



**CARACTERÍSTICAS FUNCIONAIS DO
QUEIJO MUSSARELA ELABORADO COM
DOIS TIPOS DE AGENTES COAGULANTES E
TEMPERATURAS DE FILAGEM**

MARIA DE LOURDES GONÇALVES MONTEIRO

1999

MARIA DE LOURDES GONÇALVES MONTEIRO

**CARACTERÍSTICAS FUNCIONAIS DO QUEIJO MUSSARELA
ELABORADO COM DOIS TIPOS DE AGENTES COAGULANTES
E TEMPERATURAS DE FILAGEM**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Química, Físico-Química de Alimentos, para obtenção do título de "Mestre".

Orientador
Prof. Dr. Luiz Ronaldo de Abreu

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

1999

DEPARTAMENTO
ARQUIVADO
20.10.99
BIBLIOTECA CENTRAL DA UFLA

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Monteiro, Maria de Lourdes Gonçalves

Características funcionais do queijo mussarela elaborado com dois tipos de agentes coagulantes e temperaturas de filagem / Maria de Lourdes Gonçalves

Monteiro.. -- Lavras : UFLA/FAEPE, 1999.

129 p. il.

Orientador: Luiz Ronaldo de Abreu.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Queijo mussarela – Coalho e coagulante. 2. Efeito da temperatura de Filagem. 3. Característica físico-química. 4. Característica funcional. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-637.1



MARIA DE LOURDES GONÇALVES MONTEIRO

**CARACTERÍSTICAS FUNCIONAIS DO QUEIJO MUSSARELA
ELABORADO COM DOIS TIPOS DE AGENTES COAGULANTES
E TEMPERATURAS DE FILAGEM**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Química, Físico-Química de Alimentos, para obtenção do título de "Mestre".


APROVADA em 03 de Maio de 1999

Prof. Vânia Déa de Carvalho

UFLA

Prof Marco Antônio Moreira Furtado

UFJF


Prof. Dr. Luiz Ronaldo de Abreu
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
1999

A Deus

Aos meus pais, Carlos Alberto e Yara

À minhas irmãs, Carla e Cátia

**Aos meus sobrinhos, Tiago Roberto, Gisele Cristina, Renata Cristine,
Carlos Eduardo e Brenda, Ana Luiza, Maria Eugênia, Luiz Fernando e
Karla**

Aos meus sogros, Mozart e Amélia

À minha cunhada Nina e Eduardo

Aos meus cunhados Honório José e Ivan e seus familiares

**A professora Claire Vendrusculo e esposo pelo apoio, confiança
e incentivo neste novo projeto**

**Ao Professor José Egmar Falco principal incentivador neste
novo desafio**

**A Sandra, Izabela e Mariana pelo carinho e apoio
durante todo o período deste trabalho**

A minha família e familiares,

OFEREÇO!!

A meu marido e filhas,

**Luiz Cláudio, Carolina e Bruna, pelo apoio,
paciência, força para seguir em frente e
vencer os percalços do caminho**

DEDICO!!

AGRADECIMENTOS

A Deus

Uma noite, eu sonhei que andava na praia com o Senhor, e através do Céu passavam cenas da minha vida. Para cada cena que se passava, percebi que eram deixadas dois pares de pegadas na areia, um era o meu e o outro era do Senhor. Quando a última cena da minha vida passou diante de mim, olhei para trás, para as pegadas na areia, e notei que, muitas vezes, havia apenas um par de pegadas. Notei também que isso aconteceu nos momentos mais difíceis e angustiosos, e isso me entristeceu; perguntei então ao Senhor: “Tu me disseste que, uma vez que eu resolvi Te seguir, Tu andarias sempre comigo todo o caminho, mas notei que durante as maiores atribulações do meu viver havia na areia dos caminhos da vida, apenas um par de pegadas. Não compreendo porque, nas horas em que eu mais necessitava de Ti, Tu me deixaste”.

O Senhor me respondeu: “Meu precioso filho.

Eu te amo e jamais te deixaria nas horas da tua prova e do teu sofrimento. Quando viste na areia apenas um par de pegadas, foi exatamente aí que Eu, nos braços te carreguei”.

Aos Amigos e Colegas do Mestrado DCA-UFLA

“São idênticas as nossas missões; são diversas as nossas sendas.

Que esta casa nos guie nos meandros de nossa jornada, até nos perdermos ao longe, na orla insondável do horizonte, onde termina a vida e a eternidade principia...”

Ao Orientador e Co-Orientador

Aos Membros da Banca Examinadora

A Professora Claire Vendrusculo - UFPEL/RS

Ao Professor José Egmar Falco - UFLA/MG

“Cada um que passa em nossa vida, passa sozinho, mas não vai só e nem nos deixa sós; leva um pouco de nós mesmos e deixa um pouco de si mesmo. Há os que muito deixaram, mas não há os que não levaram nada”.

(Saint Exupéry)

**Aos Funcionários do DCA - UFLA
Às Laboratoristas do DCA**

“Na vida, todos são igualmente valiosos, porque todos são igualmente necessários”.

**Aos Professores do DCA - UFLA
Ao CNPq**

**“Se teus projetos são para um ano, semeia um grão.
Se são para dez anos, planta uma árvore.
Se são para cem anos, instrua um povo.
Semeando um vez o grão, colherás uma única vez.
Plantando uma árvore, colherás dez vezes.
Instruindo um povo, colherás cem anos.
Se deres um peixe a um homem, ele correrá uma única vez.
Se, porém, o ensinares a pescar, ele comerá a vida inteira”.**

(Kuan-Tzú)

Aos Pais

**“Dou-lhes o sorriso que trago agora em minha face.
O sorriso do trabalho, da luta, do carinho, da crença e da esperança que um dia espero
ver na face dos meus filhos; dou-lhes também uma parte do meu tempo futuro, do qual
você abriam mão para que nos reservassem o melhor. Dou-lhes ainda, todo trabalho que
eu posso despender para fazer esta herança, torná-los notórios e dignos de respeito.
Caros pais, apenas dou-lhes, pois tudo que tenho feito foi ter recebido”.**

**A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste
trabalho**

**“Não é o desafio com que nos deparamos que determina quem somos e o que estamos
nos tornando, mas a maneira com que respondemos ao desafio.
Somos combatentes, idealistas, mas plenamente conscientes.
Porque o ter consciência não nos obriga a ter teoria sobre as coisas: só nos obriga a
sermos conscientes.
Problemas para vencer, liberdade para provar.
E, enquanto acreditarmos no nosso sonho, nada é por acaso”.**

(Henfil)

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	4
2.1 Queijo Mussarela.....	4
2.2 Queijo Mussarela para pizza (<i>Pizza cheese</i>).....	5
2.3 Etapas fundamentais à qualidade do queijo Mussarela para pizza (<i>Pizza Cheese</i>).....	6
2.3.1 Escolha do agente coagulante.....	6
2.3.1.1 Retenção dos agentes coagulantes na massa do queijo.....	7
2.3.1.2 Coalho bovino.....	8
2.3.1.3 Coagulante fúngico.....	9
2.3.2 Culturas ou fermentos lácticos.....	10
2.3.2.1 Fermentação da massa e filagem.....	12
2.3.2.2 Tratamento térmico no queijo Mussarela para pizza (<i>Pizza Cheese</i>).....	15
2.3.2.3 Salga dos Queijos.....	17
2.4 Proteólise e estabilização do queijo Mussarela para pizza (<i>Pizza Cheese</i>).....	18
2.5 Propriedades funcionais do queijo Mussarela para pizza (<i>Pizza Cheese</i>).....	21
2.5.1 Elasticidade.....	23
2.5.2 Derretimento.....	26
2.5.3 Formação de bolhas (<i>blistering</i>).....	31
2.5.4 Viscosidade aparente (viscometria helicoidal).....	31
2.5.5 Liberação de óleo livre (<i>oiling off</i>).....	32
2.5.6 Escurecimento não enzimático (<i>Browning</i>).....	35
2.6 Moldagem embalagem e armazenagem do queijo Mussarela para pizza (<i>Pizza Cheese</i>).....	36
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	38
3.1 Matérias primas.....	38
3.1.1 Leite.....	38
3.1.2 Fermento láctico.....	38
3.1.3 Coalho e coagulante.....	38

3.2	Fabricação dos queijos.....	39
3.3	Tratamentos aplicados.....	41
3.4	Análises físico-químicas e funcionais.....	41
3.4.1	Determinação da força do coalho.....	42
3.4.2	Análises do leite pasteurizado.....	42
3.4.2.1	Acidez titulável.....	42
3.4.2.2	pH.....	42
3.4.2.3	Gordura.....	43
3.4.2.4	Extrato seco total (EST).....	43
3.4.2.5	Densidade.....	43
3.4.2.6	Determinação dos teores de nitrogênio total (NT) e Proteína Total (PT).....	43
3.4.2.7	Determinação do nitrogênio não protéico - TCA 12% (NNP).....	43
3.4.3	Análises do soro.....	44
3.5	Análises dos queijos.....	44
3.5.1	Queijos estocados em D + 3 (4 dias).....	44
3.5.1.1	Umidade.....	44
3.5.1.2	Gordura.....	44
3.5.1.3	Cloreto de sódio.....	45
3.6	Queijos estocados em D + 7, D + 17 e D + 27 (8, 18 e 24 dias).....	45
3.6.1	Extrato seco total (EST).....	45
3.6.2	pH.....	45
3.6.3	Gordura no extrato seco (GES).....	45
3.6.4	Acidez titulável.....	46
3.6.5	Derretimento.....	46
3.6.6	<i>Oiling off</i> (separação de gordura).....	47
3.6.7	Elasticidade.....	48
3.6.8	Viscosidade aparente (viscometria helicoidal).....	50
3.7	Proteólise do queijo.....	52
3.7.1	Nitrogênio total (NT).....	52
3.7.2	Nitrogênio solúvel em pH 4,6 (NS).....	52
3.7.3	Nitrogênio não protéico - TCA12% (NNP).....	53
3.7.4	Índices de maturação ou relação (NS/NTx100).....	53
3.7.5	Índices de proteólise ou relação (NNP/NTx100).....	53
3.8	Análise estatística.....	53
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	55
4.1	Análises físico-químicas do leite pasteurizado.....	55
4.2	Análises físico-químicas do soro.....	56
4.3	Análise dos queijos.....	58
4.3.1	Composição do queijo em D+3 (4 dias).....	58
4.4	Perdas de gordura da massa para a água de filagem.....	62

4.6 Acompanhamento da proteólise.....	67
4.6.1 Nitrogênio total (NT), nitrogênio solúvel em pH 4,6, (NS), nitrogênio não protéico - TCA 12% (NNP), relação(NS/NT) e (NNP/NT).....	68
4.6.1.1 Nitrogênio total (NT).....	69
4.6.1.2 Nitrogênio solúvel em pH 4,6 (NS).....	70
4.6.1.3 Índice de maturação - (relação NS/NTx100).....	72
4.6.2 Nitrogênio não protéico - TCA 12% (NNP).....	73
4.6.2.1 Índice de proteólise - (relação NNP/NTx100).....	74
4.7 Propriedades funcionais do queijo Mussarela para pizza (<i>Pizza Cheese</i>).....	75
4.7.1 Derretimento do queijo.....	76
4.7.2 Índice de <i>oiling off</i> (formação e liberação de óleo livre - separação de gordura).....	80
4.7.3 Elasticidade do queijo.....	84
4.7.4 Viscosidade aparente (viscosidade helicoidal).....	87
5 CONCLUSÕES.....	91
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	93
ANEXOS.....	114

RESUMO

MONTEIRO, Maria de Lourdes Gonçalves. **Características funcionais do queijo Mussarela elaborado com diferentes tipos de agentes coagulantes e temperaturas de filagem.** Lavras: UFLA, 1998. 129p. (Dissertação - Mestrado em Ciência dos Alimentos)*

Com o intuito de obter queijo Mussarela com características apropriadas para a utilização em pizzas (*pizza cheese*) foram utilizados diferentes agentes coagulantes - coalho bovino e coagulante fúngico (*M. miehei*), diferentes temperaturas de filagem - 50°, 56° e 64°C, e diferentes períodos de armazenamento - D+ 7, D+17 e D+27 dias, considerando "D" como dia da filagem. Para verificar as alterações das características reológicas do queijo, foram feitas análises de derretimento, elasticidade, *oiling off* e viscosidade aparente. Os resultados obtidos permitiram avaliar que o derretimento e a elasticidade do queijo fabricado com o coagulante fúngico foram maiores, devido a uma maior extensão da proteólise, havendo também aumento destas características até o 18° dia de armazenamento, seguida de decréscimo. O tratamento térmico não teve efeito significativo no derretimento, mas em relação à elasticidade o índice foi maior para o queijo fabricado com o coagulante fúngico nas temperaturas de filagem de 50° e 64°C. Quanto ao *oiling off* observou-se um aumento geral durante o período de armazenamento, demonstrando coerência com os dados de aumento da proteólise, sendo que quanto maior a temperatura aplicada na massa do queijo, menor o índice desta característica, influenciada pela maior perda de gordura durante a filagem. O tipo de agente coagulante não apresentou efeito significativo no índice de *oiling off*. Observou-se redução da viscosidade aparente com o aumento do período de armazenamento, tendo como causa o efeito da proteólise sobre a rede protéica da massa dos queijos. O aumento da temperatura diminuiu a viscosidade, decorrente do menor teor de gordura no extrato seco (GES) e do teor de umidade, nos queijos filados a temperaturas mais altas. Detectaram-se índices maiores para os queijos fabricados com o coagulante fúngico nas temperaturas de filagem de 50° e 64°C.

*Comitê Orientador: Prof. Dr. Luiz Ronaldo de Abreu - UFLA. Co-orientador: Prof. Dr. Múcio Mansur Furtado - CHR HANSEN.

ABSTRACT

MONTEIRO, Maria de Lourdes Gonçalves. Functional characteristics of mozzarella cheese manufactured with different types of clotting agents and stretching temperatures. Lavras: UFLA, 199. 129p. (Dissertation - Master Program in Food Science)*

The objective of this study was to obtain Mozzarella cheese with suitable characteristics as ingredient for pizzas (pizza cheese). It was utilized different clotting agents - bovine and fungal rennet (*M. miehei*); different stretching temperatures - 50°, 56° and 64°C and different storage periods - D+7, D+17 and D+27 days, being "D" the day of stretching. It was verified the changes in the functional properties (melting, elasticity, oiling off, and apparent viscosity). The results obtained show that, melting and elasticity were higher for cheeses manufactured with fungal rennet, due to a larger extent of proteolysis. It also could be observed that these two properties presented an increasing behavior up to the 18th day of storage, after this point, they began to display an opposed behavior. The heat treatment did not have any significant effect on melting, however the elasticity index was higher for the cheese manufactured with the fungal rennet and stretching temperatures of 50° and 64°C. A general increasing over the storage period was observed for the oiling off property, being consistency with the data of proteolysis, that presented a similar trend. It is well known that the higher the temperature applied on the mass of the cheese, the lower the index of this characteristic will be, due to a higher loss of fat during the stretching process. The kind of clotting agent did not present any significant effect upon the oiling off index. Reducing apparent viscosity along the storage period was observed, cause by the effect of proteolysis on the protein network of the mass of the cheeses. The increasing in the stretching temperature cause a decreasing in the viscosity property, due to the a lower content of fat in dry matter and moisture content of the cheeses stretched with higher temperatures. It was observed that this index was higher for the cheeses made with fungal rennet and stretching temperatures of 50° and 64°C.

*Guidance Committee Advise: Luiz Ronaldo de Abreu - UFLA (Major Professor), Prof. Dr Múcio Mansur Furtado - CHR HANSEN.

1 INTRODUÇÃO

O queijo Mussarela é de grande importância para a indústria e o setor comercial queijeiro por ser ingrediente importante no preparo de pizzas. Tem sua origem na Itália, sendo conhecido internacionalmente por diversas denominações (Oliveira, 1986), tais como: *Mozzarella*, mozzarella, mussarela ou queijo pizza (*pizza cheese*). É classificado como queijo de massa filada, de textura macia e úmida, de massa esbranquiçada, firme, compacta e sabor ligeiramente ácido, é consumido fresco ou estabilizado, podendo ser preparado de leite de vaca semi-desnatado, integral ou de leite de búfala (*muzzarella*), este último apresentando alto teor de gordura.

O termo *pizza cheese* refere-se ao queijo Mussarela preparado especialmente para a utilização como ingrediente na confecção de pizzas. Há uma demanda cada vez maior desse tipo de queijo devido à evolução do mercado de pizzas, onde são utilizados fornos de altas temperaturas, que variam de 270° a 300°C, por cerca de 5 a 8 minutos. Para esse fim, este queijo deve apresentar características próprias de comportamento para ser utilizado como ingrediente, que tornaram-se fatores essenciais na avaliação de sua qualidade e aptidão para o seu uso adequado em pizzarias. As características principais da Mussarela para pizza são: teor médio de umidade de 47 a 48%, teor de gordura mais elevado, maior período de conservação, alta elasticidade e derretimento, baixa liberação de gordura (*oiling off*) e escurecimento (*browning*) controlado (Furtado, 1990). Estas características são influenciadas por uma série de fatores, tais como: período de armazenamento, teor de sal, pH da massa, teor de umidade, teor de gordura, tipo de acidificação e tipo de coalho (Furtado, 1997). Também algumas etapas no processamento deste queijo são de importância crítica no sentido de definir a qualidade e adequação para os diferentes tipos de

utilização.

A fermentação da massa é um estágio importante no processo de fabricação de queijos de massa filada (Coppola et al.1983, Intrieri et al.,1988), pois a produção de ácido láctico a partir da fermentação da lactose reduz o pH, provoca a descalcificação, facilita a sinérese e inibe outras fermentações indesejáveis. A fermentação da massa ocorre no espaço de algumas horas, sendo que a sua duração depende das condições de temperatura, tipo e quantidade de microrganismos utilizados. O coalho tem estreita relação com as características do queijo, sendo também de grande importância para a maturação, agindo em conjunto com o fermento láctico; ambas enzimas atuam nos fenômenos bioquímicos de proteólise, que são determinantes nas características de *flavor* e reologia do queijo.

A operação de filagem é um dos fatores importantes na fabricação de Mussarela e inteiramente dependente de uma prévia acidificação da massa. O controle sistemático e objetivo da fermentação é importante no sentido de se evitar a filagem da massa não suficientemente fermentada, o que pode causar perdas de gordura e, dependendo do pH, reflexo no rendimento e qualidade do produto final. A temperatura da massa durante a filagem é variável e pode influenciar na composição e características reológicas do queijo. Recomenda-se que essa temperatura não deve ultrapassar 57°C, já que se ela for demasiadamente alta poderá provocar alterações na estrutura e composição do queijo; por outro lado, com temperatura abaixo de 52°C, a massa torna-se de difícil manuseio, com defeitos internos e com possibilidades crescentes de se apresentar contaminada por microrganismos indesejáveis.

Na busca de alternativas tecnológicas para produção de mussarela com menor liberação de gordura, alta elasticidade, fundibilidade e adesividade, assim como apresentação de coloração desejável e padronizada quando utilizada como cobertura para pizzas, o presente trabalho teve como objetivo:

Avaliar os efeitos de diferentes agentes coagulantes - coalho bovino (80% de pepsina e 20% de quimosina) e coagulante fúngico (protease do *M. miehei*) - e temperaturas de filagem (50°, 56° e 64°C) nas alterações das características reológicas do queijo Mussarela para pizza (“D” - dia da filagem - , D+ 7, D+17 e D+27 dias) durante o período de armazenamento.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O queijo Mussarela

O queijo *Mozzarella* tem sua origem na Itália, sendo uma variedade do queijo italiano, branco, macio, da família *Pasta Filata* ou de massa filada (coalhada esticada), sendo originalmente elaborado a partir de leite de búfala. Outros membros bem conhecidos da família *Pasta Filata* são o Provolone e o Caciocavallo (Reinbold, 1963). Regionalmente apresenta-se com outros nomes, como por exemplo, queijo cabacinha, palito, nozinho, pizza entre outros (Valle e Leitão, 1995a). É conhecido internacionalmente, devido à influência da cozinha italiana, por diversas denominações, tais como: Mozarela, Mussarela ou *Pizza Cheese*. São de massa fermentada a qual é submetida a um tratamento térmico, com a imersão da coalhada sob agitação em água quente (filagem), o que lhe confere uma plasticidade singular. Apresenta uma estrutura fibrosa característica, com fibras orientadas na mesma direção, resultantes do processo de filagem. Estas fibras podem ser alongadas consideravelmente sem se romper, apresentando uma elasticidade, que está relacionada com dois fatores fundamentais, quais sejam, a presença predominante de caseína intacta, pouco proteolizada e uma concentração crítica de cálcio na massa do queijo (Furtado, 1997).

O queijo Mussarela típico deve apresentar massa esbranquiçada, firme, compacta e de sabor ligeiramente ácido, com cerca de 47% de umidade, 1,5% de sal e pH ao redor de 5,3 (Oliveira, 1986; Oliveira e Caruso, 1996). Algumas etapas no processamento são de importância crítica no sentido de definir a qualidade e adequação para os diferentes tipos de utilização; podem ser encontrados em vários formatos dependendo da sua finalidade, tais como

esférico, periforme ou ovóide (Valle e Leitão, 1995; Oliveira e Caruso, 1996).

2.2 Queijo Mussarela para pizza (*Pizza Cheese*)

O termo *Pizza Cheese* refere-se ao queijo Mussarela preparado especialmente para ser utilizado na confecção de pizzas, sendo normalmente de formato retangular, com composição média recomendada de: 47 48% de umidade, 22% de gordura, 42% de gordura no extrato seco (GES), 1,5% de sal, pH 5,2, bolhas (*blisters*) - 15-25% área com 1-1,5cm de diâmetro e elasticidade de 15cm (Furtado, 1997).

No Brasil, o queijo Mussarela para pizza tornou-se o segundo queijo mais fabricado, sendo que a sua produção praticamente triplicou nos últimos 10 anos, em consequência de uma mudança nos hábitos da população, hábitos estes que impulsionaram um aumento no mercado de pizzarias, alimentação do tipo *fast food* e lanchonetes (Furtado, 1990; Kindstedt, 1997; Furtado, 1997).

