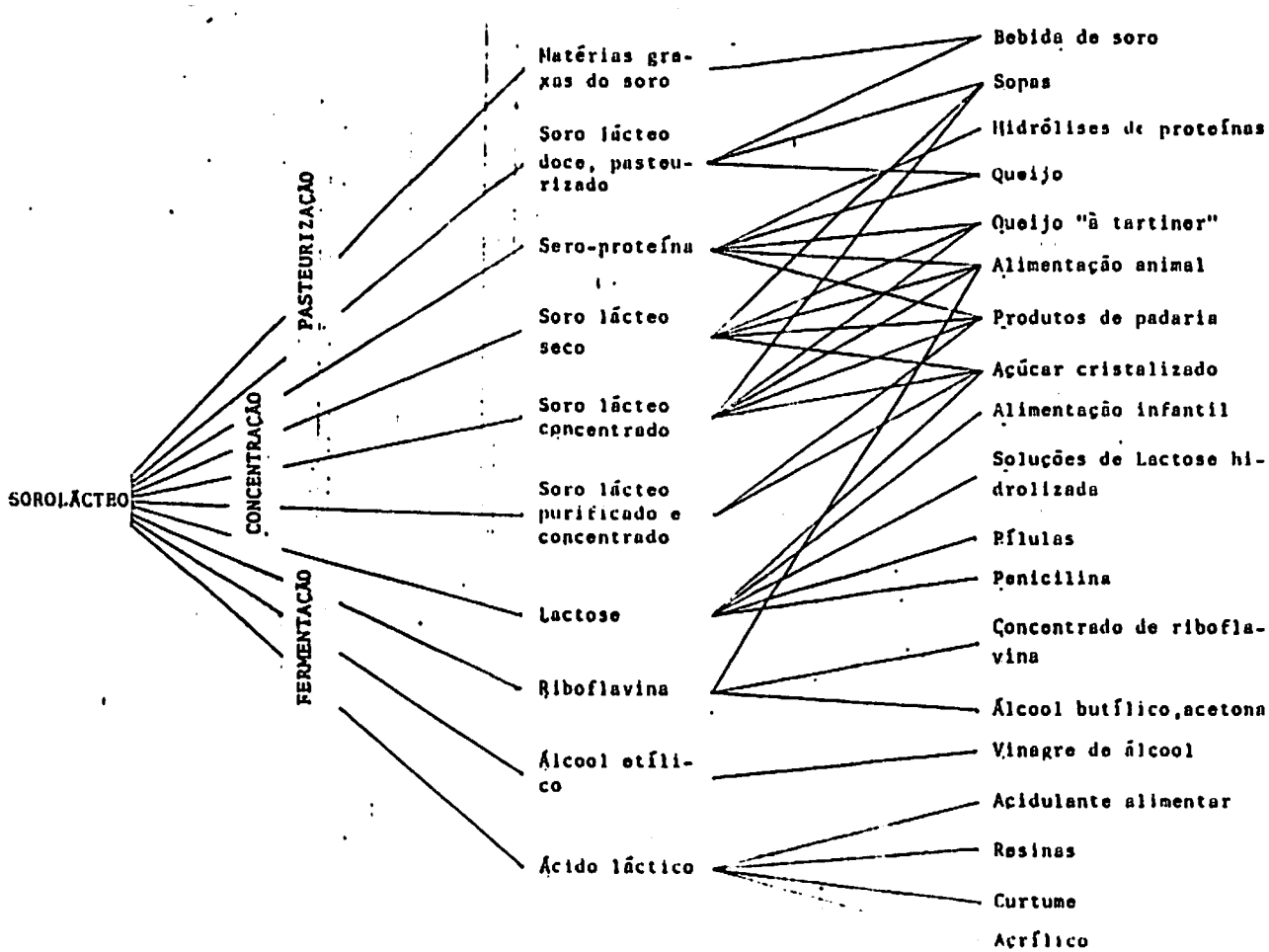



FIGURA 1 - Esquema das diversas aplicações do soro, segundo DELANEY (9), MANN (44) e MAUBOIS (46).

# 3. MATERIAL E MÉTODOS

## 3.1. Material

Leite: foi utilizado leite fresco pasteurizado pelo sistema HTST, com teor de gordura entre 3,3 a 3,6%. Para o tratamento com adição de "nitrato no soro"(SO), foram empregados 100 litros de leite por fabricação e adicionados os seguintes níveis de nitrato de sódio: CON (sem adição de nitrato de sódio), SO1 (11 gramas de $NaNO_3$/100 litros de leite), SO2 (16,5 g $NaNO_3$/100 litros de leite) e SO3 (22 g $NaNO_3$/100 litros de leite) e para cada nível foram realizadas três fabricações.

Para o tratamento em que o nitrato de sódio era adicionado a salmoura (SA), foram empregados 300 litros de leite por fabricação e adicionados os seguintes níveis de íon nitrato: CON (sem adição de nitrato de sódio), SA1 (60 gramas de íon nitrato/100 litros de salmoura), SA2 (80 g $NO_3^-$/100 litros de salmoura) e SA3 (100 g $NO_3^-$/100 litros de salmoura), sendo que para cada nível foi realizada uma fabricação fornecendo três lotes de queijos para as devidas análises.

Nitrato: utilizou-se o nitrato de sódio P.A., previamente dessecado em estufa, por um período de 3 horas, a uma temperatura de 105ºC.

Salmoura: foram preparadas salmouras contendo 20% de sal (NaCl) ajustados para pH entre 5,2 a 5,3 e mantidas à temperatura de 10 e 12ºC. Para o tratamento do "nitrato no soro", a cada 3 lotes de queijos que passavam por esta salmoura, seu teor de NaCl era corrigido, e para o tratamento do "nitrato na salmoura", a cada lote de queijos que passavam por esta salmoura, seu teor de NaCl e $NO_3^-$ eram corrigidos. A salmoura foi preparada na relação de 5 e 6 litros para cada quilo de queijo.

## 3.2. Métodos

O trabalho foi realizado nas dependências do Centro de Pesquisa e Ensino/Instituto de Laticínios Cândido Tostes, da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, em Juiz de Fora - MG. Para sua realização foram utilizadas amostras de queijo Prato (peso médio de 2 quilogramas), fabricados segundo a técnica tradicional, FURTADO & WOLFSCHOON-POMBO (23).

### 3.2.1: Análises realizadas.

#### 3.2.1.1. Leite.

No leite destinado à elaboração dos queijos, foram realizadas as seguintes determinações:

- acidez titulável: foi determinada em 100 ml de leite, utilizando-se fenolftaleína 2% como titulante. A acidez foi expressa em Graus Dornic (1ºD = 0,01% de ácido lático);

- gordura: foi utilizado o método do Lactobutirômetro de Gerber, segundo técnica descrita pelo Laboratório Nacional de Referência Animal - BRASIL (7);

- pH: foi utilizado o potenciômetro Radiometer, Modelo 26, com eletrodos próprios;

#### 3.2.1.2. Elaboração dos queijos.

Foram elaborados lotes de queijo Prato de dois quilogramas, segundo técnicas tradicionais, FURTADO & WOLFSCHOON-POMBO (23). Foram adicionados 0, 11, 16.5 e 22 gramas de $NaNO_3$ a cada 100 litros de leite para o tratamento do "nitrato no soro" e foram adicionados 0, 60, 80 e 100 gramas de íon $NO_3^-$ a cada 100 litros de salmoura para o tratamento do "nitrato na salmoura".

3.2.1.3. Salga dos queijos.

Teve a duração de 48 horas, sendo que a cada passagem de 3 lotes de queijos (tratamento do "nitrato no soro"), a salmoura era submetida às seguintes determinações:

- pH: utilizando o potenciômetro Radiometer, Modelo 26, com eletrodos próprios;
- dosagem de NaCl: empregada a técnica DIN 328 e FIL doc. 17, descritas por KIERMIER & LECHNER (39).

Após cada passagem de queijos no tratamento de "nitrato na salmoura", além das determinações anteriormente citadas, foram realizadas também:

- nitrato e nitrito: utilizando o método descrito pela FIL-IDF.

Após a salga (F + 3) onde "F" é o dia da fabricação e 3 indica o número de dias após esta fabricação, os queijos eram submetidos às seguintes determinações:

- dosagem de nitrato e nitrito: segundo a técnica descrita pela FIL-IDF (14);
- pH: a masma técnica empregada para leite;
- NaCl: a mesma técnica empregada para a salmoura;
- INP (índice de profundidade): aplicada a fórmula:

$$INP = \frac{NNP}{NT} \times 100$$

onde: NNP = nitrogênio não proteico

NT = nitrogênio total

- INEM (índice de extensão da maturação): aplicada a fórmula:

$$INEM = \frac{NS}{NT} \times 100$$

onde: NS = nitrogênio solúvel

- NT, NS e NNP: foi utilizado o método descrito por GRIPON et alii (32) para queijos.

Estas análises foram sempre realizadas na casca (região periférica até 12 mm de profundidade) e no centro de cada queijo e sempre em duplicata.

3.2.1.4. Secagem dos queijos.

Os queijos após a salga foram colocados em uma câmara de secagem, com temperatura entre 10 e 15ºC por período de 72 horas.

3.2.1.5. Maturação dos queijos.

Os queijos foram maturados incluindo o tempo de secagem por um período de 33 dias e neste período, as mesmas

regiões dos queijos (casca e centro) realizadas logo após a salga (F + 3) foram repetidas e tiveram a seguinte periodicidade: F+13 , F+23 e F+33 dias, considerando "F" o dia da fabricação. No dia F+6, os queijos eram transferidos para uma câmara de maturação com temperatura entre 10-15ºC e umidade relativa do ar em torno de 90%. No dia F+15, os queijos foram lavados e no dia seguinte (F+16), foram embalados em película de polietileno (cry-o-vac) e mantidos na mesma câmara de maturação.