O queijo Mussarela para pizza é diferente da maioria dos outros queijos, pois é consumido normalmente no estado derretido, sendo suas características de derretimento e elasticidade altamente apreciados para a fabricação de pizza e de outros pratos relacionados onde ele é importante ingrediente. Essas propriedades são críticas para a qualidade do queijo e sua aceitação é influenciada pela sua composição (Visser, 1991; Ruegg et al., 1991). O desfibramento também é uma característica importante e predominante para sua utilização em pizza (Kosikowski, 1978b), diminuindo com o aumento da umidade do queijo. Há portanto, uma relação inversa entre o teor de umidade e a firmeza ou consistência do queijo produzido (Kindstedt, 1997; Furtado, 1997).

O *Pizza Cheese* deve exibir textura adequada para ser moído, a fim de facilitar a distribuição e posterior fusão uniforme sobre a pizza (Lorton, 1987). A

sua aceitação para uso em pizza é determinado pelas características físicas e funcionais específicas que esse queijo deve possuir tanto no estado fundido como não fundido. Na compreensão adequada dos fatores secundários envolvidos na determinação e eventual controle das características reológicas é essencial o conhecimento de dois fatores primários de grande importância na formação das características da Mussarela. O primeiro se refere ao processo de fermentação da lactose e o segundo à degradação da proteína ou proteólise (Furtado, 1997).

2.3 Etapas fundamentais à qualidade do queijo Mussarela para pizza (*Pizza Cheese*)

2.3.1 Escolha do agente coagulante

Agentes coagulantes são definidos como enzimas proteolíticas destinadas a promover a coagulação do leite para a produção de queijos (Oliveira, 1986; Oliveira e Caruso, 1996). Na coagulação enzimática, têm-se duas etapas distintas: (a) quebra do macropeptídeo da k-caseína e (b) agregação das micelas de para-caseína recém-formadas, sendo esta última muito dependente da temperatura e da atividade de cálcio no meio. A hidrólise (primeira etapa) ocorre na ligação entre os aminoácidos fenilalanina (105) e metionina (106) da k-caseína, sendo a seqüência de aminoácidos compreendida entre a histidina (98) e a lisina (112) muito importante para conferir a conformação espacial adequada para a associação do sítio ativo da enzima com a ligação peptídica a ser clivada (Fox, 1989). O efeito do cálcio na agregação (segunda etapa) é essencial e não parece ser devido à diminuição de cargas, mas como participante das ligações entre os agregados micelares (Walstra, 1990). Os agentes coagulantes desempenham ainda um papel chave e essencial durante a

estabilização do queijo, período em que ocorrem o desenvolvimento do sabor, aroma e consistência, sendo a escolha desses agentes um passo importante para se obterem as características desejadas no produto (Fungaro, 1990; Furtado, 1990).

Na escolha do tipo de agente coagulante devem ser observados alguns fatores, tais como: seu poder coagulante, a quantidade a ser adicionada, que, juntamente com outros como concentração de cálcio solúvel, temperatura, pH, diluição do leite, irão influenciar no tempo de coagulação, na firmeza desejada da coalhada para o corte e na taxa de sinérese (Grandison, 1986; Kindstedt, Kiely, Yun e Barbano, 1991).

2.3.1.1 Retenção dos agentes coagulantes na massa do queijo

A retenção dos agentes coagulantes na massa do queijo Mussarela, após sua fabricação, é de vital importância, pois será responsável pela taxa de proteólise desenvolvida durante o período de estabilização e armazenamento. Essa retenção depende principalmente do tipo de agente coagulante, da temperatura da água de filagem e do tratamento térmico aplicado na massa durante todo o processo de fabricação. No trabalho desenvolvido por Gangopadhyay e Tahakar (1991), ficou demonstrado que quanto mais baixa a temperatura utilizada no tratamento térmico da massa, associada a temperaturas mais baixas da água de filagem, o queijo obteve mais coalho residual, comprovado através do índice de proteólise significativamente mais alto. Segundo os autores, a retenção do agente coagulante é afetada por alterações ocorridas durante a fabricação, decorrentes de fatores como a variação do tipo de leite, do agente coagulante, acidez e pH do soro na drenagem, além de métodos de acidificação utilizados.

Holmes, Druersch e Ernstrom (1977) e Garnott, Molle e Piot (1987),

utilizaram coalho de vitelo e coagulante fúngico na fabricação de queijos Cheddar e Camembert, observando maior retenção do coalho de vitelo em relação ao coagulante fúngico. Como consequência, esses queijos apresentaram maior teor residual de quimosina, comparando-se com a protease fúngica, demonstrando maior inativação da segunda no decorrer do processo de fabricação. Porém, outros pesquisadores (Harper e Lee, 1975; Holmes e Ernstrom, 1977; Garnot, 1985; Budtz, 1989), encontraram uma estabilidade térmica mais elevada para as proteases fúngicas em relação aos outros agentes coagulantes. Esse fato é muito discutível e variável, já que para Creamer (1976), Matheson (1981) e Gangopadhyay e Tahakar (1991), o principal fator que determina o nível de retenção do coagulante em qualquer tipo de queijo, está relacionado com a severidade do tratamento térmico ao qual a massa do queijo é submetida durante a sua fabricação.

2.3.1.2 Coalho bovino

O coalho é o extrato rico em enzimas proteolíticas (proteínases ácidas) obtidas do abomaso de bovinos lactentes ou adultos, destinado a promover a coagulação do leite para produção de queijos. As enzimas proteolíticas do coalho animal pertencem ao grupo das proteínases aspárticas.

Os coalhos produzidos no Brasil são produzidos a partir de estômagos de bovinos adultos, com a composição de 80% de pepsina bovina (E.C. 3.4.23.1) e 20% de quimosina (E.C. 3.4.23.4) (Foltmann, 1987; Retil, Sguedoni e Juliano, 1992). A pepsina bovina é menos específica e mais proteolítica do que a quimosina predominante no coalho de vitelo (Visser, 1981). A ação da quimosina sobre uma cadeia peptídica é semelhante à da pepsina bovina, porém mais específica.

2.3.1.3 Coagulante fúngico

Coagulante é a denominação dada ao substituto enzimático, do coalho de vitelo e da quimosina e pepsina bovina e que pode ser derivado do estômago de outras espécies animais, de microrganismos ou de vegetais, reconhecido por suas propriedades coagulantes e proteolíticas utilizado como sucedâneo do coalho bovino, com a capacidade de coagular o leite sob condições adequadas.

As enzimas proteolíticas fúngicas são capazes de induzir a coagulação do leite de modo similar à quimosina de bezerras. O uso de microrganismos oferece grandes vantagens para essa substituição, já que permite a obtenção de um produto que não é sazonal, em grande quantidade e a baixo custo. Atualmente, o uso de proteases fúngicas tem ganho espaço no mercado de laticínios.

Dentre os coagulantes disponíveis no mercado, apenas cinco tem sido considerados aceitáveis para algumas variedades de queijos, como a pepsina suína e a avícola e as proteinases fúngicas do *Mucor miehei*, *Mucor pusillus* e *Cryphonectria parasitica*, antigamente denominada de *Endothia parasitica* (Foltmann, 1987; Fox, 1988; Broome e Limsowtin, 1998).

A característica principal destas enzimas é sua alta atividade quando comparada a outros coagulantes e sua baixa especificidade (Fox, 1988). Dentre os problemas mais frequentes encontrados em queijos fabricados com coagulantes fúngicos, temos o aparecimento de sabor amargo, sinérese prolongada e desenvolvimento de textura não apropriada (Fox, 1988; Fungaro, 1990).

Os queijos feitos com enzimas fúngicas frequentemente curam ou estabilizam de maneira diferente dos outros feitos com outros tipos de agentes coagulantes, em função do seu alto poder proteolítico, podendo apresentar defeitos de corpo ou de textura. (Richardson et al., 1967; Naudts, 1969; Martens e Naudts, 1973). Estes mesmos autores observaram aumento no teor de

nitrogênio não protéico e alta atividade lipolítica quando comparados aos queijos feitos com pepsina ou com coalho de vitelo. Os melhores resultados obtidos por Sandoval, Paulo e Zupelori (1969), comparando o queijos Mussarela feito com coalho de bezerro e com coalho fúngico, permitiram aos autores recomendar o uso do coalho fúngico para esse tipo de queijo. Matteo, Chiovitti e Addeo (1982), salientam que a degradação da caseína no queijo Mussarela pode ser minimizada com adição de menor quantidade de coagulante fúngico no leite.

Ghosh, Singh e Kanawyla (1990) observaram em seus trabalhos, que o corpo do queijo feito com coalho fúngico é ligeiramente mais mole e, conseqüentemente, sua fusão é superior como também o são o rendimento e a retenção de umidade e gordura na massa.

A recuperação de gordura é comparativamente mais baixa nos queijos fabricados com coalho de bezerro em relação aos elaborados com o coagulante fúngico resultando num produto de melhor qualidade (Kanawjia, Sabikhi e Singh, 1992)

2.3.2 Culturas ou fermentos lácticos

Na elaboração de queijo, a cultura láctica é um ingrediente importante para a obtenção de um produto padronizado e de boa qualidade (Visser, 1977; Visser, 1981; Visser, 1993). A cultura láctica tem como função primária converter a lactose em ácido láctico, e este auxilia na eliminação do soro durante o processo de fabricação e na fase inicial da cura. As transformações bioquímicas durante o processo de cura, responsáveis pela produção de aroma, sabor e consistência dos queijos, só são possíveis com o uso de culturas lácticas. Sem essas, os queijos restringia-se a um produto desprovido de sabor característico, e não seria possível a existência de tantas variedades hoje existentes (Oliveira, 1986; Furtado, 1990; Oliveira e Caruso, 1996; Furtado, 1997).

Na fabricação da Mussarela podem ser utilizados o fermento mesofílico, tipo 0 (*Lactococcus lactis* ssp. *lactis* e *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*) ou termofílico (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*).

As culturas mesofílicas do tipo 0 contém *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* e *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, como produtoras de ácido e nenhum microrganismo produtor de *flavor*. No entanto, *L. lactis* ssp. *lactis* não deve representar mais do que 5% do número total, devido à sua tendência em produzir sabor amargo (Furtado, 1984; Furtado, 1996; Broome e Limsowtin, 1998).

O fermento mesofílico tem seu emprego mais comum na fabricação de queijo para consumo direto, no qual a temperatura da coalhada não ultrapassa 40°C, resultando em queijos com maior teor de umidade, sendo o pH ideal de filagem atingido no dia posterior (Furtado, 1990).

Quando o fermento termofílico é utilizado, o pH de filagem é alcançado muito mais rapidamente, podendo ser filada no mesmo dia da fabricação ou no dia seguinte de acordo com as metas de produção da indústria. Os cultivos termofílicos produzem acidez mais rápido do que os mesofílicos e são mais proteolíticos, solubilizando mais a caseína, conseqüentemente produzindo massa mais macia e eventualmente conferindo-lhe mais sabor, sendo esta cultura mais termoresistente em relação à cultura mesofílica. Quando o fermento é composto de apenas *S. thermophilus*, a produção de ácido é muito mais rápida durante a fabricação, porém é menor durante a estabilização da Mussarela e, conseqüentemente, a proteólise é menos intensa, não ocorrendo a degradação da galactose, que fica na massa, podendo vir a provocar o defeito conhecido por escurecimento não enzimático (*browning*). Já os cultivos mesofílicos degradam inteiramente, a lactose não deixando resíduos de glicose ou galactose, porém sendo muito menos proteolíticos e mais sensíveis ao calor (Furtado, 1997). A via principal de degradação da lactose com a formação final de ácido láctico (lactato) é a Via Glicolítica (ou Embden-Meyerhof) que tem início com a fosforilação da

glucose produzida por bactérias do fermento termofílico (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*) ou por bactérias do fermento mesofílico (*L. lactis* ssp. *lactis* e *L. lactis* ssp. *cremoris*).

Com o uso de bactérias termofílicas, a lactose tem que ser degradada em glicose e galactose, sendo que a galactose tem que ser transformada em glicose para ter acesso a via glicolítica de degradação. Porém com bactérias mesofílicas a galactose segue a chamada Via Tagatose até ser transformada em dihidroxiacetona-P e daí para gliceraldeído-P (glicólise). Bioquimicamente, estas vias permitem a total degradação da lactose em ácido láctico e/ou em outros compostos intermediários.(Kindstedt, 1994; Furtado, 1997).

2.3.2.1 Fermentação da massa e filagem

A fermentação constitui estágio crítico na fabricação de queijos de massa filada. Existem duas formas de fermentação a serem adotadas, dependendo do tipo de fermento utilizado (mesofílico ou termofílico). Pelo processo rápido (termofílico - *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*), a massa deve permanecer no próprio tanque sendo virada de vez em quando a fim de se manter a temperatura através do contato direto com o fundo do tanque. No processo tradicional (mesofílico - *L. lactis* ssp. *lactis* e *L. lactis* ssp. *cremoris*), as fatias são colocadas sobre mesas em locais frescos, geralmente na faixa de 15 a 20° C, permanecendo nestas condições até que se desenvolva a acidez adequada para a filagem. É comum, em nossas indústrias, colocar a massa na sala de salga ou em alguma ante câmara visando manter a temperatura na faixa mencionada acima.

A etapa de fermentação deve ser interrompida quando o potencial hidrogeniônico (pH) da massa estiver variando na faixa de pH 5,1 a 5,2. A medida do pH é utilizada por que, aliada a provas práticas e empíricas de filagem, ainda é o método mais seguro para avaliar o grau de fermentação da

massa (Furtado, 1997).

Massa com alto teor de cálcio coloidal apresenta-se dura, sem elasticidade, rasgando-se ao invés de esticar-se, quando colocada em água quente. Porém, as massas com teor de cálcio muito solubilizado (paracaseinato monocálcico) e com a continuidade da fermentação, há mais redução de cálcio, (paracaseína), originando uma massa fraca e fofa que se desintegra ao ser colocada em água quente, deixando a água de filagem leitosa (Oliveira, 1986; Furtado, 1997). Estes exemplos de massas citados originam queijos defeituosos que não apresentam as características adequadas para serem utilizados na pizza. Portanto, as perdas de cálcio que permanece na coalhada entre estados coloidais e solúveis, devem ser controladas dentro de uma faixa estreita para se obterem propriedades de esticamento ótimas. Portanto, os princípios químicos que governam as propriedades de esticamento do queijo são baseados na habilidade do ácido láctico formado durante a coagulação do leite e a fermentação da massa, de dar início a uma série de reações que podem ser esquematizadas (Kosikowski, 1978b):

Caseinato de cálcio + coalho → paracaseinato bicálcico

Paracaseinato bicálcico + ácido láctico → paracaseinato monocálcico

Paracaseinato monocálcico + ácido láctico → paracaseína

A seguir são descritas todas as reações, que ocorrem em cada etapa desta reação química, tão importante, que ocorre durante a fermentação da massa até atingir o pH ideal para ser filada (Kosikowski, 1978b):

•Caseinato de cálcio + coalho → reação inicial que ocorre após o término da fabricação, massa fresca, com baixo teor de ácido láctico e alto teor de cálcio coloidal (paracaseinato bicálcico). O teor de cálcio influencia ou regula em

grande parte a textura e a consistência de um queijo. O cálcio e o fósforo têm papel de destaque na estrutura da coalhada e do queijo; o cálcio é que estabelece ligações entre as micelas de paracaseína após a coagulação e mesmo dentro de cada micela. A este cálcio se denomina cálcio coloidal, onde o íon H^+ do ácido láctico produzido durante a elaboração do queijo faz intercâmbio com o cálcio coloidal, transformando-o em cálcio solúvel, na forma de lactato de cálcio, dissolvido na água livre no interior do grão de coalhada. Este processo, denominado de desmineralização, é muito importante, pois afeta a estrutura e a textura final do queijo. Assim, a expulsão da água (soro) do grão elimina ácido láctico, sob a forma de lactato. Portanto, queijos duros apresentam um alto teor de cálcio e baixo teor de umidade, sendo que quanto mais ácida a coalhada, menor o teor de cálcio coloidal e maior é a sua porosidade; assim, a expulsão do soro é mais fácil e espontânea:

• Paracaseinato bicálcico + ácido láctico → paracaseinato monocálcico. O ácido láctico produzido solubiliza o cálcio coloidal na forma de lactato de cálcio, desmineralizando o paracaseinato bicálcico em paracaseinato monocálcico, à medida que a fermentação prossegue. Essa conversão é o que garante que a massa ao ser exposta ao tratamento térmico, com a imersão da massa em água à temperatura de 75 a 85°C sob agitação, com a massa atingindo a temperatura aproximadamente de 55 a 58°C (Oliveira, 1986; Furtado, 1990) e de 55 a 60°C (Oliveira e Caruso, 1996). Esta operação deve durar em média de 15 a 20 minutos quando a massa começa a fundir-se, demonstrando qualidade de esticamento uniforme e apresentando-se lisa e com um certo brilho, que permite também que o queijo durante o período de estabilização desenvolva suas características funcionais ideais para ser utilizada em pizza, inclusive de ser moído ou ralado (Kosikowski, 1978; Furtado, 1997).

•Paracaseinato monocálcico + ácido láctico → paracaseína. Neste estágio, ocasionado pela perda contínua de cálcio, a massa fica muito desmineralizada, excessivamente solubilizada, apresentando-se conseqüentemente fraca e fofa desintegrando-se ao ser colocada em água quente, sendo portanto, impossível de ser filada. Essa massa terá de ser desprezada, pois não tem como ser recuperada.

2.3.2.2 Tratamento térmico no queijo Mussarela para pizza (*Pizza Cheese*)

O tratamento térmico, sofrido pela massa durante a filagem, é muito importante para a qualidade do queijo Mussarela para pizza, pois o uso de temperaturas mais altas resulta numa perda excessiva de gordura, enquanto temperaturas mais baixas ocasionam um esticamento incompleto (Sigsgaard, 1994), proporcionando efeitos diretos no desenvolvimento da proteólise, afetando sobremaneira a textura do queijo. Com o uso de temperaturas muito elevadas há uma diminuição do teor residual de coagulante na massa, o que prejudicará a proteólise durante o período de estabilização (Oliveira, 1986). Alguns autores, como Caserio et al. (1977); Kosikowski (1978) e Oliveira (1986) recomendam que a temperatura da massa não deve ultrapassar 57°C, já que se ela for demasiadamente alta poderá provocar alterações na estrutura e composição do queijo; por outro lado, com temperatura abaixo de 52°C, a massa torna-se de difícil manuseio, com defeitos internos e com possibilidades crescentes de contaminação por microrganismos indesejáveis (Caserio et al., 1977).

Vários autores fizeram experiências com a temperatura da água de filagem e temperatura real da massa, observando seus efeitos sobre a massa. Christenson (1966) filou em água a 82,2°C, com a massa atingindo uma temperatura variando de 49 a 57,2°. Huttkins, Halambeck e Morris (1986), filaram a massa com água na temperatura de 77°C e Kosikowski (1982) sugeriu que a massa acidificada deve ser triturada e colocada em água quente na

temperatura de aproximadamente 82,2°C com o controle do tempo para que a temperatura da massa não exceda a temperatura de 57,2°C.

A proporção entre água de filagem e massa varia segundo vários autores, alguns recomendando 1:1 Weckcx e Delbeke (1971); Kosikowski (1978b) utilizou 1:2; Albonico (1970) e Caserio et al. (1977) utilizaram 1:4.

Segundo Valle (1991), para que possa haver um controle da temperatura atingida pela massa durante a filagem, no caso da massa ser conservada a temperatura de 4 - 6°C e portanto a operação de filagem executada no dia seguinte, só pode ser conseguida com a utilização de maior proporção de água de filagem para que a massa atinja a temperatura de filagem, sendo nesse caso, a relação de 1:3 mais adequada. Este mesmo autor indica a proporção de 1:2, para a massa filada no mesmo dia da fabricação (fermento termofílico), sendo esta proporção mais apropriada e vantajosa, permitindo uma perda menor de componentes do extrato seco, principalmente gordura e proteínas, que são componentes majoritários do queijo, já que a temperatura não estará tão baixa, sendo mais fácil atingir a temperatura ideal para a massa filar adequadamente.

O tratamento térmico afeta fortemente os microrganismos que não fazem parte dos cultivos do fermento láctico, principalmente do fermento mesofílico, sendo que os cultivos do fermento termofílico tornam-se suscetíveis à inativação térmica somente quando a temperatura da massa atinge 66°C.

Os coalhos tornam-se suscetível à inativação térmica acima de cerca de 60°C, principalmente a quimosina, porém os agentes coagulantes fúngicos são mais termoresistentes, sendo inativados quando a temperatura da massa atinge 66°C (Kindstedt, 1997).

Em resumo, a história térmica total do queijo é determinada pelo tempo e pela temperatura. Dessa forma, submeter a massa do queijo a temperaturas mais altas, por um curto período de tempo, pode ter o mesmo efeito sobre o fermento

lático e ou agente coagulante que uma temperatura mais baixa por um período de tempo mais longo (Kindstedt, 1997). As características funcionais e taxas de envelhecimento do queijo são fortemente influenciadas pela sobrevivência dos microrganismos do fermento lático e da enzima do agente coagulante.

2.3.2.3 Salga dos Queijos

No Brasil, o uso de salmoura é o tipo de salga mais comum e deve ser realizada em salmoura com 20% de concentração de sal e temperatura de 10 a 12°C. Esse tipo de salga produz queijo mussarela com composição química heterogênea, geralmente por causa das diferenças no tamanho, temperatura da salmoura e no formato dos blocos que causam diferentes padrões de distribuição do sal, já que a salga por salmoura realiza dois papéis vitais para o queijo Mussarela para pizza, quais sejam, a incorporação de sal e o resfriamento (Reinbold, 1963; Nilson, 1974; Cervantes, Lund e Olson, 1983; Guine e Fox, 1986; Kindstedt, Kiely e Gilmore, 1992; Kindstedt, 1997; Furtado, 1997). O teor de sal afeta diretamente as características funcionais do queijo, inicialmente sobre a estrutura do queijo, provocando variação na composição química, através do impacto sobre a atividade enzimática (Kindstedt, 1991). Fatores que afetam a atividade proteolítica, durante o período de estabilização e de armazenagem refrigerado do queijo (Kindstedt, Kiely e Gilmore, 1992). Por isto, Christensen (1966) e Ghosh, Singh e Kanawyla (1990) concordam que a faixa ótima de teor de sal nesses queijos é de 1,5 a 1,7%, já que teores mais elevados podem resultar em queijos com características de baixo derretimento e à redução da proteólise, favorecendo a emulsificação da gordura, reduzindo o *oiling off*. A quantidade de sal afeta também o teor de açúcares no queijo; quanto mais alto seu teor, mais lenta será a degradação da lactose e galactose residual (Furtado, 1997).

Esse teor de sal ajuda, ainda, a controlar a deterioração e o desenvolvimento da acidez que tem influência marcante sobre o *flavor* do produto.

O sal (NaCl) é constituinte vital do queijo e tem várias e importantes funções. A maneira como o sal é incorporado pode ter um grande efeito sobre a qualidade e o rendimento, por isso é importante otimizar o método de incorporação. O sal auxilia a retardar e controlar o crescimento de leveduras e outros fungos, influenciando diretamente na vida-de-prateleira, intensifica o *flavor*, dando ao queijo um sabor característico e mais adequado e retarda o desenvolvimento da acidez, controlando o crescimento de microrganismos produtores de ácido láctico. A relação entre proteína e água no queijo é drasticamente alterada pela presença de sal, durante as primeiras semanas após a fabricação. Isto resulta num aumento substancial da capacidade de retenção de água, com a conversão de micelas de caseína, componentes da estrutura protéica da massa, a um estágio solúvel (Christensen, 1966; Ghosh, Singh e Kanawyla, 1990; Kindstedt, Kiely e Gilmore, 1992).

2.4 Proteólise e estabilização do queijo Mussarela para pizza (*Pizza Cheese*)

A proteólise é o mais complexo dos acontecimentos primários, sendo definida como a degradação das matérias protéicas, como resultado de várias atividades enzimáticas, podendo o processo ser considerado como uma quebra em cadeia (Demazeau e Gripon, 1977; Fox e Law, 1991). A proteólise é essencial para a maioria das variedades dos queijos, especialmente maturados, nos quais é provavelmente a principal ocorrência bioquímica durante a maturação.

A proteólise contribui para a maturação do queijo de quatro maneiras

principais:

- 1 - Contribuição direta ao *flavor* (pela formação de peptídios, aminoácidos, aminas, ácidos, tióis, tioésteres, etc.) ou ao *off-flavor* (sabor inadequado);
- 2 - Facilita a liberação rápida dos compostos durante a mastigação;
- 3 - Mudanças de pH (elevação) via formação de amônia;
- 4 - Mudanças de textura devido à quebra da rede protéica.

Os principais fatores que contribuem para a proteólise em queijos, são;

- coalhos ou coagulantes;
- proteínases nativas do leite, principalmente a plasmina;
- proteínases e peptidases do fermento, após lise das células do fermento;
- proteínases e peptidases de microrganismos secundários;

É importante salientar que estes agentes têm ação proteolítica sinérgica sobre a caseína, (Fox e Law, 1991).

Do agente coagulante adicionado ao leite, somente 6% é retido no coágulo (Fox e Law, 1991). Todavia essa quantidade é influenciada pelo tipo de coalho ou coagulante, nível de pH e da temperatura utilizada. O pH baixo favorece maior retenção da quimosina e da pepsina bovina, porém não influencia na retenção da protease dos coagulantes fúngicos, sendo, conseqüentemente retida em maiores proporções na massa do queijo.

Durante o período de estabilização do queijo, ocorrem as transformações necessárias para o desenvolvimento de suas características desejáveis, ocasionadas pela atividade proteolítica do tipo de cultura e do agente coagulante residuais na massa do queijo. Neste período a matriz protéica, composta de caseína insolúvel, dilata-se a nível microestrutural, formando um gel hidratado. Paralelamente ocorre a solubilização progressiva da caseína intacta devido à ação do NaCl proveniente do tipo de salga utilizado no queijo. Neste período ocorrem duas fases distintas no desenvolvimento da textura, decorrente do papel

desempenhado pelas duas caseínas, α_{s1} e a β -caseína. Na primeira fase, a α_{s1} -caseína intacta, que impõe rigidez à matriz do queijo, experimenta uma hidrólise pelo agente coagulante, surgindo o α_{s1} -I peptídeo, resultando no enfraquecimento da rede de caseína do queijo, responsável pelo desenvolvimento das propriedades funcionais ou reológicas, adequadas para o queijo Mussarela para pizza, durante os primeiros 7 a 14 dias, quando a textura borrachenta da massa do queijo jovem é rapidamente convertida num produto mais liso e homogêneo (Creamer, 1976; Creamer, 1982; Furtado, 1997). Durante o período de armazenagem e em temperaturas elevadas, as α_{s1} -caseínas restantes são desdobradas. A segunda fase envolve uma mudança gradual na textura do queijo, onde a β -caseína, intacta, torna-se um fator significativo na manutenção da estrutura do queijo em temperaturas mais elevadas, porém tem um efeito secundário em baixas temperaturas, exceto em queijos que são maturados por um período mais longo (Farkye e Fox, 1990; Farkye et al., 1991; Kindstedt, 1993). A atividade protéica tem sua ação auxiliada pelo teor de umidade acumulada na matriz protéica, derivada da fase soro/gordura, que contribui para o desenvolvimento das características do queijo em estudo (Prentice, 1992). Nesse queijo, a distribuição de água é diferente dos outros queijos, resultado da sua microestrutura incomum causada pela filagem (Oberg, McManus e McMahon, 1993). O queijo fresco apresenta baixa capacidade de retenção de água e por isso as características de derretimento e esticamento são inadequadas, pois exuda frequentemente umidade na superfície do bloco e em superfícies recém-cortadas, tornando-a inadequada para ser desfibrada ou derretida. Por essa razão o queijo Mussarela para pizza é estocado, para que as características funcionais ou reológicas, necessárias para sua utilização, sejam desenvolvidas (Kindstedt, 1995). As concentrações de proteína solúvel aumentam durante o envelhecimento do queijo. Portanto, quanto maior o tempo de estocagem, maior

será o desenvolvimento das propriedades funcionais fundamentais, já que a Mussarela para a pizza (*Pizza Cheese*) sem estabilização não apresenta as características ideais. Apresenta derretimento incompleto com formação de uma textura endurecida ao esfriar sobre a pizza, menor elasticidade, formação de bolhas (*blisters*) irregulares com liberação de óleo livre - separação de gordura (*oiling off*) inadequadas para esse tipo de utilização (Kindstedt, 1997; Furtado, 1997). Esses resultados ocorrem pelo fato de que a matriz protéica da Mussarela fresca é mais rígida e tende a não se deformar com facilidade quando aquecida, entretanto esses defeitos diminuem gradativamente com o decorrer do período de estabilização, quando a proteólise tem a sua atuação sobre a matriz protéica do queijo.

2.5 Propriedades funcionais do queijo Mussarela para pizza (*Pizza Cheese*)

O maior problema indicado pelos proprietários e gerentes de indústria de alimentação que utilizam a Mussarela como ingrediente para pizza é em relação às suas propriedades funcionais, que são aquelas relacionadas com o comportamento do queijo, que devem estar de acordo com os padrões de aceitabilidade para sua utilização na pizza. São as propriedades que definem como o queijo se comporta ao ser aquecido, se derrete bem, se apresenta boa elasticidade, pouco vazamento de gordura ou se escurece muito quando cozido. Portanto as propriedades requeridas são: derreter-se imediatamente ao ser aquecido, mas não de forma excessiva, sem ficar solto sobre a pizza. Deve exibir elasticidade, porém não deve ser duro, nem excessivamente elástico ou borrachento. Não deve liberar poças visíveis de óleo (*oiling off*), na superfície do queijo, todavia, uma aparência úmida devido a liberação moderada de óleo é desejada. Finalmente, o queijo não deve assumir uma aparência queimada,

embora uma intensidade variada de escurecimento controlada seja expectativa do mercado, todos esses itens devem ser seguidos, como norma geral, para a aceitabilidade do queijo Mussarela para pizza (Ghosh, Singh e Kanawyla, 1990; Pilcher e Kindstedt, 1991; McMahon, Oberg e McManus, 1993).

Mudanças nas variáveis de fabricação podem afetar a composição inicial do queijo ou proteólise durante a armazenagem, desse modo afetando as propriedades funcionais desejáveis (Yun et al., 1993a,b,c).

A temperatura usada para o aquecimento da massa afeta a sinérese (perda de umidade) da coalhada durante a fabricação do queijo, e conseqüentemente, a textura final do queijo.

As características funcionais mencionadas acima são indispensáveis para o desempenho adequado desse queijo na pizza, portanto devem ser controladas, pois são resultantes de uma série de fatores, tais como, o período de maturação ou de armazenamento, o teor de sal, pH da massa, teor de umidade, e o teor de gordura do queijo.

As propriedades físicas do queijo abrangem as propriedades de natureza macroscópica e microscópica, sendo que as propriedades macroscópicas são facilmente perceptíveis pelos usuários finais através do manuseio do alimento ou ao ser consumido.

O decréscimo no teor de umidade e aumento do teor de cálcio do queijo Mussarela favorecem um corpo firme e uma consistência mais dura, mais elástica e estruturada; um período de envelhecimento mais longo favorece as características ótimas de funcionalidade. Além do mais, os efeitos da umidade e do cálcio são aditivos. Conseqüentemente, o queijo com baixo teor de umidade e alto teor de cálcio, tenderá a ser muito duro e exigirá um longo período de estabilização. Ao contrário o queijo com alto teor de umidade e baixo teor de cálcio, tenderá a ser muito mole e envelhecerá rapidamente (Kindstedt, 1997).

2.5.1 Elasticidade

É a capacidade da massa, derretida sobre a pizza, de esticar-se, distanciando-se da pizza, quando puxada com um garfo. Esta avaliação envolve ainda fatores como a resistência, ausência de rompimento do fio e a aderência à própria pizza, sendo que o mercado prefere um queijo, que ao se esticar, não arrebente e mantenha ainda certa aderência à superfície da pizza. Temos ainda como fator importante nesta propriedade, a esticabilidade, que é a força do esticamento, isto é, a resistência ao alongamento das fitas fibrosas a medida que são esticadas (Kindstedt, 1991; Furtado, 1997). O termo elasticidade também é usado como sinônimo de fibrocidade ou viscosidade.

Os fatores que influenciam na elasticidade são, segundo os autores, Kindstedt, 1991; Furtado, 1997 e Kindstedt, 1997:

- nível de proteólise;
- teor de gordura;
- teor de sal;
- teor de umidade;
- tempo de armazenamento.

Nível de proteólise - é o principal fator que afeta a elasticidade, já que o queijo recém fabricado possui um alto teor de caseína intacta, portanto essa massa é firme não apresentando condições ideais de elasticidade. Com o aumento gradual na degradação da matriz protéica, aumenta a característica de elasticidade, entretanto, se a massa sofrer excesso de proteólise apresentará baixa elasticidade, rompendo-se facilmente ao ser esticada. A proteólise, como vista anteriormente, é influenciada principalmente pela composição dos fermentos, agentes coagulantes, temperatura da água de filagem e pH de filagem (Kindstedt, 1997; Furtado, 1997).

•**Composição dos fermentos:** o tipo de cultura do fermento láctico é muito importante, pois afeta a proteólise, que quanto maior, mais rápida será a perda de elasticidade da massa. Para o *Pizza Cheese* tem sido cada vez mais freqüente o uso de *L. helveticus* Gal (+) em mistura com *S. thermophilus* Gal (-), para evitar o acúmulo de galactose na massa do queijo, porém com o uso do fermento mesofílico (*L. lactis* ssp. *lactis* e *L. lactis* ssp. *cremoris*) isto não ocorre por ser Gal (+) além de ser menos proteolítico (Furtado, 1997). Assim, com a atividade proteolítica menos intensa, a elasticidade será desenvolvida e mantida na massa por um período maior durante a armazenagem refrigerada, produzindo também queijos de boa qualidade, porém com período total de fabricação maior, o que nem sempre é economicamente viável para a indústria.

•**Agente coagulante:** os agentes coagulantes fúngicos e de pepsina suína são muito proteolíticos, sendo primeiro, mais termoresistentes do que a quimosina e a pepsina bovina, resistindo à temperatura de filagem e permanecendo ativos no queijo, degradando a matriz caseínica durante o período de armazenagem (Furtado, 1997).

•**pH da massa e temperatura da água de filagem:** variação no pH de drenagem da massa, pode ter um impacto maior ou menor sobre a textura do queijo, durante a armazenagem refrigerada, dependendo do tipo de agente coagulante utilizado. Com o uso de coalho a base de quimosina, com pH mais baixo, tende a aumentar a retenção do coalho na massa do queijo, porém o pH não afeta a retenção da protease fúngica do *Mucor miehei*, (Holmes, Druersch e Ernstronn, 1977). Portanto, queijos filados em pH mais baixo, apresentam menor teor de cálcio e melhor índice de elasticidade, já que quanto menor o teor de cálcio na massa maior a elasticidade (Furtado, 1997).

Temperaturas elevadas diminuem o teor residual do agente coagulante e do fermento láctico na massa, pois provocam maior injúria celular dos cultivos e

maior destruição dos resíduos do agente coagulante. Estes dois agentes influenciam a atividade proteolítica (Furtado, 1997), sendo que os coalhos são mais resistentes à inativação térmica em pH mais baixo. Por isso o aumento na temperatura de cozimento ou da água de filagem é utilizado para provocar inativação maior do agente coagulante, afim de se obter um queijo com uma textura mais firme, durante a armazenagem refrigerada, porém essa inativação é menos eficaz em pH mais baixo, quando o coalho bovino é usado (Lawrence, Creamer e Gilles, 1987). O pH e a temperatura são variáveis que podem ser controladas e manipuladas em combinação com outros parâmetros para se obter a funcionalidade adequada do queijo (Visser, 1981; Lawrence, Creamer e Gilles, 1987; Kindstedt, Kiely e Gilmore, 1992). Mudanças drásticas ocorrem nas propriedades dos queijos à medida que o pH é reduzido, pois resultam principalmente na solubilização da maior parte do fosfato de cálcio coloidal. A solubilização altera a microestrutura do queijo com redução do tamanho dos agregados proteicos (Lawrence, Creamer e Gilles, 1987) e também na ligação dentro da rede proteica (Luyten, van Vliet e Walstra, 1991).

Teor de gordura - quanto maior o teor de gordura, menor é a elasticidade da massa e a sua aderência à pizza, sendo que o teor ideal de gordura é de 40-42% no extrato seco (GES), e que representaria variação numa faixa de 2,7 a 3,0% no leite (Furtado, 1997).

Teor de sal - existe uma relação inversa entre o teor de sal do queijo e o grau de proteólise. O teor mais alto de sal (1,7%) diminui o nível de proteólise, em decorrência aumenta a elasticidade da massa, porque a troca iônica cálcio-sódio resulta numa massa com maior flexibilidade. Porém, como o cálcio é divalente e o sódio monovalente, este último tende a diminuir a concentração dentro do grão, durante o processo de fabricação, por diminuir as *pontes* entre o sódio e o

paracaseinato de cálcio (Furtado, 1997).

Teor de umidade - quanto mais alta a umidade, mais intenso será o fenômeno de proteólise, aumentando a degradação da caseína e diminuindo a elasticidade (Furtado, 1997).

Tempo de armazenamento (estabilização do queijo) - a massa atinge a elasticidade ideal com cerca de 15 a 20 dias de armazenamento refrigerado (8-10°C), devido à ligeira proteólise sofrida durante esse período, após o que começa a haver perda progressiva da elasticidade e das outras características ideais, consequência do efeito da proteólise sobre a matriz protéica que continua durante esse período, a não ser que o queijo seja congelado (Furtado, 1997).

2.5.2 Derretimento

O termo derretimento refere-se à capacidade das partículas do queijo se unirem em uma camada contínua uniforme de queijo fundido (Kindstedt, 1991). Kindstedt, Rippe e Duthie (1989) demonstraram que a composição do queijo tem influência profunda sobre as propriedades de derretimento ou fusão do queijo.

Métodos para a avaliação do derretimento foram descritos por Schreiber, sendo a expansão do diâmetro e o decréscimo da altura da amostra os mais comumente utilizados (Arnott, Morris e Combs, 1957; Kosikowski, 1977). Como os métodos não foram padronizados, diferentes pesquisadores têm usado várias dimensões de amostras e condições de aquecimento (Breene, Prince e Ernstronn, 1964a,b; Keller, Olson e Richardson, 1974). Esses autores também definiram diferentes índices de derretimento ou fundibilidade, derivados ou

aparente e as mudanças dimensionais que foram observadas na amostra. Lee, Imoto e Rha (1978), tentaram determinar o derretimento descrevendo a temperatura na qual a fluibilidade tornou-se mensurável para o Viscômetro Brookfield. Visto que a torção máxima pode ser mensurada pelo instrumento e principalmente determinada por parâmetros de construção e que a transferência de calor dentro da amostra não pode ser exatamente monitorada, os índices de derretimento, assim medidos, não podem ser considerados, sem estar livres da influência de fatores arbitrários. O reômetro capilar foi usado para determinar as curvas de fluxo de queijo fundido (Smith, Rosenau e Peleg, 1980) e revelou que efeitos de deslizamento e viscoelásticos fortes podem tornar os resultados inaplicáveis. O índice de derretimento ou de fundibilidade é regulado por diversos fatores e é uma resposta às condições externas impostas no queijo. Em uma amostra de queijo fundida, há sempre gradientes de temperatura que são determinados não apenas pelas propriedades térmicas do queijo, mas também pela distribuição de temperatura externa, a umidade relativa do forno e a geometria do sistema.

Propriedades do queijo podem ser medidas por avaliação tênsil com uma máquina tipo Instron, porém o queijo é raramente testado sob tensão, devido a problemas com o controle das amostras, sendo esses resultados mais significativos para avaliar as propriedades de esticamento e fluxo do queijo Mussarela para pizza ao ser derretido, simulando o esticamento das fibras de caseína durante a fabricação do queijo (Luyten, 1988; Luyten, 1991; Matta e Tytus, 1990; Ak, Bogenrief, Gunasekaran e Olson, 1993; Ak e Guansekaran, 1995) ou ainda para medir as propriedades de esticamento/fluxo do queijo, sendo que a taxa de esticamento e forças envolvidas são registrados para calcular a viscosidade alongacional.

O teste do fluxo de deslizamento tem sido usado para testar as propriedades de viscosidade aparente (fundibilidade/fluxo) do queijo Cheddar, e

do Mussarela para pizza (Apostopoulos, 1994; Ak e Gunasekaran, 1995) e queijos processados (Campanella et al., 1987) em temperaturas até 65°C.

Os fatores que influenciam na elasticidade do queijo Mussarela para pizza são (Kindstedt, 1991; Furtado, 1997 e Kindstedt, 1997):

- nível de proteólise;
- teor de sal;
- teor de gordura;
- teor de umidade;
- teor de cálcio;
- formação de *blisters* (bolhas);

Nível de proteólise - é um processo muito importante para que o queijo atinja a consistência adequada ao sofrer aquecimento, derretendo prontamente, formando uma camada uniforme sobre a pizza. No início do período de estabilização esta massa é firme e fibrosa, já que o queijo recém fabricado possui um alto teor de caseína intacta, apresentando derretimento irregular e inadequado. Com o aumento gradual na degradação da matriz protéica, aumenta a característica de derretimento. A proteólise, como vista anteriormente, é influenciada principalmente pela composição dos fermentos, agentes coagulantes, temperatura da água de filagem e pH de filagem (Kindstedt, 1997; Furtado, 1997).

•**pH da massa:** quanto mais alto o pH, maior será o teor de cálcio da massa, que se apresentará mais firme e com menor tendência ao derretimento. Diferenças de pH na retirada do soro podem afetar a retenção de minerais e afetar a textura do queijo (Keller, Olson e Richardson, 1974; Holmes, Druersch e Ernstron, 1977; Lawrence, Creamer e Gilles, 1987). Em pH 6,40 o teste de força e relaxamento teve índices mais altos, indicando que o teor de cálcio mais alto tornou a estrutura mais forte. O HES (hypothetical equilibrium stress) diminui com a armazenagem sugerindo clivagem de ligações cruzadas estruturais causadas pelo

coagulante. O HES diminui com a estocagem, sugerindo que as ligações cruzadas, que mantinham a estrutura do queijo se rompem pela ação das enzimas do coalho residual, podendo ser também provenientes de microrganismos (Kindstedt, 1991; Furtado, 1996; Furtado, 1997 e Kindstedt, 1997). O início da drenagem de soro em pH 4,6 quando comparado com pH 6,15, resultou em níveis de cálcio significativamente mais altos em queijo Mussarela (Yun, Barbano, Kindstedt e Larose, 1995), porém não houve diferença significativa do índice de derretimento entre esses queijos durante o período de maturação.

•**Tempo de armazenagem:** a armazenagem refrigerada por 2 a 3 semanas, tende a proporcionar uma massa com melhor derretimento e elasticidade sobre a pizza, derivado da atividade proteolítica que ocorre na massa do queijo, durante esse período (período de estabilização), necessária para transformar a massa dura e pouco solubilizada, (borrachenta) do queijo fresco, que apresenta derretimento difícil e inadequado, em uma massa com as características desejáveis.

•**Composição dos fermentos:** quanto maior a porcentagem de cocos no fermento, mais lento será o processo de melhoria das características de derretimento da Mussarela, pois estes não possui atividade proteolítica considerável, além de não ter intensa atividade acidificante.

Teor de sal - o teor de sal influencia diretamente sobre as características funcionais do queijo Mussarela para pizza, principalmente no derretimento e liberação do óleo livre (*oiling off*), seja pelo aumento ou pela redução desses índices, fora dos níveis indicados como ideais por Christensen (1966) e Ghosh, Singh e Kanawyla (1990). O teor de sal mais alto inibe a liberação do óleo (*oiling off*) durante a fusão ou derretimento, afetando a consistência fundida, possibilitando o seu derretimento até uma consistência lisa, embora mais firme e mais estruturada.

Teor de umidade - o queijo Mussarela para pizza, logo após a fabricação é muito resistente e pouco elástico, por isto é necessário que seja submetido a um período de estabilização, quando a atividade proteolítica atua sobre a matriz protéica, promovendo o índice de derretimento adequado para a sua utilização. Queijos mais úmidos tendem a se proteolizar mais rapidamente, devido ao aumento da atividade proteolítica da cultura e do agente coagulante residual, durante o período de armazenagem refrigerada com conseqüente aumento do derretimento (Sigsgaard, 1994).