# 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 4.1. Teores de $NO_2^-$ no Queijo.

Para o tratamento de adição de $NaNO_3$ no soro, o teor de nitrito na casca do queijo foi aumentando com o decorrer da maturação e depois sofreu decréscimo, conforme pode ser observado na Tabela 2. Este baixo teor de nitrito inicial, provavelmente, deve ser devido ao alto teor de NaCl nesta região nos primeiros dias da maturação, consequentemente inibindo as enzimas xantina oxidase e/ou nitratases, SCOTT (55). Estas enzimas, que são produzidas por alguns microrganismos responsáveis pela maturação dos queijos é que provocam a redução do nitrato a nitrito, GOODHEAD et alli (30) e SCOTT (55).

Com o decorrer da maturação, o NaCl foi sofrendo difusão para o interior do queijo, consequentemente diminuindo o seu teor na casca, permitindo assim a ação das enzimas redutoras de nitrato. Porém, como a enzima xantina-oxidase possui sua atividade mais elevada no início da maturação do queijo, desaparecendo após a terceira semana de maturação, FURTADO (18), justifica-se a diminuição do teor de nitrato encontrado após o 13º dia de maturação, com a

TABELA 2 - Evolução do teor de nitrito (mg/kg) no centro e na casca do queijo Prato ao longo da maturação(*)

| Tratamentos | | Período de maturação (dias) | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 3 | 13 | 23 | 33 |
| SO-1 | Casca | 6,64 | 2,95 | 5,00 | 4,02 |
| | Centro | 4,42 | 2,45 | 4,42 | 4,10 |
| SO-2 | Casca | 1,97 | 5,30 | 2,22 | 1,23 |
| | Centro | 7,40 | 4,46 | 2,10 | 2,47 |
| SO-3 | Casca | 9,54 | 4,44 | 1,97 | 0,99 |
| | Centro | 20,83 | 4,35 | 3,45 | 1,23 |
| SA-1 | Casca | 1,73 | 1,73 | 1,97 | 0,99 |
| | Centro | 1,07 | 2,63 | 2,22 | 1,64 |
| SA-2 | Casca | 2,59 | 7,56 | 17,59 | 12,33 |
| | Centro | 1,36 | 2,79 | 1,56 | 2,30 |
| SA-3 | Casca | 1,23 | 7,31 | 21,94 | 14,05 |
| | Centro | 1,85 | 1,89 | 2,22 | 0,90 |

(*) Média de três repetições

possível transformação deste em outros compostos nitrosos.

Para o mesmo tratamento, ao nível de 16,5 g de nitrato de sódio para cada 100 litros de leite, SO2, o teor de nitrito presente no centro do queijo foi diminuindo até o 23º dia sofrendo então um ligeiro aumento, conforme pode ser verificado na Figura 2.

No queijo quando utilizado 80 g $NO_3^-$/100 litros de salmoura, SA2, o teor de nitrito na casca do mesmo sofreu aumento até o 23º dia de cura com posterior diminuição, conforme mostra a Figura 3. Isto devido provavelmente ao tipo de tratamento (nitrato de sódio adicionado à salmoura), onde, assim como o NaCl, o teor de nitrato de sódio na casca do queijo é maior no início da maturação sofrendo migração para a região central. Este alto teor de nitrato de sódio favorece a redução a nitrito, razão do seu alto teor.

Para o tratamento com adição de $NaNO_3$ no soro, pode-se observar na Tabela 2, que à medida que aumentava o teor de $NaNO_3$ adicionado, diminuia o teor de $NO_2^-$ encontrado no centro do queijo ao final de 33 dias de cura. No início da maturação o fenômeno foi inverso. Pode-se especular eventualmente que o aumento do teor inicial de nitrito tinha um efeito estimulante sobre a atividade redutora de microrganismos presentes no leite, já que o íon possue interferência sobre certas reações enzimáticas, tanto como inibidoras ou estimulantes. O mesmo fenômeno não foi observado quando o tratamento era feito por adição de nitrato à salmoura. Só houve um aumento proporcional do teor de nitrito no centro do queijo no início da cura, sendo que após 13 dias os teores variavam irregularmente. É possível que fenômenos osmóticos que regem a difusão de

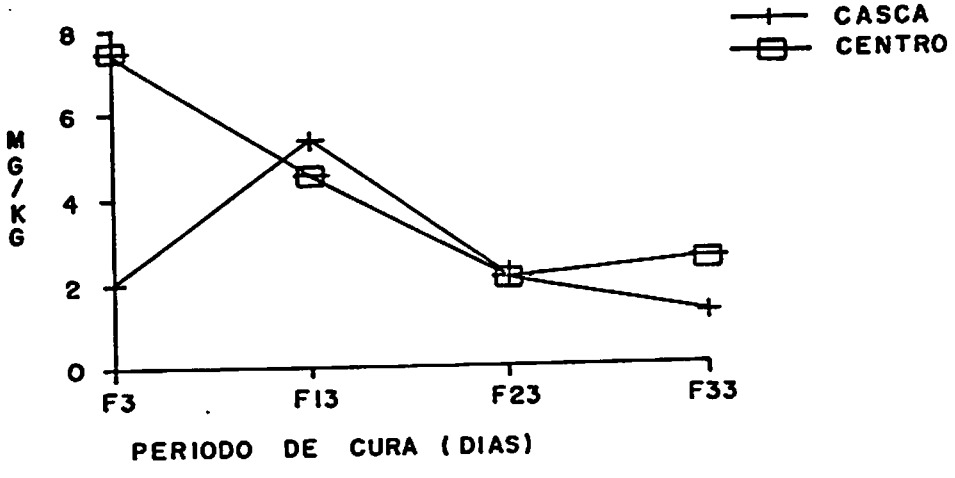



FIGURA 2 - Evolução do teor de $NO_2^-$ no queijo Prato durante o decorrer da maturação quando adicionado 16,5 g $NaNO_3$ no soro em cada 100 litros de leite (SO-2)

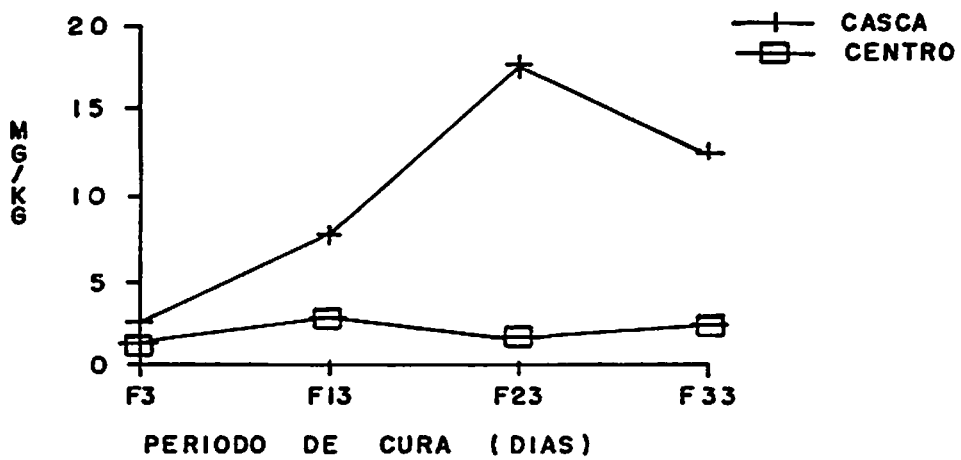



FIGURA 3 - Evolução do teor de $NO_2^-$ no queijo Prato durante o decorrer da maturação quando adicionado 80 g $NO_2^-$ em 100 litros de salmoura (SA-2)

sais no queijo tenham influenciado nos resultados observados.

4.2. Teores de $NO_3^-$ no Queijo.

Quando havia a adição de 16,5g de $NaNO_3$ no soro para cada 100 litros de leite SO2, verificou-se uma diminuição do teor de nitrato no decorrer da maturação, conforme ilustra a Figura 4 e Tabela 3, provavelmente devido à sua redução para nitrito, DEVOYOD (10).

O aumento do teor de nitrato no centro do queijo, paralelamente com a diminuição do mesmo na casca, no tratamento quando adicionado 80 gramas de nitrato por 100 litros de salmoura, SA2, conforme pode ser observado na Figura 5, pode ser explicado pela migração do $NaNO_3$ no queijo. A estabilidade obtida após o 13º dia de maturação no centro pode ser devido a redução do nitrato a nitrito, que ocorre normalmente durante a cura do queijo.