Teor de cálcio - a relação cálcio:proteína governa o grau de estrutura do queijo derretido. A condição fibrosa é aumentada na estrutura com o aumento da relação (Ca:P) (Kindstedt, 1997). Com a redução do teor de cálcio na massa do queijo, as caseínas livres, emulsificam os glóbulos de gordura, diminuindo a capacidade da gordura de derreter-se e evadir do queijo, durante o derretimento; isto explica a redução da liberação do óleo livre (*oiling off*) durante o derretimento da massa.

Teor de gordura - quanto mais alto o teor de gordura, mais facilitado será o processo de derretimento da massa, que por sua vez é influenciado também pela atividade proteolítica da cultura e do tipo de agente coagulante utilizado, durante o período de armazenagem refrigerado (Sigsgaard, 1994). Ao mesmo tempo que o aumento do período de estabilização favorece o derretimento, tende também a aumentar a intensidade da separação de gordura. Porém, o teor de gordura nem sempre está relacionado com o derretimento do queijo, visto que seu efeito pode ser confundido pela relação ou proporção dos componentes principais, gordura, água e proteína no queijo (Ruegg et al., 1991). Olson, Gunasekaran e Bogenrief (1996) observaram uma relação bifásica entre a gordura no extrato seco (GES) e o índice de derretimento. Mudanças na GES de 18 para 45%, tiveram pouco

efeito sob o derretimento, mas um aumento drástico ocorreu quando o nível de GES aumentou acima de 45%.

2.5.3 Formação de bolhas (*blistering*)

A formação de bolhas (*blistering*) na superfície do queijo Mussarela para pizza derretido aumenta com o período de armazenamento, pois está ligada à proteólise do queijo. As bolhas pequenas (cerca de 0,5 a 1,5cm de diâmetro) e de coloração dourada são consideradas normais na pizza e não devem representar mais de 25% da área total da pizza. Queijos com acentuada degradação da matriz protéica tendem a apresentar bolhas maiores. O fenômeno parece estar relacionado com a descarboxilação de aminoácidos que ocorre tipicamente em queijos de altos índices de proteólise. O dióxido de carbono produzido se acumula na massa sob a forma de ácido carbônico, e se expande como uma bolha (*blister*), quando a Mussarela é derretida em altas temperaturas (Kindstedt, 1997; Furtado, 1997).

2.5.4 Viscosidade aparente (viscometria helicoidal)

Viscosidade aparente (viscometria helicoidal), segundo Katzbauer (1997) é a resistência do líquido ao fluxo, causada pela fricção interna das moléculas.

A unidade de medida é o *centipoise* (cps), definido como a resistência oferecida por um material que requer a força de uma dina por cm² de área para produzir uma velocidade de cisalhamento igual ao inverso de um segundo (Campos et al., 1989). Quando a relação entre a taxa de deformação e tensão de cisalhamento não for constante e depender do tempo de observação ou de forças de recuperação elástica, os fluidos são chamados de não-newtonianos. Para

substâncias com o comportamento não-newtoniano é definida uma viscosidade aparente (μa).

A viscosidade do queijo está relacionado com as propriedades de derretimento e elasticidade, críticas para a qualidade e aceitabilidade do queijo Mussarela para pizza. Durante o derretimento do queijo, este exibe resistência ao fluxo sob aplicação de força e a tendência de retornar a sua forma original após a deformação (*springiness*).


A viscoelasticidade é difícil de ser medida porque os queijos são extremamente diferentes, dependendo da temperatura utilizada para a sua fusão e portanto sujeito a artefatos, causados pela falta de homogeneidade assim como a liberação do óleo livre (*oiling off*). Sendo assim, Kindstedt e Rippe (1988) padronizaram a técnica para analisar a viscosidade aparente do queijo Mussarela para pizza, utilizando o Viscosímetro Brookfield. Neste método a resistência exercida pelo queijo fundido sobre um fuso giratório é mensurado à medida que o fuso é elevado através da amostra e são descritos por um registrador de gráfico.

Segundo Kindstedt, Rippe e Duthie, (1989a,b), o perfil de resistência resultante reflete um composto de pelo menos quatro propriedades do queijo:

- propriedades líquidas (viscosidade);
- capacidade de formar fitas fibrosas;
- acumulo progressivo de fitas em volta do fuso giratório;
- capacidade dos fios resistirem a deformação.

2.5.5 Liberação de óleo livre (*oiling off*)

Liberação de óleo livre é a tendência do óleo de separar-se do corpo do queijo derretido (*oiling off*), formando poças de óleo, especialmente na superfície do queijo, quando submetido a alta temperatura. A liberação de



gordura do queijo Mussarela, por ocasião do seu aquecimento é um fenômeno inevitável e desejável, quando em torno de 10 a 20% da gordura total do queijo, porém, quantidades acima deste índice são consideradas excessivas e depreciam a qualidade do produto.

Segundo Kindstedt e Rippe (1990), a liberação excessiva de gordura é um dos defeitos mais graves que o queijo Mussarela pode apresentar a nível de mercado. Esse fenômeno ocorre quando a matriz de caseína entra em colapso durante o aquecimento, permitindo que os glóbulos de gordura se unam e aflorem à superfície do queijo. A armazenagem refrigerada do queijo Mussarela aumenta a quantidade de óleo livre (Kindstedt, Kiely e Gilmore, 1992).

Segundo Kindstedt (1991); Furtado (1996); Furtado (1997) e Kindstedt (1997), a separação de gordura no queijo Mussarela para pizza é influenciada por diversos fatores, tais como:

- teor de gordura;
- teor de sal;
- nível de proteólise.

Teor de gordura do queijo - o queijo Mussarela para pizza, com teor de gordura mais elevado, apresentará um aumento acentuado de óleo livre (*oiling off*), durante o derretimento, sendo que o teor de gordura no extrato seco (GES) deve variar próximo de 40 a 45%, já que influencia diretamente na liberação de óleo livre, particularmente quando abaixo de 30% e acima de 40%. Quando o teor de gordura no extrato seco está abaixo de 30%, provoca a redução da liberação de óleo, porém acima de 40%, a liberação de óleo livre aumenta consideravelmente.

O teor de gordura do queijo tem efeito bem reconhecido sobre as propriedades físicas, o que tem criado desafios no desenvolvimento de queijos

com baixo teor de gordura, visto que a gordura desempenha um papel mais complexo do que a maioria dos outros componentes (Prentice, 1992).

O queijo com o teor de gordura de $\pm 25\%$ é classificado como queijo Mussarela com baixo teor de gordura. Esse queijo é mais translúcido, apresentando as propriedades de derretimento e alongamento similares às do queijo mussarela com leite parcialmente desnatado, com exceção do teor de umidade que é mais baixo. Nesse caso, grande parte da água, ao invés de estar distribuída uniformemente por todo queijo, fica concentrada entre as fibras de proteínas. Dentro destas colunas de água, estão gotículas de gordura emulsionadas que impedem a união das fitas de proteínas. Estas fitas de proteína de aparência homogênea foram observadas por Oberg, McManus e McMahon (1993), assim o teor de umidade dessas fitas é assumido como a função da capacidade de retenção de água das proteínas. A medida que a gordura é reduzida essas colunas tornam-se mais estreitas e o teor de umidade do queijo mais reduzido.

Teor de sal - o teor de sal tem um forte efeito inibidor sobre a liberação de óleo, que é mais proeminente com o aumento do teor de gordura no extrato seco e com a idade do queijo. Teores mais elevados de sal diminuem a proteólise e favorecem a emulsificação da fase gordurosa, reduzindo a liberação de óleo (*oiling off*) e com teores mais baixo (Kindstedt, Kiely e Gilmore, 1992) há uma redução de troca de sódio com o cálcio ligado à caseína, resultando menor emulsificação da gordura pela caseína (Furtado, 1997; Kindstedt, 1997).

Nível de proteólise - na massa do queijo Mussarela para pizza quanto menor o teor de caseína intacta, maior será a presença de grupos com cargas livres (peptídeos, aminoácidos) e portanto com o aumento da liberação de gordura durante o derretimento do queijo. Como descrito anteriormente, alguns fatores

tendem a aumentar a proteólise e, em consequência, o problema de (*oiling off*), como o uso de coalhos ou coagulantes muito proteolíticos, armazenamento ou cura muito prolongados, temperaturas altas de armazenamento e porcentagem excessiva de bacilos nos cultivos (Furtado, 1997; Kindstedt, 1997).

pH da massa - a massa com pH mais baixo apresenta menos cálcio e em presença de sódio tem seu poder emulsificante aumentado com consequente elevação na capacidade de retenção de gordura. Em pH 5,2, uma grande parte da caseína é dissociada das micelas que estariam disponíveis para estabilizar a superfície de gordura recentemente formada, pois as membranas dos glóbulos de gordura são rompidas durante o cozimento e filagem. O pH baixo solubiliza o fosfato de cálcio coloidal das micelas de caseína, de modo que uma parte do cálcio é transferida da massa para o soro, ficando a massa ao mesmo tempo, com pH e nível de umidade desejáveis (Kindstedt, Kiely e Gilmore, 1992).

2.5.6 Escurecimento não enzimático (*Browning*)

O escurecimento não enzimático (*Browning*) refere-se à formação localizada de manchas escuras ou amarronzadas sobre o queijo.

O fenômeno do escurecimento não enzimático, causado pela reação de Maillard, é provocado por um excesso de lactose e/ou galactose na massa do queijo, que reagem durante exposição a altas temperaturas, com as aminas resultantes da degradação da caseína, responsáveis pelos pigmentos de coloração amarronzadas. Estes radicais acumulam-se na massa durante todo o período de armazenagem, portanto a tendência do problema é de se agravar com o tempo, quando o fermento utilizado é o termofílico, por não possuir a enzima galactokinase, necessária para fosforilar a galactose em galactose-1-P, essas

cepas são conhecidas como Gal (-). Com o fermento mesofílico, que é Gal (+), a galactose é reduzida durante todo o processo de fabricação, o que evita a presença de açúcar residual na massa do queijo, evitando assim a ocorrência desse defeito (Johnson e Olson, 1985; Kindstedt, 1991; Furtado, 1996; Furtado, 1997; Kindstedt, 1997).

2.6 Moldagem, embalagem e armazenagem do queijo Mussarela para pizza (*Pizza Cheese*)

É possível obter queijos moldados sob diferentes formas: em pequenas bolas, tranças palitos, nozinhos dentre outras. A Mussarela para pizza é moldada em blocos retangulares, podendo ser manual ou por máquinas moldadeiras (Oliveira, 1986; Valle e Leitão, 1995a,b). Após moldagem, os queijos são imersos em água gelada (10°C) por aproximadamente uma a duas horas, para adquirir maior firmeza e remover a gordura superficial, para em seguida serem levados à salga.

A vida de prateleira de um produto é em grande parte dependente da sua embalagem e condições de armazenamento. O teor de umidade do queijo Mussarela para pizza, quando elevado, o torna suscetível à deterioração devido ao ataque microbiano, além disso se ocorrer alterações profundas na umidade durante o período de armazenagem, aparecerá defeitos nas características funcionais do queijo. Por isso, o material para a embalagem deve possuir propriedades de barreira ao oxigênio e a umidade (Kosikowski, 1978b; Alves, 1995).

A secagem dos queijos, após a salga, deve ser realizada em câmara com boa ventilação por cerca de 24 horas e em seguida, embalados e estocados em câmara de 0 a 5°C até a comercialização (Oliveira, 1986).

Como o queijo Mussarela para pizza muitas vezes é ralado e depois

congelado, este congelamento ocorre mais rapidamente, devido à grande superfície de exposição, limitando assim o tamanho dos cristais de gelo; isto produzirá uma estrutura de queijo que reterá sua máxima coesividade no descongelamento (Oberg et al., 1992; Furtado, 1997). A temperatura ideal de congelamento deve ser de -10°C , por aproximadamente 6 meses com a utilização de substância antiaglutinante (dióxido de silício, em torno de 0,5%) para evitar que as partículas de Mussarela ralada voltem a aglomerar-se. O descongelamento deve ser feito lentamente, a frio (5 a 8°C) por cerca de 24 horas (Furtado, 1997; Kindstedt, 1997).

Os tipos de embalagens mais utilizadas no Brasil para o queijo Mussarela em peça são filmes plásticos termoencolhíveis. O fechamento das embalagens é feito após a retirada do oxigênio do espaço livre por aplicação de vácuo. Após o fechamento, o produto embalado é mergulhado num banho (85 a 95°C , por um ou dois segundos) ou passa por um túnel com jatos de água quente para que ocorra o encolhimento do material de embalagem, o que auxilia na resistência mecânica da embalagem, melhoria do aspecto e redução do espaço-livre.

O armazenamento ideal deve ser o refrigerado, em temperaturas que podem variar de 0 até 5°C para conservação (Alves, 1995).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Laticínios do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras - MG. O experimento foi conduzido em três dias consecutivos, em fabricações simultâneas, onde foram utilizados 100 kg de leite para cada tratamento em cada uma das três repetições.

3.1 Matérias primas

3.1.1 Leite

O leite utilizado para fabricação do queijo Mussarela foi proveniente de indústria da região de Lavras, Minas Gerais, padronizado para cerca de 3,0% de gordura. A pasteurização foi realizada em pasteurizador a placa por 75°C /15 segundos. Para cada repetição foi adicionado em cada um dos 2 tanques de aço inoxidável 100 kg de leite, previamente homogenizados, que foram então amostrados e receberam os diferentes tratamentos.

3.1.2 Fermento Láctico

O fermento utilizado na fabricação dos queijos foi o fermento mesofílico (DVS-Tipo "O") - R-704 composto de *Lactococcus lactis ssp. lactis* e *Lactococcus lactis ssp. cremoris*.

3.1.3 Coalho e coagulante

Foram utilizados dois tipos de agentes coagulantes, com as seguintes composições e características:

- coalho bovino: obtido de abomaso de bovinos adultos, 20% de quimosina, 80% de pepsina bovina e cloreto de sódio;
- coagulante fúngico: enzimas proveniente da fermentação do *Mucor miehei*;

3.2 Fabricação dos queijos

A tecnologia de fabricação empregada foi a tradicional (figura 1), como descrita por Furtado (1997) e o fluxograma de fabricação está apresentado na Figura 1.

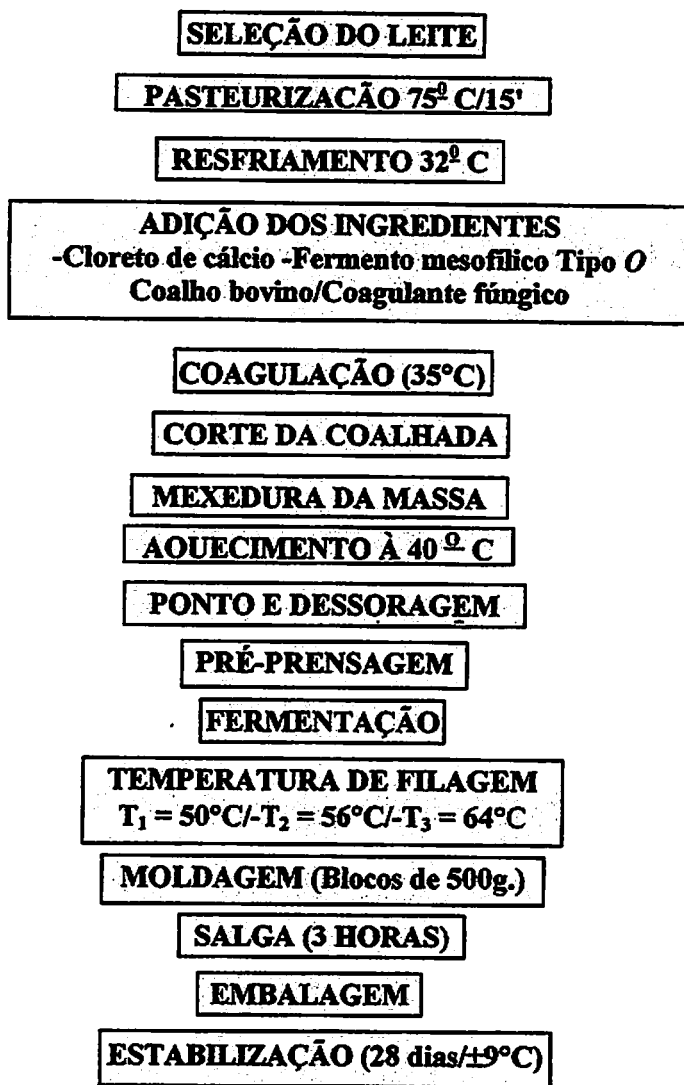


FIGURA 1 Fluxograma dos procedimentos gerais para a fabricação do queijo Mussarela para pizza (*Pizza Cheese*).

3.3 Tratamentos Aplicados

Foram fabricados queijos Mussarela com fermento mesofílico (*L. lactis* ssp *lactis* e *L. lactis* ssp *cremoris*), com dois agente coagulantes (coalho bovino e coagulante fúngico do *Mucor miehei*).Foram aplicados os seguintes tratamentos:

Tratamento 1: Fermento mesofílico + Coalho bovino + temperatura de filagem de 50°C (massa).

Tratamento 2: Fermento mesofílico + Coalho bovino + temperatura de filagem de 56°C (massa).

Tratamento 3: Fermento mesofílico + Coalho bovino + temperatura de filagem de 64°C (massa).

Tratamento 4: Fermento mesofílico + Coagulante fúngico + temperatura de filagem de 50°C (massa).

Tratamento 5: Fermento mesofílico + Coagulante fúngico + temperatura de filagem de 56°C (massa).

Tratamento 6: Fermento mesofílico + Coagulante fúngico + temperatura de filagem de 64°C (massa).

3.4 - Análises físico-químicas e funcionais

Foram realizadas análises do leite, do soro e da massa do queijo durante a fabricação e do queijo Mussarela pronto. Em D+3 (4º dia), sendo “D” o dia da filagem foram realizadas análises especiais . Nos três períodos de armazenagem refrigerada à $\pm 9^{\circ}\text{C}$: D+7, D+17, D+27 - (8, 18 e 28 dias), foram avaliados os efeitos dos tratamentos na composição dos queijos, proteólise e tempo de armazenagem.

Todas as análises foram realizadas no Laboratório do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras -UFLA, sendo todas as determinações realizadas em triplicata.

3.4.1 Determinação da força do coalho

A atividade dos agentes coagulante foi avaliada pela metodologia proposta por Wolfschoon-Pombo (1980), simplesmente para determinar a quantidade adequada a ser empregada nas condições específicas deste trabalho.

3.4.2 Análises do leite pasteurizado

O leite utilizado em cada repetição foi analisado em suas características físico-químicas.

3.4.2.1 Acidez titulável

As amostras foram analisadas utilizando o método da titulação com hidróxido de sódio N/9 (solução Dornic), com a utilização do indicador fenolftaleína, segundo o Laboratório Nacional de Referência Animal - LANARA (1981).

3.4.2.2 pH

As medidas de pH foram determinadas com o auxílio de pH-metro da marca Hanna Instruments, modelo 8341, equipado com eletrodo combinado de vidro, tipo espada, modelo V.627-C.

3.4.2.3 Gordura

As porcentagens de gordura dos leites foram determinadas pelo método butirométrico de Gerber, segundo técnica do Laboratório Nacional de Referência Animal - LANARA (1981). Utilizaram para esta análise butirômetros e centrífuga da marca Original Gerber.

3.4.2.4 Extrato seco total (EST)

Para determinação dos sólidos totais, foi adotado o método de secagem em estufa a 105°C, modelo 315-SE, FANEM, conforme metodologia descrita na (A.O.A.C., 1990).

3.4.2.5 Densidade

Foi utilizada a leitura direta em termolactodensímetro segundo Quevene, previamente calibrado, corrigindo-se o efeito da temperatura, segundo o Laboratório Nacional de Referência Animal - LANARA (1981).

3.4.2.6 Determinação dos teores de Nitrogênio Total (NT) e Proteína Total (PT)

O método utilizado foi o Kjeldahl, segundo metodologia descrita por Gripon et al., (1975). As amostras foram digeridas em bloco aquecedor da marca SARGE, modelo 40-25 e destiladas em equipamento TECNAL, modelo TE 036/1. O fator utilizado para conversão dos teores de nitrogênio para proteína bruta foi 6,38 (Kosikowski, 1977).

3.4.2.7 Determinação do Nitrogênio Não Protéico - TCA 12% (NNP)

As amostras foram precipitadas com ácido tricloroacético (TCA) a 24%, obtendo-se concentração final de 12% e filtradas em papel de filtro WHATMAN

42. O nitrogênio contido nesta solução foi denominado nitrogênio não protéico (NNP), que foi então determinado pelo método de Kjeldahl como descrito por Gripon et al. (1975). Esse nitrogênio também é denominado de nitrogênio solúvel em TCA 12%.

3.4.3 Análises do soro

As amostras do soro foram retiradas no momento do corte e do ponto em todos os tratamentos e repetições. As análises foram realizadas em triplicata seguindo metodologia já descrita em 3.4, para os itens acidez, pH, gordura, extrato seco total (EST), densidade, nitrogênio total (NT) e não protéico - TCA 12% (NNP).

3.5 Análises dos queijos

Os queijos de todos os tratamentos e suas repetições foram amostrados como recomendados pela norma FIL-IDF 50A (1982) e por Wolfschoon-Pombo et al. (1983). Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

3.5.1 Queijos estocados em D + 3 (4 dias)

3.5.1.1 - Umidade

A umidade foi determinada pelo método gravimétrico por meio de estufa de secagem, segundo técnica descrita por A.O.A.C. (1990).

3.5.1.2 - Gordura

As determinações foram realizadas pelo método butirométrico de Gerber (A.O.A.C., 1990). A centrifuga e os butirômetros utilizados foram da marca Original Gerber.

3.5.1.3 - Cloreto de sódio

A porcentagem de cloreto de sódio foi determinada por titulação com tiocianato de potássio a 0,1N, como descrito pela A.O.A.C. (1990).

3.6- Queijos estocados D + 7, D + 17 e D + 27 (8, 18 e 28 dias)

3.6.1 - Extrato seco total (EST)

A metodologia utilizada foi conforme metodologia descrita pela A.O.A.C. (1990). Para as determinações foram utilizadas estufas de secagem (modelo 315-SE FANEM) a 105° C.

3.6.2 - pH

As medidas de pH foram determinadas pelo método potenciométrico, de acordo com Kosikowski (1977), utilizando-se pH-metro, da marca Hanna Instruments, modelo 8341, equipado com eletrodo combinado de vidro, tipo espada, modelo V.627-C.

3.6.3 Gordura no extrato seco (GES)

Foram utilizadas as massas médias de gordura correspondente a 100 g de queijo por 100 g de sólidos totais. O valor resultante foi dividido pela massa média de sólidos totais referentes a 100 g de queijo, e o resultado expresso como porcentagem (%) de gordura no extrato seco (Folegatti, 1994).

3.6.4 Acidez titulável

Foi utilizada a técnica preconizada pelo Laboratório Nacional de Referência Animal - LANARA (1981), sendo as amostras tituladas com NaOH 0,1 N, e os resultados expressos em % de ácido láctico.

3.6.5 Derretimento

Foi feito conforme método de Scheiber's (Kosikowski, 1978). As amostras foram retiradas do queijo com o auxílio de uma sonda de 1,5 cm de diâmetro de 1,5 cm X 0,5 cm de espessura, interior e da parte superficial do queijo (Kosikowski, 1978).

As amostras foram colocadas em papel filtro (Whatman 42) e levadas ao forno aquecido à 110°C por 5'(cinco) segundos; após esse período, foram removidas e resfriadas por 30° em temperatura ambiente.

A expansão da amostra foi medida pelo aumento da área da amostra derretida em relação à amostra original antes do derretimento, utilizando-se a fórmula descrita abaixo, sendo a área medida com emprego de um planímetro, modelo 236, marca Salmoiraghi. Esse teste foi realizado em triplicata.

$$\text{Derretimento \%} = (A2-A1) \times 100/A1, \text{ onde:}$$

- A2 = Área da amostra circular após o derretimento

- A1 = Área inicial da amostra.

Este teste imita o uso do queijo em alimentos ao ser aquecido ou assado como no caso da pizza

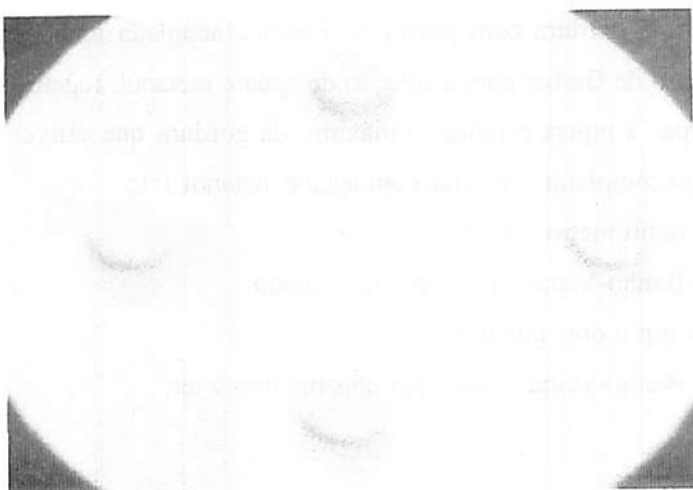


FIGURA 2 Foto da preparação das amostras de queijo para o teste.

3.6.6 Separação de Gordura (*oiling off*)

Foi feito conforme técnica do Teste de Gerber, modificado por Kindstedt e Fox (1991) para a análise de óleo livre para queijo Mussarela.

Etapas do Teste de *oiling off*

- 01 - Queijo ralado - 6 gramas;
- 02 - Colocar em tubo de ensaio rosqueado de 200 mm;
- 03 - Colocar os tubos em água fervente por 4 minutos;
- 04 - Adicionar 10 ml de água acidificada (pH 2,2 com HC) e colocar à 60°C;
- 05 - Centrifugar por 5 minutos;
- 06 - Adicionar 10 ml de água 1:1 (água destilada/metanol);
- 07 - Levar ao Banho-Maria a 60°C por um minuto;
- 08 - Centrifugar por dois minutos;
- 09 - Levar ao Banho-Maria a 60°C por um minuto;

- 10 - Transferir a gordura com pipeta de Pasteur (acoplada uma pera) para o butirômetro de Gerber com a solução de água e metanol, repetir o processo para limpar a pipeta e retirar o máximo da gordura que estiver retida, se necessário completar o volume com água e metanol 1:1;
- 11 - Fechar o butirômetro e agitar;
- 12 - Levar ao Banho-Maria a 60°C por um minuto;
- 13 - Centrifugar por dois minutos;
- 14 - Levar ao Banho-Maria à 60°C por dois minutos e ler;

Cálculo:

FO : (% gordura do queijo) $\frac{\text{Valor de leitura}}{2}$, sendo:

- FO: liberação de óleo livre (*free oil*)

Segundo os autores Kindstedt e Rippe (1990), este procedimento não extrai a gordura retida na forma emulsificada pela caseína no queijo, ou seja, a gordura intrínseca do queijo, extraindo-se apenas aquela que pode ser realmente considerada gordura livre (*free oil*).

3.6.7 Elasticidade

Foi feita com auxílio do equipamento desenvolvido segundo as especificações de Apostolopoulos (1994b) para avaliar o comprimento e a qualidade do fio. Desenho do Eng^o Eletrecista Guiliano Pinheiro, sob orientação da estudante de mestrado Maria de Lourdes G. Monteiro e fabricado nas oficinas da UFLA. O motor do aparelho foi fabricado pelo funcionário Sebastião (eletrecista), assim como o sistema de medição.

Esse teste instrumental empírico foi desenvolvido de maneira a se assemelhar as condições do comportamento do queijo sobre a pizza ao ser manipulado pelo consumidor.

Utilizou-se uma placa circular (diâmetro de 165 mm) feita de madeira. No centro foi cortada uma circunferência de diâmetro de 60 mm, com o centro preso a um bastão. A base de pizza foi cortada de maneira semelhante à forma de madeira, com o corte no centro. Uma camada de queijo moído foi expalhado sobre a massa cortada de acordo com o molde. Ambos foram levados ao forno de microondas e aquecidos por 15 segundos. Ao ser removido do forno, a parte central da pizza foi montada no centro de uma equipamento de teste controlado por um motor. A circunferência central foi puxada verticalmente, esticando o queijo derretido com a velocidade de 1500 mm/minuto. A extensibilidade do queijo foi considerada como a distância percorrida pelo bastão central até que todos os fios das extremidades do queijo fossem rompidas.

Durante o teste empírico um endurecimento das fibras do queijo manteve a sua integridade. Por isso o teste empírico poderia servir como um método rápido direto e objetivo para avaliar a esticabilidade do queijo Mussarela. A amostra de queijo dificilmente rompe-se, já que a massa do queijo que já foi esticada aumentou, com o tempo, a medida que era puxada da superfície da pizza modelo. Sendo esta a característica do teste que reflete a maneira de como o queijo é esticado pelo consumidor, onde o queijo ao ser esticado continua a ser abastecido continuamente do queijo fundido na superfície da pizza.

Esse teste pode ser usado para mensurar objetivamente uma das características funcionais mais importantes do queijo Mussarela e a sua capacidade de formar fios, quando o queijo fundido é puxado (Apostolopoulos, 1994b).

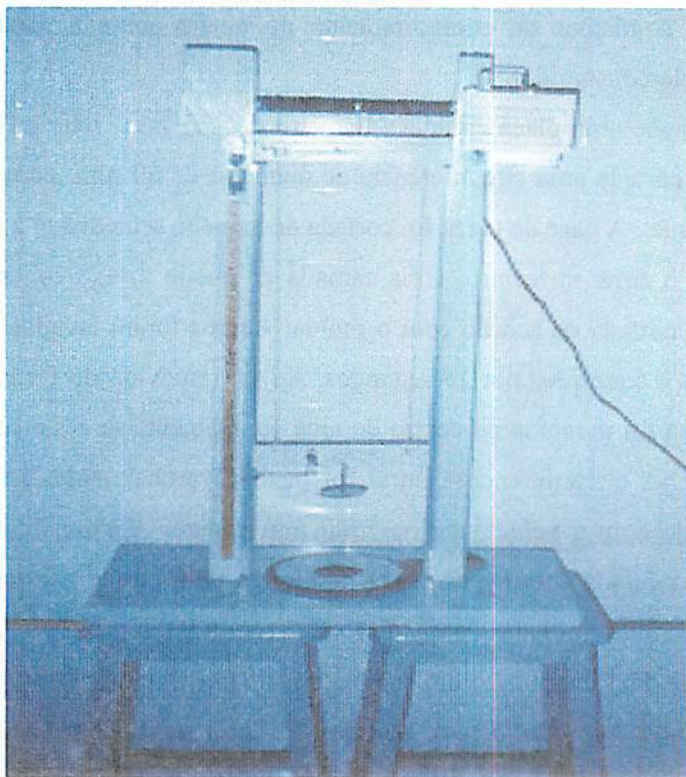


FIGURA 3 Foto do equipamento para avaliação da elasticidade, segundo especificações de Apostolopoulos (1994b).

3.6.8 Viscosidade aparente (viscometria helicoidal)

Foi feita conforme técnica descrita por Kindstedt e Rippe (1988) utilizando Viscosímetro Brookfield RVT (Brookfield Engineering Laboratories, Inc., USA) acoplado a um banho-maria, conforme figura 4.



FIGURA 4 Viscosímetro Brookfield RVT (Brookfield Engineering Laboratories, Inc., USA).

A amostra moída foi derretida por 120 minutos e mantida à temperatura constante de 60°C, com auxílio do banho-maria, durante todo o teste. A haste adequada ao produto (*spindle E*) foi acoplada ao viscosímetro, permitindo movimento de rotação e de elevação, dentro da amostra de queijo derretido, numa velocidade de 1 rpm (rotação por minuto).

Com auxílio de um cronômetro manual, os dados foram registrados a cada 30 minutos e plotados num gráfico:

- viscosidade aparente ($\times 10^6$ cps) X tempo de armazenagem (dias).

A viscosidade das amostras foi calculada utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{Viscosidade } (\eta) = L \times (\text{variação spindle T-E (1 rpm)} / 2 \times 10^6), \text{ sendo:}$$

- L = leitura do valor obtido no pico do gráfico.

3.7 - Proteólise dos Queijos

As análises em triplicata foram realizadas após armazenamento refrigerado a $\pm 9^\circ \text{C}$ por D+7, D+17 e D+27 (8, 18 e 28 dias).

3.7.1 Nitrogênio total (NT)

O método utilizado foi o Kjeldahl, segundo metodologia descrita por Gripon et al., (1975). As amostras foram digeridas em bloco aquecedor da marca SARGE, modelo 40-25 e destiladas em equipamento TECNAL, modelo TE 036/1. O fator para conversão dos teores de nitrogênio para proteína bruta foi 6,38 (Kosikowski, 1977).

3.7.2 Nitrogênio solúvel em pH 4,6 (NS)

As amostras previamente solubilizadas em citrato de sódio 0,5M foram precipitadas com ácido clorídrico 1,41 N até pH 4,6 e a mistura filtrada em papel de filtro Whatman nº 42. O nitrogênio presente nesta solução é o nitrogênio solúvel, determinado pelo método de Kjeldahl como descrito por Gripon et al., (1975).

3.7.3 - Nitrogênio não protéico - TCA 12% (NNP)

As amostras foram precipitadas com ácido tricloroacético (TCA) a 24%, obtendo-se concentração final de 12% e filtradas em papel de filtro WHATMAN 42. O nitrogênio contido nesta solução foi denominado nitrogênio não protéico (NNP), que foi então determinado pelo método de Kjeldahl como descrito por Gripon et al., (1975). Esse nitrogênio também é denominado de nitrogênio solúvel em TCA 12%.

3.7.4 Cálculo dos índices de maturação (LM) ou relação (NS/NTx100)

Os métodos e fórmulas empregadas foram os propostos por Wolfschoon-Pombo e Lima (1989). Para índice de maturação ou relação (NS/NTx100) foram utilizados os teores de nitrogênio total (NT) e nitrogênio solúvel (NS) previamente analisados. Os índices foram obtidos pela fórmula: $LM = NS \times 100 / NT$.

3.7.5 Cálculo dos índices de profundidade (LP.) ou relação (NNP/NTx100)

Os métodos e fórmulas utilizados foram os propostos por Wolfschoon-Pombo e Lima (1989). Para índice de profundidade ou relação (NNP/NTx100) foram utilizados os teores obtidos de nitrogênio total (NT) e nitrogênio não protéico (NNP) previamente analisados. Os índices foram obtidos pela fórmula: $LP. = NNP \times 100 / NT$.

3.8 Análise estatística

Toda a análise estatística foi realizada por meio do programa estatístico SISVAR.

O queijo Mussarela foi elaborado conforme descrito na Figura 5, seguindo o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), em esquema 2 X 3 fatorial, com três repetições subdivididas no tempo (3 períodos de armazenamento):

- 2 tipos de agentes coagulantes (coalho bovino e coagulante fúngico e animal).
- 3 tempos de armazenamento (8, 18 e 28 dias).
- 3 temperaturas de água de filagem (50, 56, 64° C).

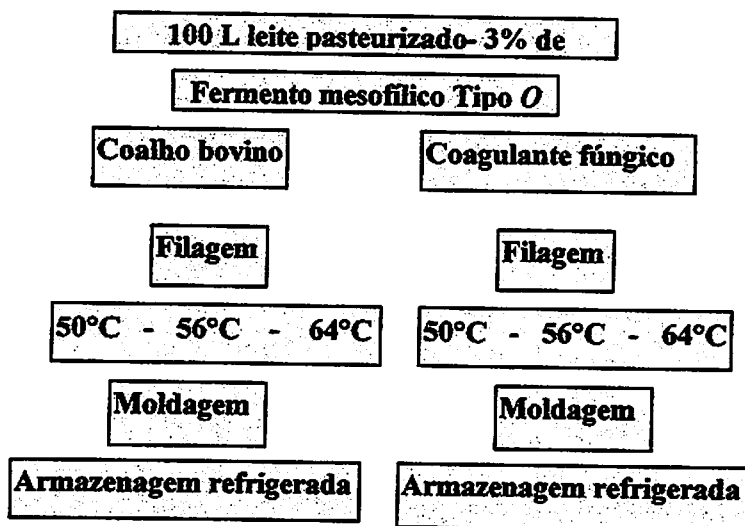


FIGURA 5 Delineamento utilizado na fabricação do queijo Mussarela.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análises físico-químicas do leite pasteurizado

A composição físico-química média do leite utilizado na elaboração dos queijos, apresentada na Tabela 1, encontra-se dentro dos limites preconizados pela legislação e literatura (Brasil, 1980; Jenness, 1988; Verruma, 1993).

TABELA 1- Composição média* do leite utilizado na fabricações dos queijos Mussarela para pizza.

ANÁLISES	COMPOSIÇÃO DO LEITE
Acidez (°D)	15,72
Gordura (% m/v)	3,00
pH	6,43
EST (%)	10,98
Densidade (g/L)	1,032
Proteína total (%)	3,05

* média de 3 determinações

A composição e as características físico-químicas do leite influenciam na composição final do queijo (Kosikowski, 1982; Kammerlhener, 1994), o que, conseqüentemente terá influência marcante em seus atributos de qualidade. Dessa forma, o conhecimento da composição do leite é de fundamental importância para se avaliar a verdadeira influência dos tratamentos aplicados no experimento.

Os teores de médios obtidos de acidez e pH foram considerados normais (15,72 °D), assim como o valor médio de densidade (1,0318 g/L).

O teor de gordura foi padronizado em 3%, conforme recomendado por Furtado (1997) para a fabricação do queijo Mussarela para pizza.

4.2 Análises físico-químicas do soro

Os resultados das análise do soro (extraído logo após o corte da massa) se encontram na Tabela 2. Visando avaliar diferenças na degradação protéica ainda no tanque de fabricação, foi incluído o nitrogênio não protéico - TCA 12% (NNP), o qual, segundo os resultados, não diferiram estatisticamente a nível de 5%.

TABELA 2 - Resultados médios* da composição do soro (no corte) das fabricações de queijos Mussarela com os agentes coagulantes bovino e fúngico.

ANALISES	AGENTES COAGULANTES	
	Coalho Bovino	Coagulante Fúngico
Acidez (°D)	12,67 ^b	12,33 ^a
pH	6,29 ^a	6,36 ^b
Densidade (g/l)	1,025 ^a	1,026 ^a
Gordura (% m/v)	0,80 ^a	0,53 ^b
N. Total (%)	0,97 ^a	0,97 ^a
N. Não protéico (%)	0,109 ^a	0,113 ^a
EST (% m/v)	7,26 ^b	6,62 ^a

* médias obtidas de 3 observações

^{a,b} médias com o mesmo expoente, na mesma linha, não são significativamente diferentes (p<0,05)

A avaliação estatística dos resultados das análises do soro (no corte), indicou não haver diferenças significativas (p<0,05) para os itens, densidade, nitrogênios total e não protéico e umidade. Houve diferenças estatisticamente significativas (p<0,05) nos valores de acidez, pH, gordura e no extrato seco total

(EST). A diferença nos valores de acidez e de pH que aconteceram provavelmente em função de diferenças no tempo de coagulação (43,33 minutos para o coalho bovino e 38,33 minutos para o coagulante fúngico), já que o coalho bovino é dependente do valor de pH, para que tenha sua atuação adequada, enquanto o coagulante fúngico não é afetado pelo pH, portanto pode ter sido o responsável pelo aumento do tempo de coagulação entre os dois agentes coagulantes, com diferença de 5 minutos a mais para o coalho bovino em relação ao tempo de coagulação com o coagulante fúngico, que ocasiona uma alteração inversamente proporcional com o índice de acidez, apesar de não existir uma perfeita relação entre o teor de acidez e o pH, a inversa proporcionalidade entre eles é conhecida. Assim, o mesmo efeito de simbiose que altera o índice de acidez, provoca a redução dos valores de pH, já que quanto mais tempo demora a coagulação do leite maior será a produção de ácido, derivado da cultura láctica utilizada e com isto, justifica a redução nos valores de pH destes queijos. O pH mais baixo favorece a retenção de quimosina, mas não no caso de coagulante fúngico ou pepsina. Já que quanto mais tempo demora a coagulação do leite maior será a produção de ácido e com isto, teremos uma maior redução nos valores de pH destes queijos. Os resultados são condizentes com os observados nos trabalhos de Oberg et al. em 1982, com o uso desses agentes coagulantes.

As proteinases do coagulante fúngico, quando comparadas com os coalhos, apresentam alta atividade coagulante (AC) e alta atividade proteolítica (AP) não específica. Uma baixa taxa de atividade proteolítica (AP) em relação à atividade coagulante (AC) do leite é exigência essencial para todos os substitutos do coalho de vitelo (Carroll, Thompson e Nutting, 1968) Esses resultados concordam com os observados nos trabalhos de Oberg et al. em 1992, com o uso dos mesmos agentes coagulantes.

O período total do início da fabricação até o ponto de dessoragem da

massa, apresentou uma variação média de 120 minutos para o coagulante fúngico e 125 minutos para o coalho bovino, portanto uma diferença de 5 minutos, o que também exerceu provavelmente, alteração nos valores de pH e acidez. Essas variações foram decorrentes das diferenças de eficiência de coagulação do coagulante fúngico para coalho bovino, exigindo um tempo maior para atingir esse estágio da fabricação. Os autores que estudaram o tempo de fabricação de queijos, utilizando diferentes agentes coagulantes, obtiveram a mesma faixa de variação referente ao tempo total decorrido da adição da cultura láctica até a obtenção do ponto de dessoragem da massa, dados condizentes com os observados por Yun, Kiely, Barbano e Kindstedt (1993) em seus trabalhos com o queijo Mussarela para pizza (*Pizza Cheese*).

A diferença nos teores de gordura do soro demonstra a maior atividade proteolítica do coagulante fúngico, enfraquecendo a matriz protéica. Como essa matriz contém em seu interior, bolsões com gotículas de soro e gordura, seu enfraquecimento leva a maiores perdas de gordura no soro (Fife, McMahon e Oberg 1996). Observou-se também que o teor de gordura do soro, liberado pela massa dos queijos fabricados com o coalho bovino foi superior (Tabela 2), portanto justificando o resultado (Tabela 3) do queijo Mussarela fabricado com o coalho bovino ter apresentando menor teor de gordura.

4.3 Análise dos queijos

4.3.1 Composição do queijo em D+3 (4 dias)

A composição média dos queijos após 4 dia de fabricação, apresentada na Tabela 3, encontra-se próxima da encontrada por Kosikowski (1982) para queijo Mussarela. De acordo com Furtado (1990) e Furtado & Lourenço Neto (1994) o queijo Mussarela adequado tem uma composição fisico-química média,

com um teor de 43 a 46% de umidade, 22 a 24% de gordura, pH de 5,1 a 5,3, proteína de 22 a 25% e um teor de sal entre 1,6 e 1,8%.

TABELA 3 - Resultados médios* da composição dos queijos fabricados com os coalho bovino e coagulante fúngico submetidos a 3 diferentes temperaturas de filagem e armazenados por 4 dias a $9\pm 1^{\circ}\text{C}$.