Com o aumento do teor de $NaNO_3$ adicionado à salmoura, foi diminuindo a quantidade de $NO_3^-$ encontrado no início da cura e aumentando aquela encontrada no final da maturação no centro do queijo, conforme pode ser observado na Tabela 3. As causas destes fenômenos provavelmente podem ser explicadas pela super-saturação de $NO_3^-$ na salmoura, à medida que aumentava a dose adicionada, o que dificulta assim a absorção deste íon pela casca do queijo, bem como pela maior migração do $NO_3^-$ da casca para o centro do queijo à medida que se aumentava o teor de $NaNO_3$ adicionado à salmoura, isto tudo provocando um aumento na porcentagem residual do nitrato no centro do queijo,

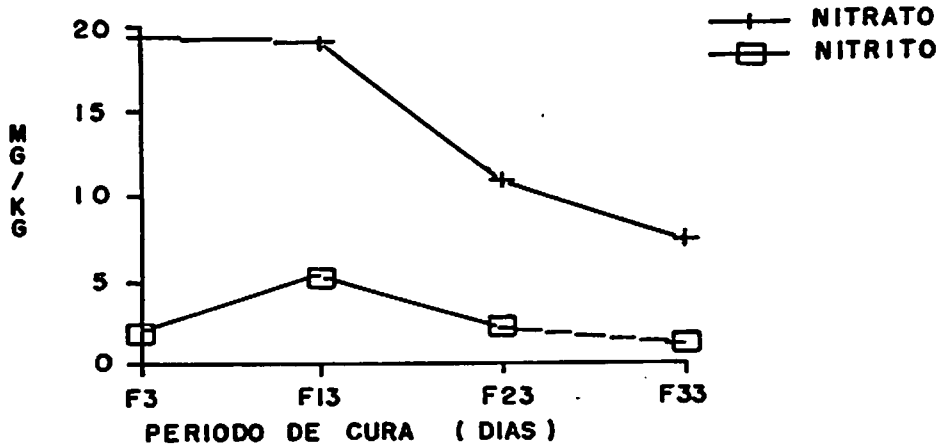



FIGURA 4 - Evolução dos teores de $NO_3^-$ e $NO_2^-$ na casca do queijo Prato, no decorrer da maturação quando adicionado 16,5 g de $NaNO_3$ no soro em cada 100 litros de leite (SO-2).

TABELA 3 - Evolução do teor de nitrato (mg/kg) no centro e na casca do queijo Prato ao longo da maturação(*).

| Tratamentos | | Período de maturação (dias) | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 3 | 13 | 23 | 33 |
| SO-1 | Casca | 17,26 | 5,92 | 4,44 | 4,52 |
| | Centro | 11,82 | 5,92 | 3,94 | 5,26 |
| SO-2 | Casca | 19,23 | 18,86 | 10,72 | 7,27 |
| | Centro | 21,45 | 12,92 | 5,79 | 5,79 |
| SO-3 | Casca | 23,34 | 20,22 | 11,46 | 3,94 |
| | Centro | 27,53 | 16,76 | 8,79 | 2,47 |
| SA-1 | Casca | 65,90 | 52,43 | 45,44 | 40,09 |
| | Centro | 15,12 | 17,67 | 23,17 | 22,85 |
| SA-2 | Casca | 88,34 | 64,34 | 31,71 | 25,72 |
| | Centro | 8,63 | 27,86 | 27,78 | 26,63 |
| SA-3 | Casca | 152,02 | 112,25 | 53,74 | 54,56 |
| | Centro | 7,56 | 28,43 | 61,39 | 48,73 |

(*) Média de três repetições.

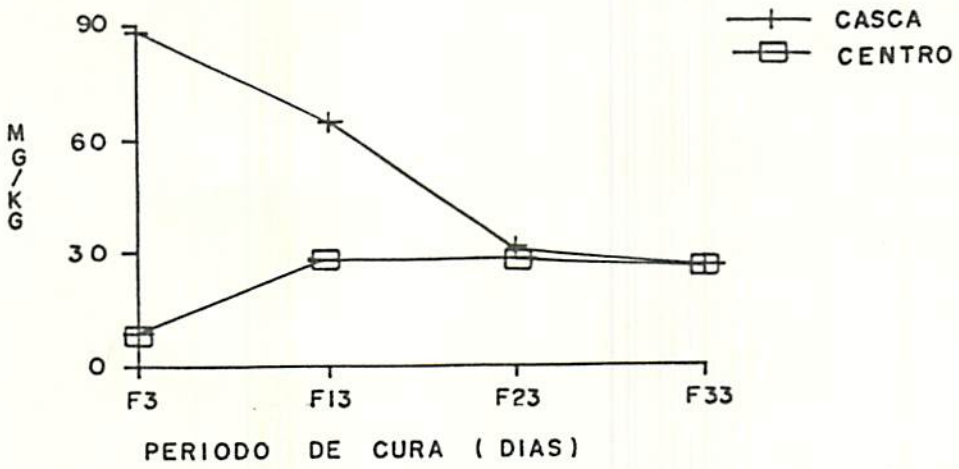



FIGURA 5 - Evolução do teor de $NO_2^-$ no queijo Prato no decorrer da maturação, quando adicionado 80 g de $NO_3^-$ em 100 litros de salmoura (SA-2)

conforme é mostrado na Figura 6 e Tabela 4. Por outro lado, foi verificado que, no tratamento da adição de nitrato de sódio no soro, à medida que se aumentava o teor de $NaNO_3$ adicionado, diminuia a porcentagem residual de nitrato no centro do queijo no final da maturação, conforme é demonstrado na Figura 7 e Tabela 4. O fenômeno pode ser explicado (veja Tabela 3) pelo aumento do teor de $NO_3^-$ no início da maturação do queijo (à medida que se aumentava o teor de $NaNO_3$ adicionado ao soro) e pela diminuição deste no centro do queijo ao final da maturação, devido à redução para $NO_2^-$ que este íon sofreu. Tal fato também pode ser observado no trabalho realizado por GOODHEAD et alii (30), com adição de $NaNO_3$ ao leite.

Conforme pode ser visto na Tabela 4 e na Figura 6 houve um aumento extraordinário do teor residual de nitrato no centro do queijo, ao final da cura, quando nitrato de sódio era adicionado à salmoura. Estes resultados eram esperados já que este tratamento provocou um acúmulo de nitrato na região periférica do queijo (veja Tabela 3), cujo teor foi diminuindo na casca durante a cura, mas aumentando progressivamente no centro, para onde estava orientada a difusão de sal, provocada por fenômenos clássicos de osmose. Daí o fato observado de que quanto maior o teor de nitrato presente na salmoura, maior foi a porcentagem residual deste sal observada no centro do queijo ao final da maturação. Certamente que estes fenômenos são importantes para a maturação do queijo e prevenção de defeitos, como o estufamento, que são causados por microrganismos sensíveis à presença de nitrato e nitrito.

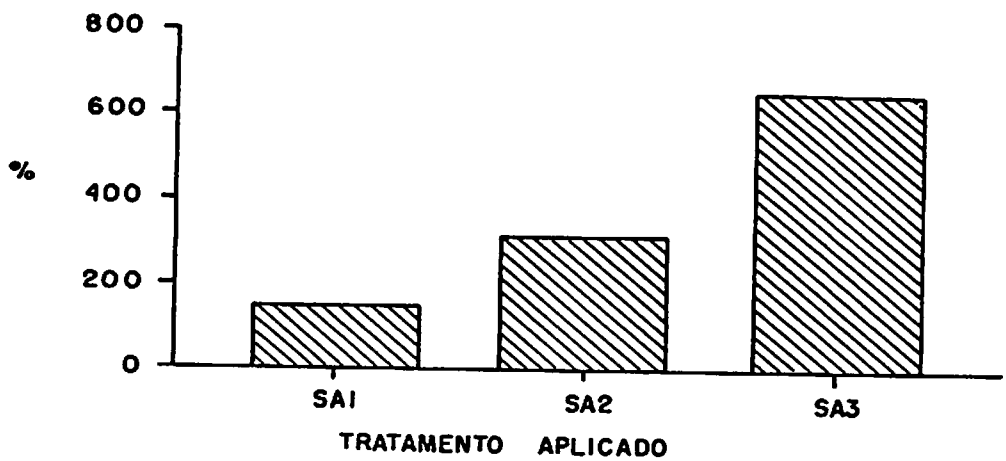



FIGURA 6 - Porcentagem residual de nitrato (final da maturação) no centro do queijo Prato quando adicionado $NaNO_3$ na salmoura (SA)

TABELA 4 - Representação percentual da modificação dos teores de nitrato do queijo Prato com 33 dias de maturação em comparação aos teores observados no início da cura(*).

| Tratamento | Porcentagem do teor inicial | |
|---|---|---|
| | Casca | Centro |
| SO-1 | 26,19 | 44,49 |
| SO-2 | 37,82 | 27,01 |
| SO-3 | 16,90 | 8,96 |
| SA-1 | 60,82 | 151,09 |
| SA-2 | 29,12 | 308,58 |
| SA-3 | 35,89 | 644,58 |

(*) Percentuais calculados com base em medidas de 3 repetições.

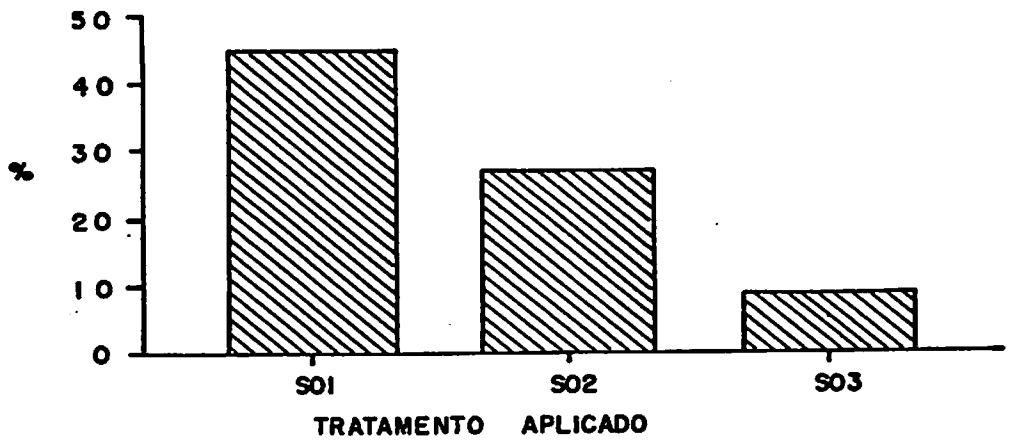



FIGURA 7 - Porcentagem residual de nitrato (final da maturação) no centro do queijo Prato quando adicionado $NaNO_3$ no soro (SO)

4.3. Teores de $NO_2^-$ no Queijo nos Dois Tratamentos.

Afirmado por ABREU (1) que utilizando-se 10 gramas de $NaNO_3$ para cada 100 litros de leite, poderia se obter um teor de nitrito no queijo em torno de 0,44 mg/kg, o que deveria ser suficiente para evitar o estufamento tardio do produto.

GOODHEAD et alii (30) trabalharam com queijo Gouda e, após a 3ª semana, encontraram aproximadamente 0,5 mg $NO_2^-$/kg de queijo e nestes não se verificou a presença de estufamento. Observando-se a Tabela 2 pode-se verificar que, no centro do queijo, no início da cura, em todos os teores de $NaNO_3$ no soro utilizados para os experimentos foram obtidas quantidades superiores àquela citada anteriormente como a mínima necessária para se prevenir contra o estufamento. Conclui-se daí que seria suficiente o emprego de um teor abaixo de 11 g de $NaNO_3$/100 litros de leite (SO1) adicionados ao soro para evitar o estufamento do queijo na maturação.

Já quando se utilizou a adição de nitrato à salmoura, os teores de nitrito encontrados no queijo no início da cura (Tabela 2) foram pouco acima do teor mínimo preconizado por ABREU (1) e GOODHEAR (30).

Quando se utiliza a adição de nitrato de sódio à salmoura, todo o soro proveniente da fabricação de queijos, fica isento dos íons nitrato e nitrito. Consequentemente, este soro poderia ser aproveitado integralmente na fabricação de outros produtos sem correr riscos de formação de compostos nitrosos eventualmente indesejáveis para consumo humano.

Apenas 45% do total de soro produzido na fabricação é isento destes íons quando se utiliza a adição de $NaNO_3$ ao soro, ou seja, o volume deste soro que seria reaproveitável é bastante inferior àquele obtido quando se adota a adição de $NaNO_3$ à salmoura. Mesmo assim, do ponto de vista prático, o tratamento SO seria preferível, pois torna-se difícil, em qualquer fábrica de queijos, controlar rotineiramente o nível de $NaNO_3$ após cada passagem de queijos por essa salmoura. Este controle teria de ser feito quase que diariamente, sob pena de se obter teores irregulares de nitrato e nitrito no queijo, durante a maturação.

Conclui-se assim que o tratamento por adição de $NaNO_3$ ao soro é a mais recomendável, não somente em comparação à adição de nitrato no leite, conforme estudada por ABREU (1).

Conforme demonstrado este método, além de proporcionar os níveis de nitrito requeridos para a inibição do estufamento tardio, permite ainda o reaproveitamento de grande parte deste soro, o que é de inegável importância para a indústria de alimentos em geral, onde o soro em pó, por exemplo, se constituiria em ingrediente comumente empregado em formulações diversas.

## 4.4. Teores de NaCl no Queijo.

O teor de NaCl, como era de se esperar, nos dois tratamentos foi, com o decorrer da maturação, diminuindo na casca e aumentando no centro do queijo com tendência a se igualar e eventualmente

estabilizar como é mostrado nas Figuras 8 e 9 e na Tabela 5. Isto é devido ao tipo de salga (salmoura) sofrida pelo queijo FURTADO & WOLFSCHOON-POMBO (22) e é explicado pelos fenômenos clássicos de difusão de sal em queijos.

4.5. pH.

Em todos os níveis dos dois tratamentos, o pH aumentou ligeiramente no decorrer da maturação, Figura 10 e Tabela 6, provavelmente devido à neutralização do ácido lático, formação de sub-produtos não ácidos e ácidos não dissociados ou de fraca dissociação (como ácido acético e carbônico) assim como pela liberação de produtos alcalinos resultantes da decomposição proteica, FURTADO et alii (20).

Parece haver uma relação inversa entre o teor de $NO_3^-$ encontrado no queijo e o seu pH no decorrer da maturação, como pode ser observado nas Tabelas 3 e 6, à medida que se aumentava o teor de $NO_3^-$ na casca do produto, observava-se um ligeiro aumento do pH. É possível que as bactérias láticas tenham sido ligeiramente inibidas pelo aumento gradual do teor de nitrato no queijo.

4.6. Índice de Profundidade e de Extensão da Maturação de Queijo.

A proteólise que é a degradação da proteína, é controlada analiticamente através do índice de extensão da maturação (INEM) e

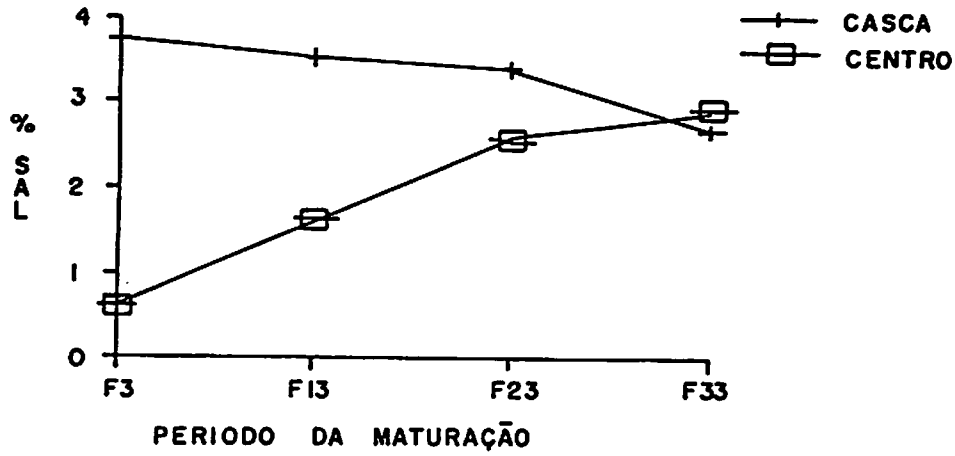



FIGURA 8 - Evolução do teor de NaCl no queijo Prato no decorrer da maturação quando adicionado 16,5g de $NaNO_3$, em cada 100 litros de leite, (SO-2).

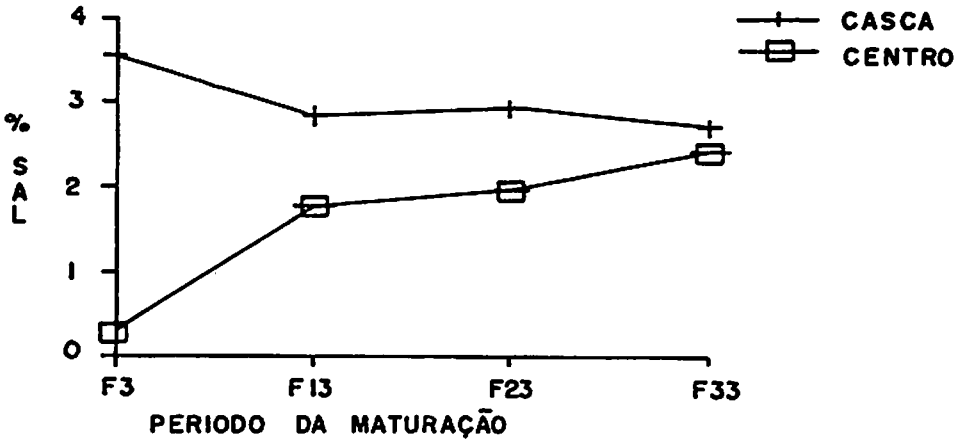



FIGURA 9 - Evolução do teor de NaCl no queijo Prato no decorrer da maturação quando adicionado 80g de $NO_3^-$, em cada 100 litros de salmoura (SA-2)

TABELA 5 - Evolução de NaCl(%) na casca e no centro do queijo Prato durante a cura (tratamento no soro e salmoura).

| Tratamentos | | F+3 | F+13 | F+23 | F+33 |
|---|---|---|---|---|---|
| CON | casca | 4,15 | 3,38 | 2,87 | 2,93 |
| | centro | 0,44 | 1,33 | 2,19 | 2,30 |
| SO-1 | casca | 3,87 | 3,28 | 2,90 | 2,96 |
| | centro | 0,24 | 1,88 | 2,33 | 2,81 |
| SO-2 | casca | 3,74 | 3,51 | 3,38 | 2,67 |
| | centro | 0,61 | 1,61 | 2,58 | 2,84 |
| SO-3 | casca | 4,23 | 4,26 | 4,00 | 3,28 |
| | centro | 0,46 | 2,36 | 2,73 | 2,62 |
| SA-1 | casca | 3,29 | 2,94 | 2,79 | 2,29 |
| | centro | 0,39 | 1,16 | 2,01 | 1,88 |
| SA-2 | casca | 3,54 | 2,84 | 2,95 | 2,71 |
| | centro | 0,30 | 1,78 | 1,96 | 2,40 |
| SA-3 | casca | 3,23 | 2,99 | 3,10 | 2,80 |
| | centro | 0,55 | 1,29 | 2,48 | 2,71 |

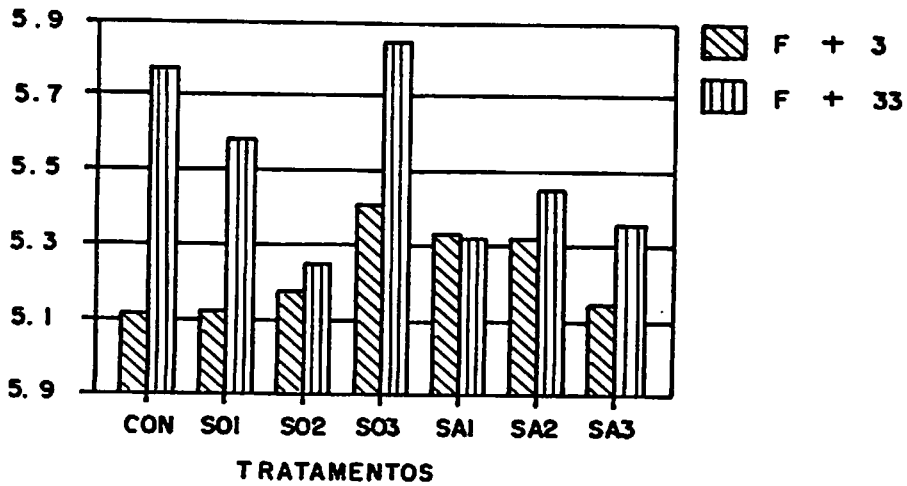



FIGURA 10 - Variação do pH na casca do queijo Prato durante a maturação.