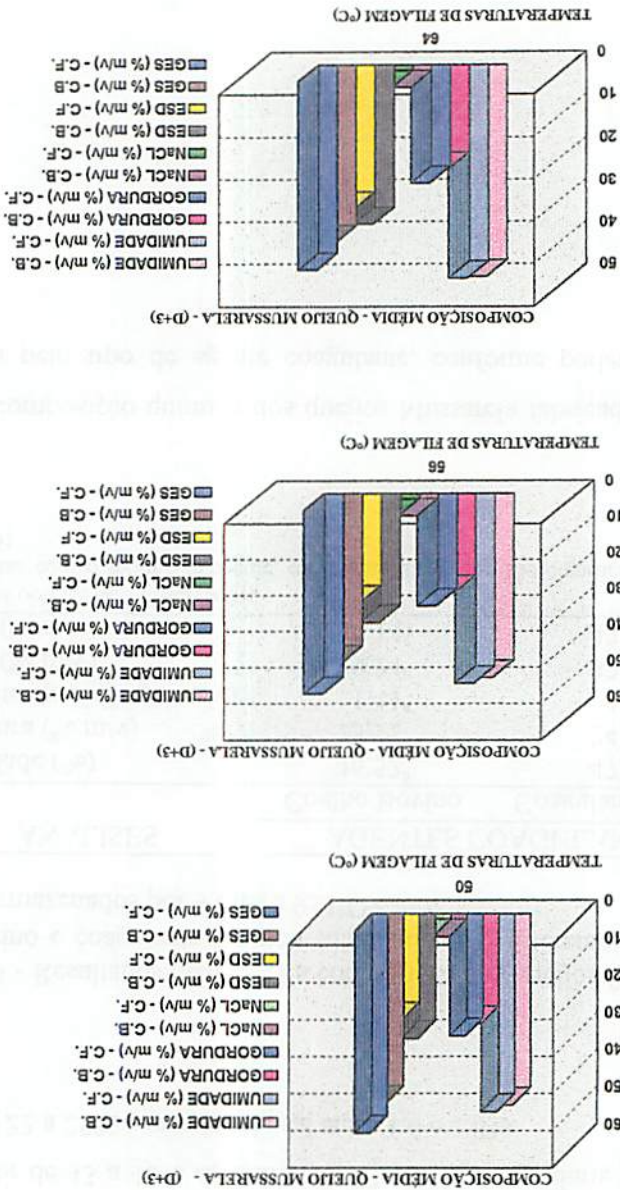
ANÁLISES	AGENTES COAGULANTES	
	Coalho Bovino	Coagulante Fúngico
Umidade (%)	46,52 ^a	47,28 ^a
Gordura (% m/v)	23,72 ^a	24,72 ^a
Cloreto de sódio (% m/v)	1,41 ^a	1,31 ^a
ESD (% m/v)	29,24 ^a	32,00 ^a
GES (% m/v)	45,14 ^a	47,39 ^a

* médias obtidas de 3 observações

^{a,b} médias com o mesmo expoente, na mesma linha, não são significativamente diferentes ($p < 0,05$)

A composição química dos queijos Mussarela fabricados neste trabalho foi afetada pelo tipo de agente coagulante, conforme podemos observar na Figura 1 .

FIGURA 6 - Variações dos teores de umidade, gordura, cloreto de sódio, extrato seco desengordurado (ESD) e gordura no extrato seco (GES) nos queijos Mussarela fabricados com o coelho bovino (C.B) e o coagulante fungico (C.F.), submetidos a três temperaturas de filagem e 4 dias (D+3) de armazenagem a $9 \pm 1^\circ\text{C}$.



O teor de umidade dos queijos variou de (45,95 a 46,67%) para os obtidos com o coalho bovino e (46,30 a 48,35%) para os obtidos com o coagulante fúngico, todos acima de 45%, valor esses estipulado como teor mínimo legal para o queijo Mussarela de baixa umidade nos EUA (Code of Federal Regulations, 1991). Para o coagulante fúngico a faixa de variação apresentou-se superior a encontrada em trabalhos de Yun, Kiely, Barbano e Kindstedt (1993). Observou-se ainda que com o uso de temperaturas mais altas (56 e 64°C) foi detectada maior redução do teor de umidade do queijo confirmando dados obtidos por Yun, Kiely, Barbano e Kindstedt (1993), utilizando proteases fúngicas. Os resultados obtidos com o coalho bovino ficaram mais próximos da faixa indicada, quando da utilização de temperatura de filagem mais baixa (50°C). Comparando-se os queijos fabricados com coalho bovino e com a protease do *M. miehei*, detectou-se um valor médio no teor de umidade superior para os queijos fabricados com coagulante fúngico, resultados que de acordo com Fox & Ernstrom (1969), são devidos às diferentes características de agregação das micelas tratadas com o substrato do coalho bovino e do coagulante fúngico, implicando em diferenças na especificidade da hidrólise da κ -caseína, coincidindo também com as observações de Broome & Hickey (1990), Corradini et al. (1990) e Van Den Berg & Koning (1990), que compararam queijos fabricados com diferentes tipos de agentes coagulantes. Esses autores atribuem esse fator à diferença na estrutura da massa, assim como também à variação na taxa de sinérese durante a salga. De acordo com Eino et al., em 1976, a massa do queijo fabricado com o coalho bovino apresenta-se mais compacta do que a obtida com o coagulante fúngico. Para De Jong (1976), isto ocorre devido à relação existente entre a firmeza do queijo e a quantidade de α_{s1} -caseínas intactas, porque os produtos de desdobramento das caseínas, resultantes da proteólise, são em grande parte hidrosolúveis e não podem contribuir para a firmeza da matriz protéica. A medida que cada ligação

peptídica é clivada, dois novos grupos iônicos são gerados, passando cada um desses a competir pelo teor de água disponível no sistema, (Walstra e van Vliet, 1982).

Os resultados obtidos, com relação ao teor de sal dos queijos (Figura 1), variaram de 1,28 a 1,50% para os queijos fabricados com os dois agentes coagulantes e com as diferentes temperaturas de água de filagem da massa dos queijos. Esses teores de sal observados, ficaram próximos da faixa ótima (1,5 a 1,7%) indicada por Christensen (1966). Teores mais altos de sal afetam a funcionalidade dos queijos e, segundo Ghosh, Singh, Kanawyla (1990), o teor adequado de sal no queijo é importante, pois ajuda a controlar a deteriorização e o desenvolvimento da acidez, que por sua vez controla o “flavor” e influencia na vida-de-prateleira do queijo. Para Kindstedt, Kiely e Gilmore (1992) o teor de sal influencia as características funcionais do queijo, podendo acelerar ou retardar as mudanças nas propriedades funcionais do queijo Mussarela, durante o período de armazenamento refrigerado. No presente trabalho, o teor de sal variou em função dos tratamentos sem alterar, porém as propriedades funcionais dos queijos fabricados.

4.4 Perdas de gordura da massa para a água de filagem

A variação das temperaturas (50°, 56° e 64°C) na massa dos queijos, afetaram os teores de gordura na água de filagem, conforme demonstrado na Tabela 4, onde se pode observar que com o aumento da temperatura da massa, houve maior perda de gordura para a água de filagem.

TABELA 4 - Resultados do teor de gordura na água de filagem dos queijos fabricados com os coalho bovino e coagulante fúngico submetidos a três temperaturas de água.

ANÁLISE	TRATAMENTO TÉRMICO DA MASSA					
	50°C		56°C		64°C	
	Bovino	Fúngico	Bovino	Fúngico	Bovino	Fúngico
Concentração de gordura na água de filagem (%)	0,3	0,5	0,5	0,8	1,07	1,10

* médias obtidas de 3 observações

Essas maiores perdas de gordura na água de filagem, como esperado, levaram a um menor teor de gordura nos queijos, conforme demonstrado na Tabela 3. Essas perdas para as massas obtidas com coagulante fúngico foram maiores em relação à obtida com o coalho bovino, supostamente causada pelo seu poder mais proteolítico, associado ao maior teor de umidade dos queijos. O teor de umidade da massa proporciona maior teor de lactose na massa para ser transformada em ácido láctico, já que é durante a sinérese dos grãos da coalhada que o máximo de lactose é retirada. O teor de umidade auxilia na atividade proteolítica, tornando a rede protéica mais enfraquecida, facilitando, com isso, maior remoção da gordura.

A média do teor de gordura geral para os queijos fabricados com os dois agentes coagulantes foi de (22,64%) para o coalho bovino e de (26,11%) para o coagulante fúngico. Quando os dados são avaliados de acordo com as temperaturas da água de filagem dos queijos (50°, 56° e 64°C) ou com os dois tipos de coagulantes (coalho bovino e coagulante fúngico) separadamente, observou-se a mesma tendência de comportamento (Figura 1). As perdas de gordura, não foram similares entre os agentes coagulantes, já que observaram-se maiores perdas de gordura da massa do queijo com o coagulante fúngico a medida que a temperatura foi aumentando, apresentando uma variação média de

± 0,3% gordura em relação ao coalho bovino, comprovada pela concentração de gordura na água de filagem na Tabela 4 e na composição do queijo na Figura 5. Estes resultados coincidem com os dados dos autores Barbano e Rasmussen (1992), os quais explicam que a retenção de gordura na massa é um processo mecânica de associação da gordura com a estrutura do coágulo. Isto confirma os resultados obtidos para o coagulante fúngico, quanto a apresentar menor teor de gordura na massa de seus queijos, já que proporciona uma ação mais severa na cadeia peptídica, dificultando a retenção mecânica da gordura no coágulo, por ser mais proteolítico (Tunick, et al., 1993; Yun, Kiely, Barbano e Kindstedt, 1993; Tunick e Shieh, 1995).

4.5 Composição do queijo em D+7, D+17 e D+27 (8, 18 e 28 dias)

4.5.1 Teor de acidez e pH dos queijos

Os dois tipos de agentes coagulantes e as três temperaturas utilizadas para a filagem da massa (50°, 56° e 64°C) não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p>0,05$) sobre a acidez e o pH dos queijos. Também não foram significativas a interação entre os dois tipos de agentes coagulante e as temperaturas de filagem, assim como a interação de coalho com o período de armazenagem e temperatura com armazenamento não promoveram modificações estatisticamente significativas ($p>0,05$) sobre a acidez e pH dos queijos. A interação de todos os fatores não ocasionou modificações estatisticamente significativas ($p>0,05$). Porém, o armazenamento promoveu alterações altamente significativas ($p<0,01$) na acidez e pH dos queijos.

Na Tabela 5, abaixo, temos os valores médios de acidez e pH dos queijos observados durante o transcorrer desse trabalho.

TABELA 5 - Resultados médios* dos teores de acidez e de pH dos queijos fabricados com os coalho bovino e o coagulante fúngico submetidos a três temperaturas de filagem e armazenados por 8, 18 e 28 dias a $9\pm 1^{\circ}\text{C}$.

ANÁLISES	AGENTES COAGULANTES	
	Coalho Bovino	Coagulante Fúngico
Acidez ($^{\circ}\text{D}$)	0,40 ^a	0,45 ^a
pH	5,09 ^a	5,17 ^a

* médias obtidas de 3 observações

^{a,b} médias com o mesmo expoente, na mesma linha, não são significativamente diferentes ($p < 0,05$)

4.5.1.1 Teor de acidez

O período de armazenagem promoveu alterações altamente significativas ($p < 0,01$) no teor de acidez dos queijos. A concentração de ácido láctico no queijo diminui a partir do 4^o dia até o 28^o dia de armazenagem refrigerada, efeito esperado, já que neste período ocorre uma gradativa neutralização da massa pela liberação de aminoácidos devido a ação de enzimas dos microrganismo da cultura láctica, que atuam sobre as proteínas, tamponando a fase aquosa do queijo (Law, 1984; Netto, Nascimento Júnior e Fischer, 1988).

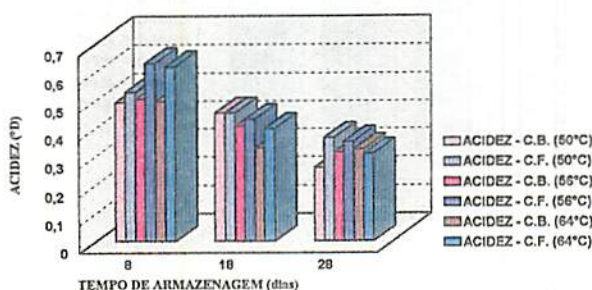


FIGURA 7 - Variações dos teores de acidez dos queijos Mussarela com o coalho bovino (C.B.) e o coagulante fúngico (C.F.) submetidos a três temperaturas de filagem e armazenados por 8, 18 e 28 dias a $9\pm 1^{\circ}\text{C}$.

Os dados apresentados na Figura 7 demonstram que houve uma tendência à neutralização do índice de acidez dos queijos fabricados com os dois tipos de agentes coagulantes, durante o período de armazenagem a $9\pm 1^\circ\text{C}$.

Para os queijos fabricados com o coagulante fúngico o teor de acidez foi ligeiramente mais alto no 8º dia de armazenagem, tendendo a baixar como consequência da neutralização, causada provavelmente pelo teor de umidade mais elevado. Essa mesma umidade pode ser a causa da neutralização mais intensa, devido à atividade proteolítica mais acentuada, conforme dados observados na Tabela 4, em conformidade os obtidos por Kindstedt (1991); Kindstedt, Kiely e Gilmore (1992); Yun et al., (1996).

4.5.1.2 pH dos queijos

O armazenamento refrigerado promoveu alterações altamente significativas ($p > 0,01$) no nível de pH dos queijos, conforme Figura 3.

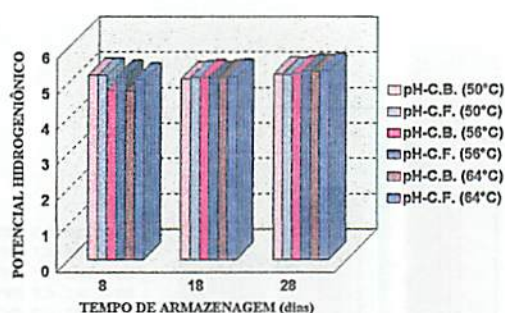


FIGURA 8 - Variações do potencial hidrogeniônico (pH) dos queijos Mussarela com o coelho bovino (C.B.) e o coagulante fúngico (C.F.) submetidos a três temperaturas de filagem e armazenados por 8, 18 e 28 dias a $9\pm 1^\circ\text{C}$.

Os valores de pH encontrados nesse trabalho (Figura 8) não sofreram influência significativa dos tratamentos, estando dentro dos valores normais estipulados por Yun, Barbano e Kindstedt (1993), como sendo os mais adequados para conferir ao queijo características funcionais de derretimento, elasticidade e *oiling off* apropriadas para o uso em pizza.

Esses resultados demonstram uma tendência de elevação do pH, como consequência da neutralização causada presumivelmente pela formação dos componentes alcalinos, resultantes da proteólise, além do catabolismo do ácido láctico, durante o período de armazenagem refrigerado em estudo (8 a 28 dias).

4.6 Acompanhamento da proteólise

Na Tabela 6, podemos observar os resultados médios obtidos decorrentes da atividade proteolítica desenvolvida durante o período de armazenagem refrigerada (8, 18 e 28 dias), para os queijos Mussarela para pizza fabricados.

TABELA 6 - Resultados médios* dos teores de Nitrogênio total (NT), Nitrogênio Solúvel (NS - pH 4,6), Nitrogênio Não Protéico (NNP em TCA 12%), relação (NS/NT) e (NNP/NT) dos queijos fabricados com os coalho bovino e o coagulante fúngico submetidos a três temperaturas de filagem e armazenados por 8, 18 e 28 dias a $9\pm 1^{\circ}\text{C}$.

ANÁLISES	AGENTES COAGULANTES	
	Coalho Bovino	Coagulante Fúngico
Nitrogênio total (%)	3,66 ^a	3,66 ^a
N.S. em pH 4,6	0,54 ^a	0,55 ^a
NNP. - TCA 12%	0,46 ^a	0,48 ^a
NS/NT (%)	14,98 ^a	15,13 ^a
NNP/NT (%)	1,29 ^a	1,31 ^a

* médias obtidas de 3 observações

^{a,b} médias com o mesmo expoente, na mesma linha, não são significativamente diferentes ($p < 0,05$)

4.6.1 Nitrogênio total (NT), nitrogênio solúvel em pH 4,6 (NS), nitrogênio não protéico - TCA 12% (NNP), relação (NS/NT) e (NNP/NT)

Os dois tipos de agentes coagulantes e as temperaturas utilizadas para a filagem da massa (50°, 56° e 64°C) não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) sobre os índices de nitrogênio total (NT), nitrogênio solúvel em pH 4,6 (NS), nitrogênio não protéico em TCA 12% (NNP) relação (NS/NT) e (NNP/NT) analisados. Também não foram significativas as interações: agentes coagulantes X temperaturas de filagem; agentes coagulantes X período de armazenagem; temperatura da água de filagem X período de armazenagem. A interação de todos os fatores não promoveu também modificações estatisticamente significativas ($p > 0,05$), porém o armazenamento promoveu alterações estatisticamente significativas ($p < 0,01$) no nível de nitrogênio total (NT), nitrogênio solúvel em pH 4,6 (NS), nitrogênio não protéico em TCA 12% (NNP), demonstrando um comportamento crescente, conforme demonstrado na Figura 9.

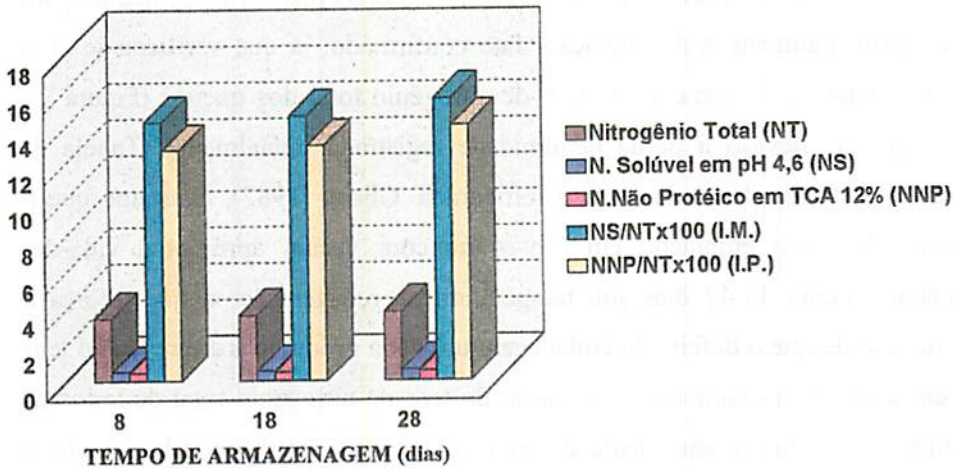


FIGURA 9 - Variações do nitrogênio total (NT), nitrogênio solúvel em pH 4,6 (NS), nitrogênio não protéico - TCA 12% (NNP), relação (NS/NT) e (NNP/NT) dos queijos Mussarela com o coalho bovino (C.B.) e o coagulante fúngico (C.F.) submetidos a três temperaturas de filagem e armazenados por 8, 18 e 28 dias a $9\pm 1^{\circ}\text{C}$.

4.6.1.1 Nitrogênio total (NT)

Para o teor de nitrogênio total, o período de armazenagem refrigerado, promoveu alterações estatisticamente significativas ($p < 0,01$) no nível de nitrogênio total (NT) dos queijos Mussarela analisados, conforme pode ser observado na Figura 9.

Essas modificações foram provavelmente devidas à permeabilidade da embalagem dos queijos que ocasionou-lhes uma considerável desidratação. A embalagem utilizada não promoveu adequadamente o vácuo necessário, já que

foram utilizados plástico co-extrusados, *Cry-o-Vac* de 1 kg, que tiveram de ser adaptadas para acondicionar os queijos com 500 g.

Segundo Alves et al., 1994, o queijo Mussarela precisa ser protegido para evitar principalmente a desidratação, fato confirmado, já que verificou-se uma ligeira tendência de aumento no teor de nitrogênio total dos queijos (Figura 9), supostamente devido à perda de umidade registrada inicialmente (Tabela 3) durante o período de armazenagem refrigerada. Ghosh (1987), constatou que o queijo Mussarela embalado em *Cry-o-Vac* com vácuo, apresentou vida-de-prateleira média de 42 dias sob temperatura de refrigeração; o que reforça a explicação de que o defeito da embalagem utilizada produziu a diferença no teor de umidade, daí ocasionando a variação do teor de nitrogênio total de todos os queijos fabricados independente do tipo de agente coagulante. Eliminando o efeito da umidade, o tratamento térmico aplicado à massa do queijo, através da temperatura da água de filagem, demonstrou não ter provocado efeitos significativos nos teores de nitrogênio total.

4.6.1.2 Nitrogênio solúvel em pH 4,6 (NS)

O período de armazenagem refrigerada promoveu alterações significativas ($p < 0,01$) no nível de nitrogênio solúvel em pH 4,6 (NS), conforme pode ser observado na Figura 9.

Os maiores teores de nitrogênio solúvel, em todas as temperaturas, foram obtidos no 28º dia de armazenagem com refrigeração a $9 \pm 1^\circ\text{C}$ (Tabela 6), quando observou-se que a influência do tempo de armazenagem refrigerada foi mais eficiente, independente do tipo de agente coagulante e do tratamento térmico aplicado a massa dos queijos, decorrente da maior atividade proteolítica (Yun, Barbano e Kindstedt, 1993; Yun, Kiely, Barbano e Kindstedt., 1993). Essa atividade proteolítica ocasiona o desenvolvimento adequado das propriedades funcionais (derretimento, elasticidade e *oiling off*) do queijo Mussarela para

pizza (Oberg et al., 1992; Yun et al., 1993).

Os diferentes agentes coagulantes utilizados ao serem submetidos ao tratamento térmico (50°, 56° e 64°C), exibiram diferentes níveis de NS, no decorrer do período de armazenagem. Apesar das diferenças serem similares e não significativas estatisticamente, na área de laticínios podem definir a fronteira sutil entre a adequação das características funcionais do queijo Mussarela para pizza e a perda dessas, tornando o queijo inadequado para essa utilização, dentro do período de armazenagem refrigerado utilizado (Oberg et al., 1992; Yun et al., 1993).

A continuidade da proteólise, determinada pelo acréscimo no teor de nitrogênio solúvel (NS em pH 4,6) e o de nitrogênio total (NT), promoveram o desenvolvimento de algumas características de textura e funcionais do queijo (derretimento, elasticidade, *oiling off*), consideradas inadequadas no queijo fresco para utilização na pizza os resultados estão em concordância com os relatados por Yun, Kiely, Kindstedt, Barbano (1993); Yun, Kiely, Barbano e Kindstedt, (1993) e confirmadas neste trabalho ao final do período de armazenagem em estudo (Tabela 8). Essas características podem ser preservadas com o uso de congelamento (Kindstedt, 1997). Os índices de maturação (I.M.) e de proteólise (I.P.) são os mais importantes dados para avaliar a externação e a profundidade da proteólise dos queijos.