TABELA 6 - Evolução do pH(*) da casca do queijo Prato durante a maturação

| Tratamento | Período de maturação (dias) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 3 | 13 | 23 | 33 |
| CON | 5,11 | 5,60 | 5,72 | 5,77 |
| SO-1 | 5,12 | 5,62 | 5,67 | 5,58 |
| SO-2 | 5,18 | 5,41 | 5,42 | 5,25 |
| SO-3 | 5,41 | 5,45 | 5,44 | 5,84 |
| SA-1 | 5,33 | 5,30 | 5,29 | 5,32 |
| SA-2 | 5,32 | 5,45 | - | 5,45 |
| SA-3 | 5,15 | 5,34 | 5,20 | 5,36 |

(*) Média de três repetições.

do índice de profundidade (INP), WOLFSCHOON-POMBO et alii (61).

Com relação ao INEM e INP observou-se Tabelas 7 e 8 uma tendência generalizada de aumento destes índices, em ambos tratamentos, no decorrer da maturação (Figuras 11 e 12). Esta tendência é normal e é explicada pela ação proteolítica de enzimas do coalho e dos microrganismos da cultura lática empregada, WOLFSCHOON-POMBO et alii (61).

Foi observado também que os índices eram sempre superiores no centro do queijo em relação à zona periférica (Tabelas 7 e 8, Figuras 13 e 14). Este fenômeno é explicado pela presença de um maior teor de sal na casca do queijo no início da cura, conforme foi apresentado na Tabela 5. O sal possui um forte efeito inibidor sobre a hidrólise de proteínas e como tal, tende a inibir a ação das proteases microbianas e do coalho, FURTADO et alli (20). Com o decorrer da maturação, ocorreu uma difusão natural de sal para as regiões centrais do queijo, conforme foi ilustrado nas Figuras 8 e 9 e apresentado na Tabela 5. Entretanto, como a difusão é muito lenta, a diferença na intensidade da proteólise permaneceu e explica o perfil observado nas Figuras 13 e 14.

Porém, foi observado uma nítida diferença entre os índices de maturação (INEM e INP) finais observados entre os tratamentos SA e SO. Verificou-se que, no centro do queijo, após 33 dias de maturação, os queijos resultantes dos tratamentos SA apresentaram o INEM variando entre 24,23 e 23,10%, largamente superiores àqueles índices observados (entre 14,19 e 9,40%) para os queijos resultantes dos tratamentos SO. Um queijo Prato curado apresenta em

TABELA 7 - Evolução dos índices de extensão (%) da maturação observados no centro e na casca do queijo Prato no decorrer da cura(*).

| Tratamentos | | Período de maturação (dias) | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 3 | 13 | 23 | 33 |
| CON | casca | 8,78 | 8,56 | 17,26 | 13,87 |
| | centro | 10,44 | 13,66 | 20,35 | 17,82 |
| SO-1 | casca | 8,27 | 10,32 | 13,39 | 12,19 |
| | centro | 14,20 | 14,43 | 17,40 | 14,19 |
| SO-2 | casca | 4,86 | 6,15 | 7,69 | 6,78 |
| | centro | 7,46 | 10,87 | 10,79 | 13,84 |
| SO-3 | casca | 4,72 | 6,67 | 8,42 | 7,40 |
| | centro | 11,20 | 7,39 | 10,65 | 9,40 |
| SA-1 | casca | 8,31 | 10,94 | 9,92 | 13,10 |
| | centro | 17,42 | 17,12 | 17,31 | 24,23 |
| SA-2 | casca | 8,81 | 10,34 | 16,23 | 14,78 |
| | centro | 14,28 | 21,42 | 28,13 | 24,24 |
| SA-3 | casca | 8,43 | 5,63 | 22,30 | 17,53 |
| | centro | 16,41 | 10,91 | 28,69 | 23,10 |

(*) Média de três repetições.

TABELA 8 - Evolução dos índices de profundidade (%) da maturação observados no centro e na casca do queijo Prato no decorrer da cura(*).

| Tratamentos | | Período de maturação (dias) | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 3 | 13 | 23 | 33 |
| CON | casca | 3,55 | 4,04 | 5,28 | 5,40 |
| | centro | 4,87 | 5,04 | 6,73 | 7,18 |
| SO-1 | casca | 2,80 | 4,04 | 3,63 | - |
| | centro | 4,52 | 4,74 | 5,74 | 6,54 |
| SO-2 | casca | 2,13 | 2,77 | 3,46 | 2,69 |
| | centro | 2,14 | 4,52 | 6,40 | 4,90 |
| SO-3 | casca | 1,80 | 2,02 | 2,39 | 3,11 |
| | centro | 2,00 | 2,92 | 3,60 | 3,43 |
| SA-1 | casca | 2,82 | 2,99 | 4,00 | 5,84 |
| | centro | 3,07 | 4,86 | 7,67 | 9,48 |
| SA-2 | casca | 3,02 | 3,83 | 4,38 | 4,94 |
| | centro | 3,56 | 5,94 | 8,90 | 8,38 |
| SA-3 | casca | 2,41 | 1,79 | 5,07 | 7,05 |
| | centro | 2,51 | 2,30 | 7,62 | 9,68 |

(*) Média de três repetições.

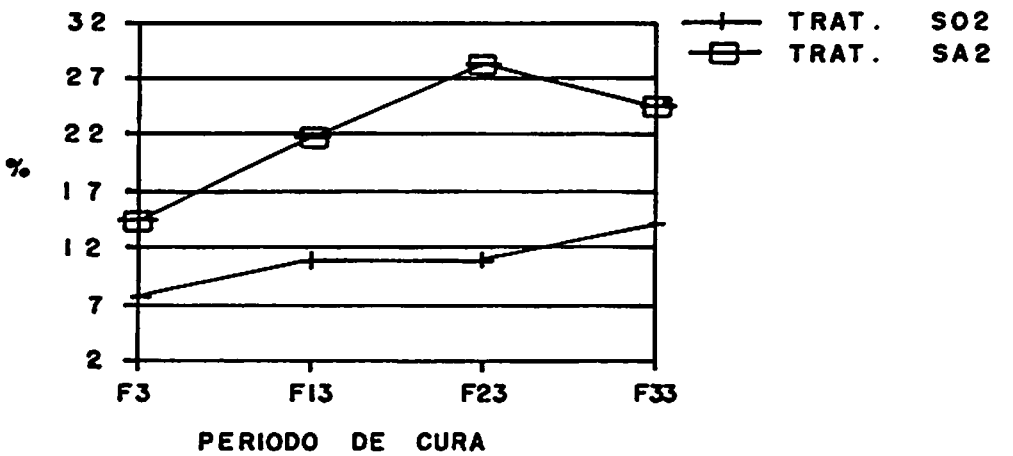



FIGURA 11 - Índice de extensão da maturação no centro do queijo Prato.

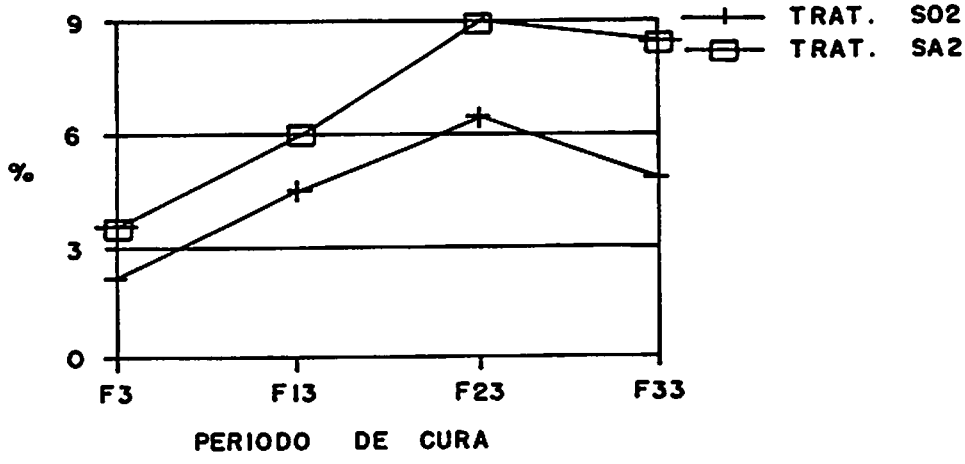



FIGURA 12 - Índice de profundidade da maturação no centro do queijo Prato.

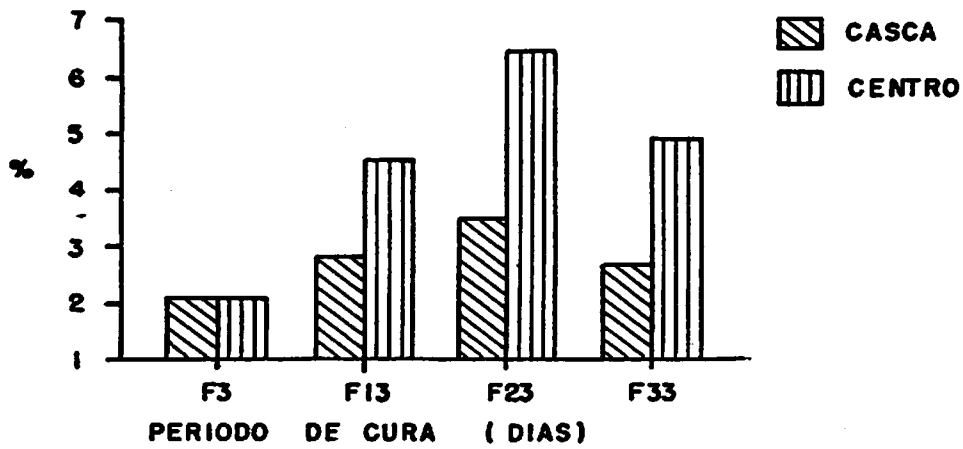



FIGURA 13 - Índice de profundidade da maturação do queijo Prato quando adicionado 16,5 g $NaNO_3$ no soro, em cada 100 litros de leite (SO-2).

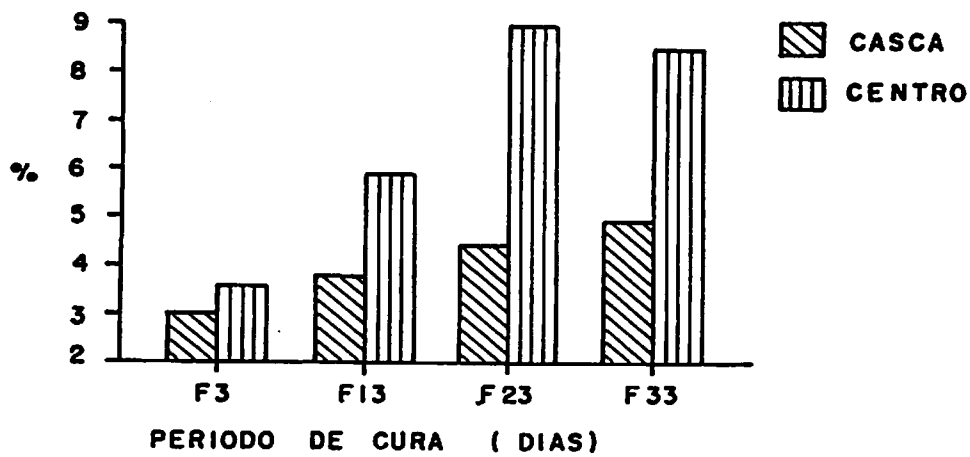



FIGURA 14 - Índice de profundidade da maturação do queijo Prato, quando adicionado 80g de $NO_3^-$ em 100 litros de salmoura (SA-2).

média um INEM de cerca de 19%, conforme foi observado por FURTADO & LOURENÇO-NETO (21). Conforme pode ser visto na Tabela 7, o queijo Prato resultante do método de controle (sem adição de nitrato de sódio) apresentou um INEM de cerca de 17,82% no centro do queijo ao final da maturação de 33 dias. Com base nestes resultados, conclui-se que os queijos produzidos pelos métodos SA maturam mais depressa e apresentam índices de extensão de maturação acima da média observada na literatura. Tal fenômeno nem sempre é desejável, devido à diminuição da "shelf-life" dos queijos, o que pode provocar problemas a nível de comercialização. Entre os tratamentos SO aquele resultante do uso de 11 g $NO_3^-$/100 litros de leite (SO-1) foi o que apresentou um INEM mais próximo daquele citado na literatura por FURTADO & LOURENÇO-NETO (21), e que pode ser visto como recomendável.

Tendências semelhantes foram observadas com relação ao comportamento do índice de profundidade da maturação do queijo Prato (INP). Neste caso, os queijos resultantes dos tratamentos SA apresentaram índices variando de 8,38 a 9,68%, expressivamente superiores àqueles observados para os queijos resultantes dos tratamentos SO (entre 3,43 e 6,54%), conforme é apresentado na Tabela 7 e ilustrado graficamente na Figura 15.

Conforme observado anteriormente para os tratamentos SA em relação ao INEM, estes tratamentos também causaram uma elevação anormal do INP, que para queijo Prato com 30 dias de maturação foi observado por FURTADO (17) se situar em torno de 6,87%. Ora, o tratamento SO1 levou à obtenção de um queijo com um INP médio de 6,54%

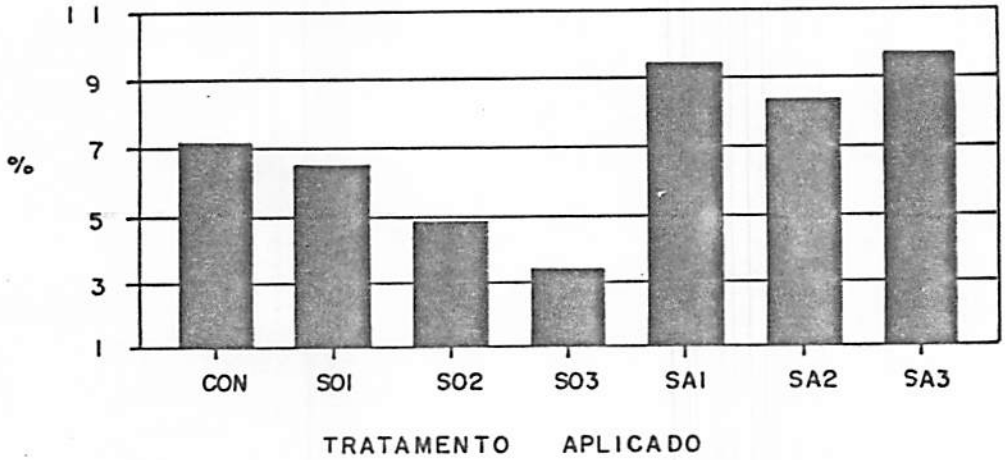



FIGURA 15 - Índice de profundidade da maturação no centro do queijo Prato, no final da maturação.

muito próximo tanto daquele índice obtido como referência, como aquele observado no queijo Prato feito pelo método controle (7,18%), conforme pode ser visto na Tabela 8.

A explicação para o fato de que queijos resultantes dos tratamentos SA apresentaram consistentemente índices de maturação (INEM e INP) superiores àqueles observados nos queijos provenientes dos tratamentos SO, pode ser encontrada nos resultados apresentados nas Tabelas 7 e 8. A aplicação do nitrato nos métodos SA, foi feita através da salmoura e neste caso, a casca endurecida do queijo funciona como uma barreira natural à penetração dos íons no queijo. Como a casca é semi-permeável, a penetração se faz por difusão, resultante dos fenômenos osmóticos, e é muito lenta. Os queijos do tratamento SA apresentaram no início da cura muito menos nitrato e nitrito no centro do que os queijos provenientes dos tratamentos SO; somente no final da cura é que houve tendência de se igualar os teores (veja Tabelas 7 e 8), mas até lá, já havia ocorrido uma proteólise muito mais intensa nos queijos com menores teores de nitrato e nitrito no centro, que era aquele nos quais o nitrato foi adicionado à salmoura e foram distribuídos desuniformemente no queijo, se comparado ao método de adição de nitrato ao soro. Nestes últimos, os teores de nitrato no queijo são muito mais uniformes, conforme pode ser visto na Tabela 8. Estes fenômenos terão, certamente, todo alguma influência no desenvolvimento da flora lática do queijo e nas reações enzimáticas dos processos de decomposição proteica, sabendo-se que o íon nitrito tende a inibir, de maneira geral, o crescimento de microrganismos, MORAES (48). Explica-se assim o expressivo

aumento da velocidade de maturação dos queijos (SA) que apresentaram baixo teor de nitrito no seu centro desde o início da maturação.

## 5. CONCLUSÕES

A realização deste trabalho permitiu obter os seguintes resultados:

1. Pelos tratamentos SO, permitiu-se obter um teor de nitrato variando de 17,16 a 23,34 e de 11,82 a 27,53 mg/km na casca e no centro do queijo Prato respectivamente;

2. Pelos tratamentos SA, permitiu-se obter um teor de nitrato variando de 65,90 a 152,02 e de 7,56 a 15,12 mg/kg na casca e no centro do queijo Prato respectivamente;

3. Observou-se, portanto, que nos tratamentos SA ocorreu maior variação nos teores de nitrato, o que caracteriza maior desuniformidade na sua distribuição, em relação ao tratamento SO;

4. Nos tratamentos SO observou-se uma tendência generalizada de redução do teor de nitrato no centro e na casca do queijo, no decorrer da maturação;

5. Nos tratamentos SA observou-se uma tendência diferente, na

qual o teor de nitrato diminuiu na casca e aumentou no centro, no decorrer da maturação;

6. Com relação ao teor de nitrito, este foi mais elevado no início da cura, quando os métodos SO foram aplicados, obtendo-se variação de 4,42 a 20,83 mg/kg no centro do queijo. Já nos métodos SA, a variação foi de apenas 1,07 a 1,85 mg/kg, na mesma região.Em ambos os métodos o teor mínimo de nitrito (cerca de 0,5 mg/kg) no queijo, foi alcançado;

7. Nos queijos resultantes do método SO, houve uma tendência geral de diminuição do teor de nitrito durante a cura. Tal fato não ocorreu com os queijos provenientes do método SA, nos quais houve uma elevação na maioria dos casos, explicada pela migração dos íons nitrato da casca para o centro;

8. Em ambos os processos estudados, verificou-se um maior teor de sal na casca dos queijos no início da cura, o qual tendia a uniformizar-se até o final da maturação, devido à difusão normal de sal nos queijos;

9. Foi observada uma relação inversa entre o teor de nitrato encontrado no queijo e o pH da sua casca, nos primeiros dias de cura, sobretudo nos queijos do método SO, nos quais o nitrato estaria presente na massa antes mesmo da prensagem e salga, possuindo assim um efeito inibidor mais precoce sobre a fermentação.