Segundo Quarne, Larson e Olson, (1968) o nível de proteólise, medida pelo NS em pH 4,6 é maior com o uso de coagulante fúngico em relação ao coalho bovino, acelerando a proteólise, período no qual ocorre a degradação da α -caseína, através da atividade proteolítica causada pelo agente coagulante, que enfraquece a rede protéica e à medida que o queijo envelhece, favorece as características funcionais do queijo para a sua utilização na pizza, comportamento observado e confirmado pelos resultados, obtidos durante o desenvolvimento deste trabalho.

4.6.1.3 Índice de maturação (relação - NS/NT x 100)

O período de armazenagem promoveu alterações estatisticamente significativas ($p < 0,01$) sobre o índice de maturação (I.M.) ou relação (NS/NT x 100), índice que demonstra o grau de extensão da atividade proteolítica do queijo, decorrente da atuação do agente coagulante utilizado, demonstrando um comportamento crescente. Este índice ou relação entre frações nitrogenadas se refere à quantidade de substâncias nitrogenadas solúveis acumuladas no queijo, principalmente devido a ação proteolítica do agente coagulante sobre as caseínas durante o período de estabilização do queijo Mussarela (Wolfshoon-Pombo, 1983).

O índice de maturação ou relação (NS/NT x 100), de modo geral, foram similares com uma ligeira tendência de acréscimo, para os dois agentes coagulantes, com o aumento da temperatura, durante o período de armazenagem de 8 a 28 dias a $9 \pm 1^\circ\text{C}$ (Figura 9).

Esse acréscimo apresentou redução com o aumento da temperatura da água de filagem, comportamento geral para os dois agentes coagulantes. O coagulante fúngico demonstrou ter sido mais afetado na temperatura de 64°C . Porém, no comportamento geral observado, sendo o índice de maturação ou relação (NS/NT x 100) maior nos queijos fabricados com o coagulante fúngico em relação aos queijos fabricados com o coalho bovino (Figura 9), supõe-se que seja devido ao maior teor de umidade, que implica numa proteólise mais rápida, com os queijos apresentando um aumento médio de 18% no índice de maturação ou relação (NS/NT x 100), na temperatura de 56°C , porém na temperatura de 64°C , foi de apenas 6%, de acordo com a quantidade de agente coagulante residual na massa destes queijos (Kindstedt, Dutthie e Rippe, 1988; Yun, Kiely, Barbano e Kindstedt, 1993).

Esse índice indica a importância da influência do pH do queijo que, para o coagulante fúngico não tem influência predominante para a sua atividade

proteolítica. Para as enzimas quimosina e pepsina bovina, o pH mais baixo, no início do período de armazenagem refrigerada, tende a favorecer a atuação da pepsina bovina. Ocorrendo normalmente uma elevação no pH dos queijos, no transcorrer do período de armazenagem refrigerada, a atividade da pepsina bovina é prejudicada, sem, no entanto afetar a atividade da quimosina, que atua numa faixa de pH mais ampla (Fox, 1988).

Como a proteólise do queijo Mussarela é causada pelo coagulante residual e também pelas enzimas das culturas do fermento láctico (Farkye et al., 1991; Barbano e Rasmussen, 1992), para fazer um controle da proteólise, durante o período de armazenagem refrigerada do queijo, pode se utilizar a combinação de temperaturas mais altas para produzir maior inativação residual dos agentes coagulantes mais proteolíticos e o uso de alto pH de drenagem do soro.

4 6.2 Nitrogênio não protéico - TCA 12% (NNP)

Para o teor de nitrogênio não protéico (NNP) o período de armazenamento refrigerado, promoveu alterações estatisticamente significativas ($p < 0,01$), conforme pode ser observado na Figura 7 abaixo.

A tendência linear ascendente predominante das mudanças do teor de nitrogênio não protéico (NNP) para os queijos Mussarela, durante o período de armazenagem, está de acordo com os dados obtidos por Yun, Kiely, Barbano e Kindsted (1993).

O acréscimo desse índice pode ser justificado devido à atuação combinada do fermento mesofílico residual combinado com a atividade proteolítica residual do agente coagulante da massa, resistindo ao tratamento térmico aplicado, como justificativa para o acréscimo do teor de nitrogênio não protéico (NNP) observado nos dados na Figura 10 e que encontram respaldo nas observações de Creamer (1976).

4.6.2.1 Índice de proteólise (relação - $NNP/NT \times 100$)

A avaliação estatística destes resultados indicou haver diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,01$) quanto ao período de armazenamento refrigerado sobre o índice de proteólise do queijo.

O índice de proteólise ou I.P. ou a relação ($NNP/NT \times 100$), refere-se à quantidade de substâncias nitrogenadas de baixo peso molecular que durante o período de estabilização se acumulam no queijo Mussarela (Furtado, 1997). Essas substâncias nitrogenadas (aminoácidos, oligopeptídeos e aminas) são liberados devido à ação proteolítica de enzimas bacterianas provenientes dos microrganismos que compõem a cultura lática. De acordo com os resultados observados o índice de proteólise demonstrou comportamento crescente, conforme pode ser observado na Figura 9 e na Tabela 6.

Nas temperaturas de filagem de 50° e 56°C , a variação crescente do índice de profundidade da proteólise dos queijos foi similar para os dois agentes coagulantes. Na temperatura de 64°C , observou-se um decréscimo geral acentuado no índice de profundidade da proteólise do 8º ao 28º dia de armazenagem refrigerada em relação às obtidas com o uso das temperaturas de 50° e 56°C , devido provavelmente à maior inativação dos agentes coagulantes nesta temperatura (Yun et al., 1993; Yun, Barbano e Kindstedt, 1993). Porém para o índice de proteólise o mais importante é o comportamento do fermento láctico detectado pela análise do teor de NS TCA 12%, na massa dos queijos, durante o período de armazenagem refrigerada.

De acordo com Furtado, (1997), quanto maior o índice de proteólise no queijo, menor será a quantidade de caseína intacta, o que levará a uma maior fragmentação da matriz protéica, aumentando a tendência de ocorrer excessiva liberação de óleo livre.

4.7 Propriedades funcionais do queijo Mussarela para pizza (*Pizza Cheese*)

Os dois tipos de agentes coagulantes e as temperaturas utilizadas para a filagem da massa (50°, 56° e 64°C) não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$) sobre as características funcionais de derretimento, *oiling off* e elasticidade do queijo. Também não foram significativas as interações: agentes coagulantes X temperaturas de filagem; agentes coagulantes X período de armazenagem; temperatura da água de filagem X período de armazenagem. A interação de todos os fatores não promoveu também modificações estatisticamente significativas ($p>0,05$), porém o armazenamento promoveu alterações estatisticamente significativas ($p<0,01$) nas características funcionais de *oiling off* e elasticidade do queijo. Para o derretimento, os dois tipos de agentes coagulantes promoveram alterações estatisticamente significativas ($p<0,05$) e o tempo de armazenagem promoveu alterações estatisticamente significativas ($p<0,01$) na característica funcional do derretimento no queijo.

Na Tabela 7, temos uma visão do comportamento dos queijos fabricados, quanto as suas propriedades funcionais adequadas, as quais são tão importantes para sua utilização na pizza.

TABELA 7 - Resultados médios* das propriedades funcionais dos queijos fabricados com os coalho bovino e o coagulante fúngico submetidos a três temperaturas de filagem e armazenados por 8, 18 e 28 dias a $9\pm 1^\circ\text{C}$.

ANÁLISES	AGENTE COAGULANTE	
	Coalho Bovino	Coagulante Fúngico
Derretimento	36,44 ^a	42,09 ^a
<i>Oiling off</i>	2,82 ^a	2,67 ^a
Elasticidade	38,89 ^a	43,17 ^a

* médias obtidas de 3 repetições

^{a,b} médias com o mesmo expoente, na mesma linha, não são significativamente diferentes ($p<0,05$)

4.7.1 Derretimento do queijo

Os dois tipos de agentes coagulantes e o tempo promoveram diferenças na característica funcional do derretimento no queijo, conforme podemos observar na Figura 10 abaixo.

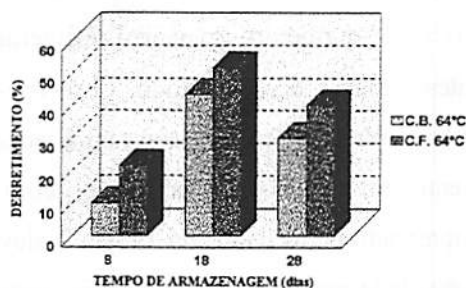
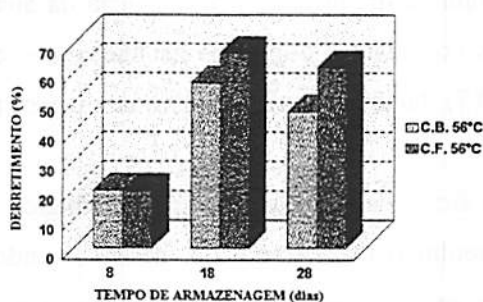
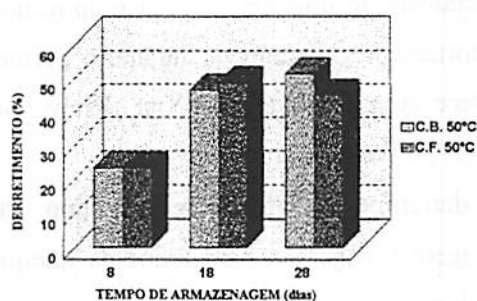


FIGURA 10 - Variações dos valores de derretimento dos queijos Mussarela fabricados com o coalho bovino (C.B.) e o coagulante fúngico (C.F.) submetidos a três temperaturas de filagem e armazenados por 8, 18 e 28 dias à $9 \pm 1^\circ\text{C}$.

O índice do derretimento do queijo Mussarela, durante o período de armazenagem, independente do tratamento térmico aplicado a massa do queijo, apresentou um comportamento quadrático, durante o período de armazenagem refrigerada que confere com os dados de Yun, Kiely, Barbano e Kindstedt (1993); Kindstedt (1997) e Wang et al. (1998).

O índice de derretimento sofreu um acréscimo, durante as primeiras semanas de armazenagem refrigerada para todos os queijos, independente do tratamento térmico aplicado à massa. Como causa deste comportamento temos a atividade proteolítica (Tabela 6), que enfraquece a matriz proteica, deixando o queijo com uma estrutura enfraquecida, consequência da atuação das proteases residuais dos agentes coagulantes utilizados na massa dos queijos (Lawrence, Creamer e Gilles, 1987) durante o período de armazenagem refrigerada (8 a 28 dias).

Os queijos fabricados com o coagulante fúngico apresentaram um desenvolvimento proteolítico mais acentuado, desenvolvendo as características de derretimento com maior intensidade e em menor período de tempo de armazenagem em relação aos queijos fabricados com o coalho bovino, comprovado por sua maior atividade proteolítica (Tabela 6) neste período. Esse índice foi superior até o $\pm 22^\circ$ dia de armazenagem refrigerada, quando ficaram com índices equivalentes. Apartir desse período, observou-se que os queijos fabricados com o coagulante fúngico demonstraram uma redução mais acentuada do índice de derretimento em relação aos fabricados com o coalho bovino, conforme pode ser demonstrado pelos dados da Tabela 7, devido principalmente à continuidade de sua atividade proteolítica que deveria continuar a desenvolver uma derretibilidade mais acentuada nestes queijos, porém como se pode observar na Figura 10, não ocorreram.

A explicação para esse comportamento pode ser fundamentada pelas observação feitas pelos autores Wang et al., (1998) de que as mudanças que

ocorrem com o índice de derretimento do queijo Mussarela são muito complexas, confirmando as observações anteriormente feitas pelos autores Olson e Price (1958) de que a derretibilidade durante o período de armazenagem refrigerada, pode permanecer constante ou apresentar um decréscimo, devido à ocorrência de artefatos antes e durante as mensurações.

O queijo com coalho bovino apresentou uma característica funcional de derretimento (Figura 10), mais lenta, conforme pode ser conferido pelos dados apresentados na Tabela 7, indicando a manutenção da característica de derretimento por um período maior para o uso na pizza, (Yun et al., 1993) demonstrado principalmente a partir do ± 22 dia de armazenagem (Figura 10).

São apontados também um conjunto de fatores que combinados com o tipo de agente coagulante, influenciam o índice de agente coagulante residual, retido nos queijos, importantes para o desenvolvimento da proteólise nos queijos, significativamente durante o período de armazenagem refrigerada, que refletem no desenvolvimento das características funcionais gerais do queijo Mussarela, quanto ao índice de derretimento (Creamer, 1976; Yun, Kiely, Barbano e Kindstedt, 1993; Kindstedt, 1997). Com isto é possível postular que a combinação do tipo de agente coagulante e sua quantidade, o tipo de cultura do fermento láctico, proteases do leite endógena (plasmina), pH e o tratamento térmico, aplicados durante a fabricação do queijo, possivelmente influenciaram a atividade proteolítica desses queijos, conforme os dados observados na Tabela 6, juntamente com o período de armazenagem refrigerada utilizada (Quarne, Larson e Olson, 1968; Oberg, 1991; Kindsted, Kiely e Gilmore, 1992; Kindstedt, 1997).

4.7.2 Índice de *Oiling off* (formação e liberação de óleo livre - separação de gordura)

O armazenamento refrigerado promoveu alterações significativas ($p < 0,01$) na característica funcional de *oiling off* (formação e liberação de óleo livre - separação de gordura) do queijo, dados que podem ser observados na Figura 11 abaixo.

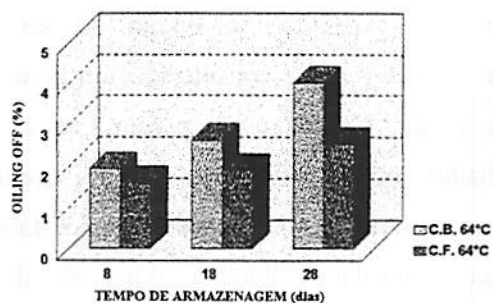
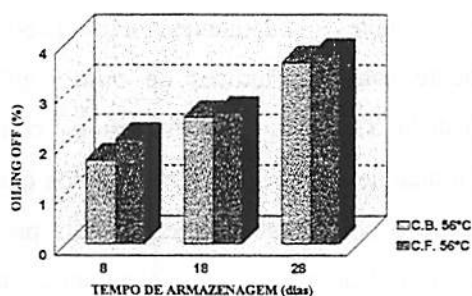
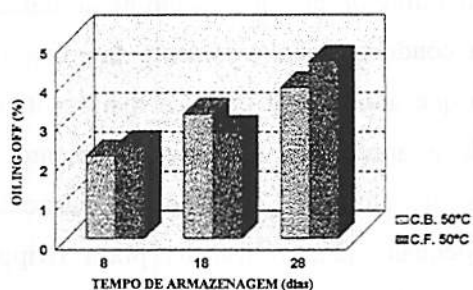


FIGURA 11 - Variações dos valores de oiling off dos queijos Mussarela fabricados com o coalho bovino (C.B.) e o coagulante fúngico (C.F.) submetidos a três temperaturas de filagem e armazenados por 8, 18 e 28 dias a $9 \pm 1^\circ\text{C}$.

Pelos resultados apresentados na Tabela 7, observamos um aumento significativo dos índice de *oiling off* dos queijos em geral, durante o período de armazenagem refrigerada, condizente com o aumento da proteólise (Tabela 6) na massa desses queijos, já que uma matriz protéica mais proteolizada, portanto mais enfraquecida, tende a apresentar um desenvolvimento satisfatório das características funcionais (derretimento, *oiling off* e elasticidade) do queijo Mussarela tornando-o adequado para o uso na pizza (Rippe e Kindstedt, 1989; Yun et al., Barbano, Kiely e Kindstedt, 1995; Yun, Barbano e Kindstedt, (1997); Rudan et al., 1998).

As enzimas dos agentes coagulantes não produziram efeitos significativos estatisticamente sobre os índices de *oiling off*, demonstrados através dos resultados (Tabela 8). Os queijos fabricados com o coagulante fúngico apresentaram um índice de *oiling off* superior ao dos queijos fabricados com o coalho bovino. Como o coagulante fúngico é mais proteolítico, causa maior índice de *oiling off*, que é acentuado com o aumento da proteólise na massa do queijo, proporcionado maior permeabilidade da matriz protéica mais enfraquecida (Tabela 6).

A liberação de óleo excessiva do queijo ao ser submetido ao aquecimento, alto índice de *oiling off*, é considerado um sério defeito para o queijo Mussarela para pizza. Constatou-se, porém, através das análises desenvolvidas neste trabalho, que essa diferença não foi prejudicial ao bom desempenho dos queijos. Os níveis de *oiling off* dos queijos fabricados com os dois agentes coagulantes se igualaram durante o período de armazenagem refrigerado em dois momentos ($\pm 10^\circ$ e no $\pm 22^\circ$ dia).

Para o coagulante fúngico, a partir do $\pm 22^\circ$ dia de armazenagem refrigerada, observou-se um decréscimo coerente com a redução do índice de derretimento observado nos queijos na Figura 10, ocasionandos provavelmente pela menor contração da rede protéica, resultando numa redução no índice de

oiling off, comportamento que supõe-se ser consequência direta da menor termoresistência da protease fúngica demonstrada ao tratamento térmico a 64°C em relação ao coalho bovino (Figura 11), neste trabalho.

Segundo Kindstedt (1997), o teor de gordura no extrato seco (GES), maior que 40%, aumenta abruptamente o teor de *oiling off* nos queijos.

O queijo fabricado com o coagulante fúngico, demonstrou maiores teores de gordura (26,11%), umidade (47,54%) e de NaCl (1,34%) em relação aos queijos com coalho bovino com teores de gordura (22,64%), umidade (46,27%) e de NaCl (1,42%), conforme média geral dos dados da tabela 3. Os resultados obtidos permitem comprovar que há uma relação muito importante entre a variação do teor de gordura, teor de umidade, teor de NaCl, a atividade proteolítica e a termoresistência inferior apresentada pelo coagulante fúngico a 64°C, para explicar o índice de *oiling off* apresentado na Tabela 7.

Os queijos fabricados com o coalho bovino, apresentaram teores de umidade inferior ao coagulante fúngico, porém maior teor de NaCl. Com a difusão dentro do bloco do queijo, durante o desenvolvimento da proteólise pelo coalho bovino residual, auxiliado pela importante relação (NaCl : umidade), que atuou como coadjuvante na emulsificação dos glóbulos de gordura ainda existentes na massa desses queijos (Creamer, 1985; Dubing et al., 1988; Yun, Barbano e Kindstedt, 1993). Segundo os autores, o teor de NaCl e a umidade dos queijo, além de atuar sobre a atividade proteolítica, age como agente emulsificante, provocando uma troca iônica entre o cálcio (presente no paracaseinato de cálcio) e o sódio, formando o paracaseinato de sódio, com maior poder emulsificante (Shimp, 1985), provocando maior retenção de gordura, quando o queijo é submetido ao aquecimento, já que a gordura emulsificada fica retida dentro da matriz protéica do queijo, ficando indisponível para o índice de *oiling off*.

Para o coagulante fúngico que apresentou maior teor de gordura e menor

termoresistência, a emulsificação demonstrou não ter sido suficiente para promover uma emulsificação mais eficiente até o 25º dia de armazenagem refrigerada. Neste período, os índices de *oiling off* foram iguais para os dois agentes coagulantes. A partir desse período o coalho bovino apresentou maior índice de *oiling off* (Figura 6). Esses dados conferem com os obtidos neste estudo e também pelos autores Rippe e Kindstedt (1989); Yun et al. (1993); Yun et al. (1995); Guo e Kindstedt (1995); Yun, Barbano e Kindstedt (1997); Rowney et al. (1998).

4.7.3 Elasticidade do queijo

O armazenamento refrigerado promoveu alterações significativas ($p < 0,01$) na característica funcional de elasticidade do queijo, conforme demonstrado na Figura 12. O queijo Mussarela tem caráter exclusivo de elasticidade, depois de estar estabilizado. A característica funcional de elasticidade demonstrou um comportamento quadrático.

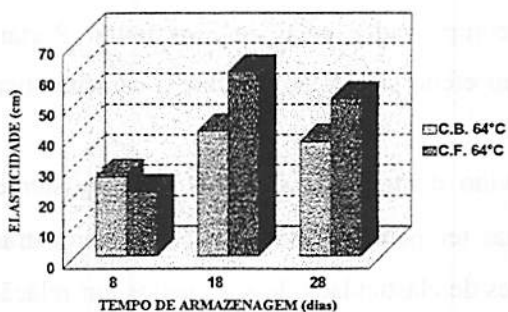
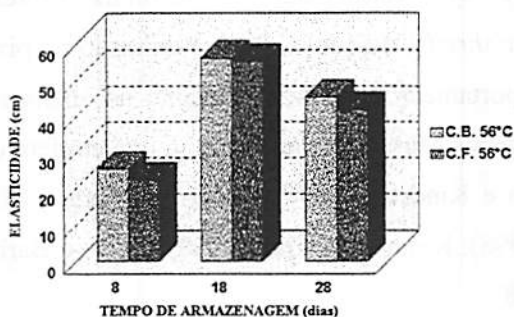
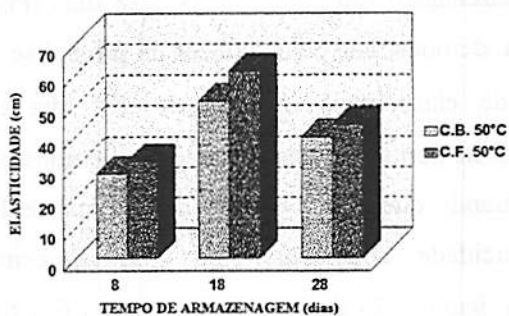


FIGURA 12 Variações na elasticidade dos queijos Mussarela fabricados com o coalho bovino (C. Bovino) e o coagulante fúngico (C. Fúngico) submetidos a três temperaturas de filagem e armazenados por 8, 18 e 28 dias a $9 \pm 1^\circ\text{C}$.