10. Observou-se uma tendência normal de aumento de pH em amos processos e em todos os níveis de adição do nitrato;

11. Os índices de maturação foram geralmente superiores no centro do queijo em relação à casca, devido à presença de menor teor de sal nas regiões centrais dos queijos;

12. Os queijos resultantes dos tratamentos SA apresentaram tanto o INEM quanto o INP expressivamente superiores aos índices observados no centro dos queijos dos tratamentos SO, ao final da cura;

13. Estes índices foram superiores àqueles observados no processo controle e àqueles citados pela literatura, o que permite dizer que o método SA terá a obtenção de queijos de maturação mais rápida, o que nem sempre é desejável;

14. Observou-se que o queijo dos tratamentos SA no início da cura apresentaram muito menos nitrato e nitrito no centro do que os queijos provenientes dos tratamentos SO. Já no final da maturação, estes dados se invertiam. Entretanto, é provável que o efeito inibidor dos íons nitrato e nitrito seja maior nos queijos provenientes dos métodos SO, que maturaram mais lentamente e apresentaram índice de maturação mais compatíveis com aqueles observados em queijo Prato tradicional;

15. Conclui-se finalmente que o método SO, apesar de não

permitir o aproveitamento da totalidade do soro produzido na fabricação, é o mais recomendável pois permite obter cerca de 45% de soro totalmente isento de nitratos, além de ser muito mais prático e de fácil aplicação na indústria. Finalmente, permite a obtenção de queijos que maturam dentro do prazo normal e com "shelf-life", inalterado.

16. Entre os três níveis de adição de nitrato adotados no método SO, o nível SO-1 (11 g/100 l de leite) parece ser o mais recomendado e o de menor custo, possibilitando a obtenção de teores de nitrito até mesmo superiores àqueles recomendados como o mínimo desejável para se evitar o estufamento dos queijos (cerca de 0,5 mg/kg). Neste caso, sugere-se que futuros estudos sejam realizados com a finalidade de se pesquisar outros níveis de adição que permitam usar ainda menos nitrato de sódio.

## 6. RESUMO

O presente trabalho foi realizado como o objetivo principal de se estudar meios alternativos para o emprego de nitrato de sódio na fabricação de queijos, bem como permitir um maior aproveitamento do soro isento de nitritos. Para tal, adicionou-se nitrato ao soro na fabricação em três níveis (11, 16,5 e 22 g de $NaNO_3$ / 100 l de leite), após retirada de 45% de soro, assim como foram testadas três salmouras contendo 60, 80 e 100 g do íon nitrato / 100 l da solução de salga. Ambos os métodos, em todas os níveis permitiram obter o teor mínimo de $NO_2^-$ desejado no queijo. Entretanto, pelo método da adição na salmoura, observou-se maior desuniformidade na distribuição dos teores de nitrato e nitrito na casca e no centro do queijo, o que fez com que os queijos obtidos deste método apresentassem índices de extensão (de 23,10 a 24,10 %) e de profundidade da maturação (de 8,38 a 9,68%) no centro do queijo nitidamente superiores àqueles observados em queijos provenientes da adição de nitrato ao soro (de 9,40 a 14,19% e de 3,43 a 6,54% ,respectivamente). Caracterizou-se assim uma redução da "Shelf-life" dos queijos, pela aceleração indesejável da maturação, quando

tratados pelo método de adição de nitrato à salmoura. O pH dos queijos foi determinado no início da cura, tendo se constatado uma relação inversa entre aquele e o teor de nitratos na casca do queijo. No início da maturação observou-se um teor de cloreto de sódio superior na casca em relação ao centro, mas com tendência a uniformizar-se com o decorrer da cura do queijo. Conclui-se finalmente que o método de adição de nitrato ao soro é o mais recomendável, por permitir o aproveitamento de cerca de 45% do soro isento de nitratos, ser muito prático e de fácil aplicação na indústria , além de permitir a obtenção de queijos com um teor mais uniforme de nitrato e nitrito, o que facilita o controle do processo de maturação. A adição de 11 g de nitrato de sódio ao soro, por 100 litros de leite, destacou-se como o método mais recomendável para se atingir os objetivos desejados.

## 7. SUMMARY

The present work was undertaken to study alternative means to add sodium nitrate to milk for Prato cheese manufacturing, as well as to find a way to produce increased amounts of nitrate-free whey. As such, sodium nitrate was added to whey at three different levels (11, 16.5 and 22 g/100 l of milk) after withdrawal of 45% of whey from the vat. Another trial was the utilization of three cheese brines containingi 60, 80 and 100 g of the nitrate ion per 100 l of salt solution. Both methods, at all levels studied, resulted on cheeses which presented the minimum content of $NO_2^-$ required to prevent cheese blowing. However, when adding $NaNO_3$ to the brine, $NO_3^-$ and $NO_2^-$ distribution in the cheese was uneven between its rind and core, which accounted for higher ripening extension indexes (from 23.10 to 24.10%) and higher ripening depth indexes (from 8.38 to 9.68%) as compared to the indexes observed to cheeses in which nitrate hat bien added to the whey (from 9.40 to 14.19% and 3.43 to 6.54%, respectively). Therefore, cheeses brined in the nitrate-containing brine had shorter shelf-life, which was not desirable. Cheese pH was also determined

at the beginning of ripening period and an indirect relationship between pH and nitrate content of cheese rind was found. At the onset of cheese curing sodium chloride content was higher in the cheese outer region than in its center, but after a few weeks it tended to be uniform. The final concluion was that the addition of sodium to the whey was the best method because it allowed for the recovery of about 45% of nitrate-free whey and for the production of cheeses more uniforms, as to their nitrate and nitrite contents, which could be easier controlled during the ripening process. Besides, this method was very handy and could by easily adapted by any cheese plant. The addition of 11 g of sodium nitrate to whey, per 100 l of milk, gave the best results and it is recommended as a method of choice to reach the desired goals.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABREU, R.L. 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. Lavras, Escola Superior de Agricultura de Lavras, 1986, 89 p., (Tese MS).

2. ALAIS, C. Science du Lait: Principes des Tecniques Laitières. 4ª ed. Paris, SEPAIC, 1984, 814 p.

3. BERGERE, J.L.; Le BARS, D. & VASSAL, L. Utilisation de la bactofugation du lait comme traitment préventif du gonflement butyrique des fromages d'Emmental. Revue Laitiere Française, Paris, (267):463-8, 1969

4. BJÖRCK, L. & CLAESSON, O. Xanthine Oxidase as a source of hydrogen peroxide for the Lactoperoxidase System in Milk. Journal Dairy Science, 62 (8):1211-5, aug., 1979

5. BOTTAZZI, V. Il gonfiore del fromaggi Grana e Provolone. Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia, 11(1):2-6, mar. 1961.

6. BOTTAZZI, V. & BATTISTOTTI, B. Indicazione per il controllo del gonfiore tardivo del fromaggio Grana. Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia, 29(5):313-25, out., 1978.

7. BRASIL. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. LANARA-Laboratório Nacional de Referência Animal. Métodos Analíticos Oficiais para Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes. II - Métodos Físico-Químicos, Brasília, 1981.

8. CERBULIS, J. & FARELL Jr., H.M. Xanthine oxidase activity in dairy products. Journal Dairy Science, 60(2):170-6, feb, 1977.

9. DELANEY, A.N. Composition, proporties and uses of whey protein concentrates. Journal of The Society of Dairy Tecnology, Wenbley, Middleses, 29(2):91-101, apr, 1976.

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

11. DOLEZALEK, J. & VARISKOVA, A. Effect of nitrate and nitrite on bacteria of the eschericheas group and especies of Genus Clostridium. In: International Dairy Crongress,15, Londres, 1959, V.2, p. 616-21.

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

13. DORANGE, J.L. Effects mutagenes des nitratos et des nitrites. Annales de la Nutrition et de L'Alimentation. Paris, 30:859-66, 1976.

14. FEDERATION INTERNATIONAL LATIÈRE. Comission E. Analytical Methods, Laboratory Techniques. Determination os Nitrate & Nitrite in Cheese. Report of Group ES. IN: Annual Sessions in Zalzburg 59, Salzburg, 1975. Salzburg, Austria, 1975, n.p. (E.Doc. 65).

15. FERNANDEZ, C.C. Comentarios sobre la hinchazón butírica del queso. Revista Española de Lecheria, Madrid (35):7-39 , Mar., 1960.

16. FOSTER, E.M.; NELSON, F.E.; SPECK, M.L.; DOETSCH, R.R. & OLSON, J.C. Factors Affecting Growth of Microorganisms In: Dairy Microbiology, New Jersey, May, 1964. Cap.3, p. 55-84.

17. FURTADO, M.M. Comunicação pessoal. Universidade Federal de Viçosa - UFV. Viçosa-MG, 1989.

18. FURTADO, M.M. O estufamento tardio dos queijos: características e prevenção - uma revisão. Rev. ILCT, Juiz de Fora, 40(242):3-39, nov/dez., 1985.

19. FURTADO, M.M. Defeitos de fabricação de queijos. In. Seminário Sobre Fabricação de Queijos. Juiz de Fora-MG, Instituto de Laticínios Cândido Tostes - EPAMIG, 1987.

20. FURTADO, M.M. & CASAGRANDE, H.de R.; & FREITAS, L.C.G. Estudo rápido sobre evolução de alguns parâmetros físico-químicos durante a maturação do queijo tipo Gorgonzola. Rev. ILCT, Juiz de Fora

21. FURTADO, M.M. & LOURENÇO NETO, J.P.de M. Estudo rápido sobre a composição média dos queijos Prato e Minas no mercado. Revista Boletim do Leite, Rio de Janeiro, 51(605): 4-7, mar., 1979.

22. FURTADO, M.M. & WOLFSCHOON-POMBO, A.F. Perda de umidade da coalhada durante a fabricação do queijo Prato. Rev.ILCT, Juiz de Fora, 38 (229):3-8, set/out., 1983

23. FURTADO, M.M. & WOLFSCHOON-POMBO, A.F. Étude de quelques aspects de la fabrication des fromages Brèsiliens Prato et

Minas. Le Lait, Paris, (21):21-3, Juin, 1977.

24. GALESLOOT, T.E. Effect of oxidising salts upon oxidation reduction potencial of cheese and upon the development of butyric acid bacteria in cheese. Netherland Milk and Dairy Journal, Wageninger, 15:68-79, 1961.

25. GALESLOOT, T.E. Some factors affecting the efficiency of nitrate in controlling the butyric and fermentation in Edam e Gouda cheese. Netherland Milk and Dairy Journal, Wageninger, 18:133-8, 1964.

26. GALESLOOT, T.E. & HASSING, F. Effect of nitrate and chlorate and mistures of these salts on the frowth of coliform bacteria. Results of model experiments related to gas defects in cheese. Netherland Milk and Dairy Journal, Wageninger, 37 (1/2):1-9, 1983.

27. EL-GENGY, S.M.; NASSIB, R.; ABED-EL-CELLER. & HANAFY,N. Survival and growth of Clostridium species in presence of hydrogen peroxide. Journal of Food Protection, 43(6):431-2, jun., 1980.

28. GEURTS, T.J.; WALSTRA, P. & MULDER, H. Transport of salt and water during salting of cheese. 2. Quantities of salt taken up and of moisture lost. Netherland Milk and Dairy

Journal, Wageninger, 34:229-54, 1980.

29. GODINHO, M. & FOX, P.F. Repening of Blue cheese: salt diffusion rates and mould growth. Milchwissenschaft, 36 (6) : 329-32, 1981.

30. GOODHEA , K.; GOUGH, T.A.; WEBB, K.S.; STADHOUDERS, J. & ELGERSMA, H.C. The use of nitrate in the manufacture of Gouda cheese. Lack of evidence of nitrosamine formation. Netherland Milk and Dairy Journal, Wageninger, 30 (3/4): 207-21, 1976.

31. GRAY, J.L.; IRVINE, D.M. & KAKUDA, Y. Nitrates and N-nitrosamises incheese. Journal of Food Protection, Michigan , 42(3):263-72, mar., 1979.

32. GRIPON, J.C.; DESMAZEAUO, M.J.; LE BRAS, D.J.& BERGERE, J.L. Étude ser role des microrganismes et enzimes ai cours de la maturation des fromages II. Le Lait, Paris, 55 (548):502-16, 1973.

33. GUINGAMP, M.F. & LINDEN, G. Teneurs em $NO_x$ du lait et des produits laitiers: aspects technologiques et biochimiques. Le Lait, Paris, 63 (633/4):425-42, nov-dec., 1983

34. GUINGAMP, M.F.; LINDEN, G. & SCHWARTZ. Teneus en nitrates

-nitites des lactosèrums de fromagerie: aspect méthodologique et causes de variation. Le Lait, Paris, 58 (577) : 371-80, jui-aou., 1978.

35. HARDY, J. L'Activité de l'eau, le sel et les moisissures des fromages. Revue Laitière Française, Paris, (377): 19-21 , 23-5, jui-aou., 1979.

36. HOLSINGER, V.H.; POSATI, L.P. & De VILBISS, E.D. Whey beverages: a review. Journal of Dairy Science, Compaigon, 57 (8):849-59, aug., 1974.

37. INSTITUT TECHNIQUE DU GRUYÈRE. Le salage des fromages en saumure,:1-14, nov. 1975.

38. JAY, J.M. Microbiologia Moderna de Los Alimentos. Editorial Acúbia, 2ª edicion. Zaragoza-España, 1978.

39. KIERMIER, F. & LECHNER, E. Milchund Mil Cherfengnisse. Verlag, Paul Parey, Berlin - Hamburg, 1973.

40. 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. 1. Experiments in whey. Netherlands Milk and Dairy Journal, Wageninger, 36 (2):79-87, 1982.

41. KOSIKOWSKI, F.V. & MOCQUOT, G. Influence of silage on quality of cheese milk. Advance in Cheese Technology, by FAO publication, nº 38, Roma, 1958.

42. LANGEVELD, L.P.M. & GALESLOOT, T.E. Estimation of the oxidation-reduction potential as an aid in tracing the cause of excessive openness in cheese. Netherland Milk and Dairy Journal, Wageninger, 25(1):15-23, 1971.

43. LOWY, R. & MANCHON, Ph. Effects toxiques divers dos nitrates et des nitrites. Annales de la Nutrition et de L'Alimentation, Paris, 30:839-45, 1976.

44. MANN, B. Utilisation du lactosèrum dans les produits alimentaires - Whey utilization in foods. Revue Laitière Française, Paris, (411):67-9, sept., 1982.

45. MATTEUZZI, D. & ANNIBALDI, S. Gongiore sperimentale nel formaggio Grana provocate da Clostridium tyrobutyricum. Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia, 21(2):73-80, aprile, 1970.

46. MAUBOIS, J.L. Les proteines du lactosèrum extraites para ultrafiltration, :172-90, INRA, Rennes, França-

47. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Secretaria de Inspeção de Produto Animal -

SIPA. Anuário Estatístico, Brasília, 1986

48. MORAES, J,M. Influência de diferentes concentrações de Nitratos e Nitritos na inibição de esporulados anaeróbicos gasógenos do leite. Rev. ILCT, Juiz de Fora, 36 (215):21-3, mai/jun., 1981

49. MORAES, J.M. Desnate natural do leite: um método de combate ao estufamento tardio dos queijos. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, 10(115):22-6, jul., 1984.

50. MOREL, M. Fermentations butyriques, les mouyens de lutte dans l'entreprise, Revue Laitière Française, Paris, (442): 15-8; 20-1; 39., sep., 1983.

51. NIEUWENHOF, F.F.J. Mesophilic lactobacilli as a cause of nitrate e reduction in Gouda cheese. Netherland Milk and Dairy Journal, Wageninger, 31(3):153-63, 1977.

52. RICHARDSON, G.H. Dairy Industry. In: REED, C. Enzimes in Food Processing.-2 ed. Edition, New York, Academic Press, 1975, Cap. 13, p. 361-95.

53. RIBEIRO, J.A. Queijo Prato e Variedades. In: Fabricação de Queijos, 2ª ed., Rio de Janeiro, SIA, :109-21, 1961

54. ROBERTS, T.A. The microbiological role of nitrite and nitra

te. Journal of the Science of Food and Agriculture, London, 26:1755-60, 1975.

55. SCOTT, D. Oxireductases. In: REED, C.; ED. Enzimes in Food Processing. 2 ed., New York, Academic Press, 1975, Cap.9 p., 219-54.

56. SURAZYNSKI, A. & PETERSON, E.L. Fenomenos fundamentales durante la maduracion de los quesos.:1-9.

57. TAYLOR, S.L.; SOMERS, E.B. & KRUEGER, L.A, Antibotulinal effectiveness of nisin-nitrate combinations in culture medium and chicken Frankfurter emulsions. Journal of Food Protection, 48(3):234-9, march, 1985.

58. VEISSEYRE, R. La Technologie du Lait. Maison Rustique, 2ªed. Paris, 1975, 114 p.

59. WALKER, W.H. Aerobic and Anaerobic Spore-Forming Bacteria and Food Spoilage. In: DIFIGEIREDO, M.P. & SPLITTSTOESSER, D.F. Food Microbiology: Public Health and Spoilage Aspects. Westport, AVI, 1976, Cap. 12 p., 356-86.

60. WOLFSCHOON-POMBO, A.F. Índice de proteólise em alguns queijos brasileiros. Revista Boletim do Leite, Rio de Janeiro, 55 (661):1-8, nov., 1983

61. WOLFSCHOON-POMBO, A.F. ; CASAGRANDE, H.de R.; LOURENÇO-NETO, J.P.de M. & MUNCK, A.V. Alterações no queijo Minas Frescal durante o período de armazenamento. Rev.ILCT, Juiz de Fora, 39(233):3-9, mai/jun.,1984.

62. WOLFSCHOON-POMBO, A.F. & LIMA, A. Extensão e profundidade da proteólise em queijo Minas Frescal. Comunicação Pessoal, 1988.

63. ZERFIRDIS, G.K. & MANOLKIDIS, K.S. Contents of nitrates and nitrites en some Greek and imported cheeseas. Journal of Protection, London, 44(8):576-9, aug., 1981.