A elasticidade dos queijos Mussarela fabricados neste estudo, foi afetado pelo período de armazenagem refrigerado de 8 a 28 dias (Figura 8), devido à atividade proteolítica, demonstrada pelos índices da proteólise (Tabela 7), tendo atingido o índice de elasticidade máxima no 18º dia de armazenagem refrigerada. A partir deste período, o queijo começa a demonstrar um decréscimo (Figura 12), demonstrando que com a continuidade da proteólise, ocorre perda progressiva da elasticidade, condizente com o enfraquecimento da matriz protéica, derivada da degradação da caseína e de alterações profundas de seus componentes, com conseqüente alterações nas propriedades funcionais (derretimento, *oiling off*, elasticidade) e texturais (dureza, *springiness*, capacidade de formar *shreds*) do queijo para se utilizado na pizza, que estão de acordo com o comportamento observado durante as análises e consideradas adequadas para os queijos Mussarela para pizza, o que confere com os dados de Yun, Kiely, Barbano e Kindstedt, (1993); Merril, Oberg e McMahon (1994); Rudan e Barbano (1998); Kindstedt e Guo (1998) Rudan e Barbano (1998); Mc Mahon e Oberg (1998).

Os queijos Mussarela fabricados com o coalho bovino e o coagulante fúngico, apresentaram índices de elasticidade (Tabela 8) adequados para serem utilizados na pizza, comprovados pelas análises feitas. Portanto o tratamento térmico não promoveu efeito significativo sobre a característica de elasticidade desses queijos.

O coalho bovino demonstrou ser mais termoresistente em relação ao coagulante fúngico nas temperaturas de 50 e 56°C, demonstrado pela redução progressiva nos índices de elasticidade desses queijos em relação aos fabricados com o coagulante fúngico (Figura 12), promovida pela atividade proteolítica, confirmado pelo índice de maturação (Tabela 6).

Para os queijos fabricados com o coagulante fúngico, pode observar-se (Figura 12) que o índice de elasticidade apresentado foi superior ao dos

fabricados com o coalho bovino, que a partir do $\pm 18^\circ$ dia demonstrou um comportamento decrescente até o 28º dia de armazenagem (Tabela 7) principalmente nas temperaturas de 56 e 64°C (Figuras 12). Pode concluir-se que sua atividade proteolítica sofreu uma redução, devido a maior perda de agente coagulante residual, reduzindo a sua atividade de degradação das caseínas intactas e alterações produzidas na matriz protéica desses queijos. Porém seu comportamento para ser usado na pizza não foi alterado significativamente, dados condizentes com os observados sobre o índice de elasticidade, neste trabalho (Kindstedt, Duthie e Rippe, 1988; Yun et al., 1995; Rudan e Barbano, 1998; Mc Mahon e Oberg, 1998; Kindstedt e Guo, 1998; Broome e Limsowtin, 1998).

Segundo os autores Masi e Addeo (1986) o comportamento de queijos Mussarela com teores de umidade e de gordura mais elevados, apresentam maior decréscimo na elasticidade, dado que pode auxiliar a explicar o comportamento dos queijos fabricados com o coagulante fúngico, que apresentaram maiores índices de umidade e de gordura em relação aos queijos fabricados com o coalho bovino em geral, além da menor termoresistência, neste trabalho, o que justifica a observação de que os queijos fabricados com coagulante fúngico na temperatura de 50 e 64°C alcançaram maior índices de elasticidade em relação fabricados com coalho bovino (Figura 11). Porém, todos os queijos apresentaram índices de elasticidade adequados para o uso na pizza (USDA, 1980, Kiely et al, 1992; Kindstedt, 1997, Kindstedt e Guo, 1998).

4.7.4 Viscosidade aparente (viscometria helicoidal)

Os dois tipos de agentes coagulantes e as temperaturas utilizadas para a filagem da massa (50°, 56° e 64°C) não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) sobre a característica funcional de viscosidade aparente (viscometria

helicoidal) dos queijos Mussarela analisados. Também não foram significativas as interações: agentes coagulantes X temperaturas de filagem; agentes coagulantes X período de armazenagem; temperatura da água de filagem X período de armazenagem. A interação de todos os fatores não promoveu também modificações estatisticamente significativas ($p > 0,05$), ao contrário do armazenamento, que causou alterações estatisticamente significativas ($p < 0,01$) na característica funcional de viscosidade aparente (viscometria helicoidal) do queijo, conforme dados representados na Figura 13.

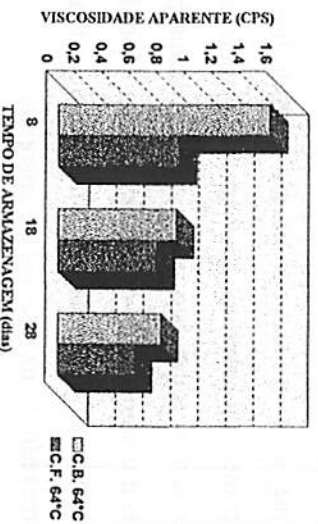
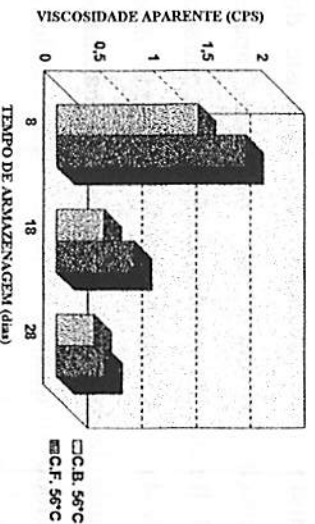
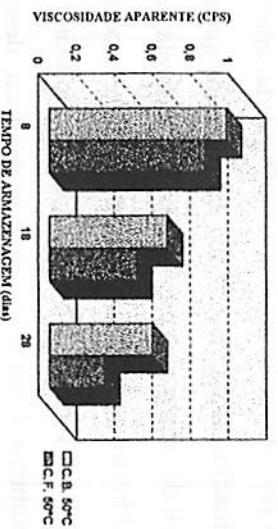


FIGURA 13 - Variações na viscosidade aparente (viscosimetria helicoidal) dos queijos Mussarela fabricados com o coalho (C.B.) e o coagulante fúngico (C.F.) submetidos a três temperaturas de flagem e armazenados por 8, 18 e 28 dias a $9 \pm 1^\circ\text{C}$.

Para todos os queijos Mussarela, fabricados com o coalho bovino e o coagulante fúngico, o período de armazenagem refrigerada, apresentou-se como a variável mais significativa para a viscosidade aparente dos queijos (Figura 13). No início do período de armazenagem, o queijo Mussarela apresentou uma consistência fundida fibrosa, provocando valores de alta viscosidade aparente, consequência da massa estar pouco proteolizada, exercendo maior tensão sobre o *spindle* T-E do viscosímetro. Com a atividade proteolítica, desenvolvida pelos dois agentes coagulantes residuais, durante o período de armazenagem (Tabela 6) o queijo ao ser fundido demonstra uma consistência mais gelatinosa e lisa, exercendo menor tensão de cisalhamento sobre a haste do viscosímetro, consequentemente redução no índice da viscosidade aparente, conforme mostrado na figura 13. Resultados semelhantes foram encontrados por Barbano, Yun e Kindstedt (1994); e Kindstedt (1997) utilizando diferentes agentes coagulantes, temperaturas de cozimento e tempos de armazenagem. A variação decrescente geral para todos os queijos fabricados, neste estudo, confere com os dados observados pelos autores Yun, Kiely, Kindstedt e Barbano (1993).

Assim, a viscosidade aparente do queijo decresce à medida que aumenta a sua fluibilidade, decorrente da atividade proteolítica (McMahon e Oberg, 1998). Presupõe-se que esse efeito seja devido à hidrólise das caseínas, enfraquecendo a rede protéica, permitindo também, maior permeabilidade entre a rede protéica e a fase soro/gordura. Isto provoca maior hidratação das micelas de caseínas hidrolisadas e o aumento da emulsificação dos glóbulos de gordura, resultando num queijo de consistência derretida mais mole e mais homogênea. consequentemente ocorre redução na viscosidade aparente.

O tratamento térmico utilizado não foi estatisticamente significativo, para os queijos fabricados. Porém observa-se que com o aumento da temperatura de filagem, a textura do queijo fundido ou derretido é mais dura, consequentemente a viscosidade aparente é maior. Segundo Yun et al. (1993) quanto maior a

temperatura, maior a redução na atividade proteolítica, decorrente da redução dos agentes coagulantes residuais na massa dos queijos.

Os índices mais baixos observados demonstram que a atividade proteolítica pode ser um dos fatores mais importantes no desenvolvimento das propriedades reológicas do queijo para ser utilizado em pizza. Isto demonstra que as diferenças no perfil de resistência da massa do queijo Mussarela tem relação com a capacidade de derretimento, *oiling off* e elasticidade do queijo Mussarela para pizza, são importantes para analisar a viscosidade aparente dos queijos, já que a textura do queijo fundido apresentou-se mais dura, causando maior resistência à deformação nas temperaturas mais elevadas no início do período de armazenagem independente do tratamento térmico e do agente coagulante. Tais resultados são confirmados também por Kindstedt (1988) e Kindstedt, Rippe e Duthie (1989) em seus trabalhos.

O queijo Mussarela para pizza (*Pizza Cheese*) não derrete até um estado fluido uniforme, porque as moléculas protéicas da massa do queijo interagem fortemente entre si. Essas interações são a base para as propriedades de esticamento e elasticidade que caracterizam a Mussarela para pizza e que pode ser observado pelo perfil apresentado pela viscosidade aparente, demonstrada na Figura 13.

5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitiram verificar que o derretimento e a elasticidade do queijo fabricado com o coagulante fúngico foram maiores, devido a a atividade proteolítica do agente coagulante residual sobre a rede proteica, demonstrada no índice de maturação desses queijos. Houve um aumento destas características até o 18º dia de armazenamento.

Com a continuidade da atividade proteolítica, houve um decréscimo, já que quando a massa do queijo ao ser muito proteolizada, tende a ter a sua característica de elasticidade prejudicada, consequência da fragilidade estrutural da rede proteica.

O decréscimo observado no índice de derretimento dos queijos fabricados com os dois tipos de agentes coagulantes, pode ser devido a ocorrência de artefatos antes e durante as mensurações, já que as mudanças que ocorreram com o índice de derretimento dos queijos Mussarela são muito complexas.

O tratamento térmico não teve efeito significativo no derretimento, mas em relação à elasticidade o índice foi maior para o queijo fabricado com o coagulante fúngico nas temperaturas de filagem de 50° e 64°C.

Quanto ao *oiling off*, observou-se um aumento geral, durante o período de armazenamento, demonstrando coerência com os dados de aumento da proteólise, sendo que quanto maior a temperatura aplicada na massa do queijo, menor o índice desta característica, influenciada pela maior perda de gordura durante a filagem.

O tipo de agente coagulante não apresentou efeito significativo no índice de *oiling off*.

Observou-se redução da viscosidade aparente com o aumento do período de armazenamento, tendo como causa o efeito da proteólise sobre a rede protéica da massa.

O aumento da temperatura de filagem diminuiu a viscosidade, decorrente do menor teor de GES e teor de umidade, detectou-se índices maiores para os queijos fabricados com o coagulante fúngico nas temperaturas de filagem de 50° e 64°C.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADDEO, F., COPPOLA, S. Aspetti tecnologici e microbiologici della trasformamazione de latte di bufala in Mozzarella e Ricotta. *Il Latte*, v.8, Milano, p.706-23. 1983.
- AK, M.M.; BOGENRIEF, D.;GUNASEKARAN, S. e OLSON, N.F. Rheological Evaluation of Mozzarella Cheese by Uniaxial Horizontal Extension. *Journal of Texture Studies*, v.24, p 437-453. 1993.
- AK, M.M.; GUNASEKARAN, S. Measuring Elongational Properties of Mozzarella Cheese. *Journal of Texture Studies*, v.26, n.2, p.147-160. 1995.
- ALAIS, C.A. *Science du Lait. Principes des techniques laitières*. 3^a.Ed.Paris: Separc, 1984. 814p.
- ALBONICO, E., Latte e formaggi bufalini. *Scienza Técnica Latiero Casearia.*, v.21., n.3, Parma, p.181-96. 1970.
- ALVAREZ, R. **Expectations of Italian cheese in the pizza industry**. Proc. Marschall Italian Cheese Seminar. Madison, WI. 1986.
- ALVES, R.M.V. **Estabilidade de Queijo Mozarela Fatiado em embalagem com Atmosfera Modificada**. Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 1995.(Tese de Mestrado).
- ANGELUCCI, E., MANTOVANI, D.M.B. **Minerais em Alimentos**. Apostila do curso. ITAL/SBCTA Campinas, 1986. 131 p.
- APOSTOLOPOULOS, C. Simple Empirical and Fundamental Methods to Determine objectively the Stretchability of Mozzarella Cheese. *Journal of Dairy Research*, v.61, n.1, p.405-413. 1994.
- APOSTOLOPOULOS, C.; BINES, V.E.; MARSHALL, R.J. Effect of post-cheddaring manufacturing parameters on the meltability and free oil of Mozzarella cheese. *Journal of the Society of Dairy Tecnology*, v. 47, n.3, p.84-87, August/ 1994.

- ARNOTT, D.R.; MORRIS, H.A.; COMBS, W.A. Effect of Certain Chemical Factors on the Melting Quality of Process Cheese. **Journal Dairy Science**, v.40, n.7/12, p.957-963. 1957.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**, 12. Ed. Washington, 1995. 1094p.
- BARBANO, D.H.; YUN, J.J.; KINDSTEDT, P.S. Mozzarella Cheese Making by a Stirred Curd, No brine Procedure. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.9, p.2687-2694. 1994.
- BARBANO, D.H.; RASMUSSEN, R.R. Cheese yield performance of fermentation-produced chymosin and other milk coagulants. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.75, n.1, p.1-12, Jan/1992.
- BATTISTOTTI, B.; BOTTAZZI, V.; GONZAGA, E.; CHIUUSA, E. Fermentazione lattica e demineralizzazione della pasta per provolone. **Scienza Tecnica Lattiero Casearia**. v.37, n.2, Parma, p.117-23. 1986.
- BIRKKAER, H.; JOHNK, P. Technological suitability of calf rennet substitutes. Page 8. In: **Dairy Fed. Bull.** n. 194. Int. Dairy Fed., Brussels, Belgium. 1985.
- BONASSI, I.A.; GOLDONI, J.S.; GOMES, M.C.G. Influência das Bactérias Lácticas Mesófilas: *Streptococcus cremoris*, *Streptococcus lactis*, *Streptococcus diacetylactis* e *Leuconostoc citrovorum* nas características do queijo tipo Minas. Acidez titulável e pH. **Revista do Laticínios Cândido Tostes**, Março-Abril/1981.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal-RIISPOA**. Brasília, 1980. 116p.
- BRASIL. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes**. II. Métodos físicos e químicos. Brasília, 1981a.
- BRASIL. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes**. I. Métodos microbiológicos. Brasília, 1981b.

- BREENE, W.M., PRINCE, W.V., ERNSTROM, C.A. Changes in composition of Cheddar cheese during manufacture as a guide to cheese making by direct acidification. *Journal of Dairy Science*, v.47, n.8, p.840-848, Champaign, 1964a.
- BREENE, W.M., PRINCE, W.V., ERNSTROM, C.A. Manufacture of Pizza Cheese without starter. *Journal of Dairy Science*, v.47, n.11, p.1173-1179, Champaign, 1964b.
- BROOME, M.C.; HICHEY, M.W. Comparison of fermentation produced chymosin and calf rennet in cheddar cheese. *Australian Journal of Dairy Technology*, Highett, p.53-59, Nov./1990.
- BREENE, W.M., PRINCE, W.V., ERNSTROM, C.A. Changes in composition of Cheddar cheese during manufacture as a guide to cheese making by direct acidification. *Journal of Dairy Science*. v.47, n.8, Champaign, 1964.
- BROOME, M. C., LIMSOWTIN, G.K.Y. Starter peptidase activity in maturing cheese. *The Australian Journal of Dairy Technology*. v.53 p.79-82, June/1998.
- BUDTZ, P. Microbial rennets for cheesemaking. *Dairy Ind. Int.*, v.54, n.5, p.15-19. 1989.
- CAMPANELLA, O. H.; POPPLEWELL, L. M.; ROSENAU, J.R.; PELEG, M. Elongational viscosity measurements of melting American process cheese. *Journal Food Science*, v.52, n.5, p.1249-1251. 1987.
- CASERIO, G., SENESI, E., FORLONI, M., EMALDI, G. Condizioni igieniche delle Mozzarele in rapporto alla tecnologia di produzione. *Industria del latte*, v.13, n.2, p.19-39. Lodi, 1977.
- CAMPOS, S. D. S.; GONÇALVES, J. R.; MORI, E. E. M.; GASPARETTO, C. *Reologia e textura de alimentos*. Campinas: ITAL, 1989. 84 p.
- CHEN, A. H.; LARKIN, J. W.; CLARK, C. J.; IRWIN, W. E. Textural analysis of cheese. *Journal Dairy Science*, v.62, n.6, p.901-907. 1979.
- CERVANTES, M. A., LUND, D. B., OLSON, N. F. Effects of salt concentration and freezing on Mozzarella cheese texture. *Journal Dairy Science*, v.66, n.2, p.204-213. 1983.

- CODE OF FEDERAL REGULATIONS. **Food and Drugs**. Title 21. US Dep. Health Human Serv., Washington, DC.
- COPOLA, S., PARENTE, E., DUMOTET, S., COPPOLA, R. La fabrication delle Mozzarella di bufala: attività fermentative durante la maturazione della cagliata. **Annale di Microbiologia**, v.35, p.211-220. Milano, 1983.
- CORRADINI, C.; BOTTAZZI, V.; REMINI, P.; HOGENBOON, J.A.; PAZZAGLIA, C.; LODI, R.; CARINI, S.; RAMPILLI, M. Formaggio grana com chimosina do *Kluyveromyces lactis* (Maxiren). **Il Latte**, v.15, p.860-865, Ott./1990.
- CREAMER, L. K. Casein proteolysis in Mozzarella type cheese. **N.Z. Journal Dairy Science Technology**, v.11, p.130-131. 1976.
- CREAMER, L. K. Water absorption by renneted casein micelles. **Milchwissenschaft**, v.40, p.589. 1985.
- CREAMER, L. K.; OLSON, N. F. Rheological evaluation of maturing Cheddar cheese. **Journal Food Science**, v.47, n.2, p. 631-636, 646. 1982.
- CREAMER, L. K.; ZOERB, H.F.; OLSON, N.F.; RICHARDSON, T. Surface hydrophobicity of α_{s1} -I casein, α_{s1} -casein A and B and its implications in cheese structure. **Journal Dairy Science**, v. 65, p.902. 1982.
- CRISTENSEN, V. W. Manufacturing methods for high and low moisture Mozzarella. **Am. Dairy Rev.** v.28, n.9, p.38 e 92-96. 1966.
- DATAMARK CONSULTORES. **Brasil Pack'94**. A indústria brasileira de embalagens incorporando o mercado brasileiro de produtos ao consumidor. Parte II - Os mercados de uso final, 9^o ed., Datamark, São Paulo, p.71-221. 1994.
- DAVIDE, C.L.; SARMAGO, I.G.; ROCAFORT, R.F. Development of Natural Part Skim Mozzarella-Type Cheese for the Pizza Industry. **The Philippine Agriculturist**. v.76, n.1 p.21-34, Jan./Mar. 1993.
- DE JONG, L. Protein breakdown in soft cheese and its relation to consistency. 1- Proteolysis and consistency of "Noordhollandse Meshanger" cheese. **Netherlands and Milk Dairy Journal**, v.30, n.3/4, p.242-253. 1976.

- DE JONG, L. The influence of the moisture content on the consistency and protein breakdown of cheese. *Netherlands and Milk Dairy Journal*, n.32, p.1-14. 1978.
- DESMAZEAUD, M.J.; GRIPON, J.C. General mechanism of protein breakdown during cheese ripening. *Milchwissenschaft*, Cork, v.32, n.12, p.731-734. 1977.
- DI MATTEO, M.G.; CHIOVITTI, M.G.; ADDEO, F. Variation in the composition of Mozzarella cheese during storage. *Sci. Tecn. Latt. Cas.*, v.33, p.197. 1982.
- DIANDA, M. A. Argentinian Mozzarella-physico-chemical characteristics. *Dairy Science Abstract*, v.45, p.1264. 1982.
- DINAKAR, P.; MATHUR, M.P.; DATTA, R.D. Differences in proteolytic behavior in Cheddar cheese prepared with calf rennet and vegetable rennet. *Indian Journal of Dairy Science*. v.42, n.4, p. 729-796. 1989.
- DUBING, S. T.; WIEGAND, J. A.; BRUDVIG, S. A.; HUANG, E. A.; CHANDAN, R. C. Effect of processing variables on the formation of calcium lactate crystals on Cheddar cheese. *Journal Dairy Science*, v.71, p.1701. 1988.
- EINO, M.F.; BIGGS, D.A.; IRVINE, D.M.; STANLEY, D.W. A comparison of microstructure of Cheddar cheese curd manufactured with calf rennet, bovine pepsine, and porcine pepsine. *Journal Dairy Research*, v.48, p.113-115. 1976.
- EMMONS, D.B.; ERNSTROM, C.A.; LACROIX, C.; VERRET, P. Predictive fórmulas for yield of cheese for composition of milk: a reviw. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.73, n.6, p.1365-1394, June/1990.
- FARKEY, N.Y.; FOX, P.F. Objective index of cheese ripening. *Trends in Food Science e Techonology*, London; v.2, n.3 p 37-40, Mar./1990.
- FARKYE, N.Y.; KIELY, L.J.; ALLSHOUSE, R.D.; KINDSTEDT, P.S. Proteolysis in Mozzarella cheese during refrigerated storage. *Journal Dairy Science*, v.74, n.5, p.1433-1438. 1991.
- FIFE, R.L., McMAHON, D.J., OBERG, C. Functionality of Low Fat Mozzarella Cheese. *Journal Dairy Science*, v.79, n.11, p.1903-1910. 1996.

[REDACTED]

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

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

FOX, P.F. Rennets and their action in cheese manufacture and ripening:review. **Biothecnology and Applied Biochemistry**, v.10, p.522-535, July/1988.

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

FOX, P.F. **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology.** Elsevier Applied Science. London:, ed. P.F. Fox. AVI Publishing Co., vol. 1. 1987.

FOX, P.F. **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology.** Elsevier Applied Science. London., ed. P.F. Fox. London: AVI Publishing Co., vol.2. p.33-61. Cap.2. 1987.

FOX, P.F.; ERNSTROM, C. A. Calcium in the low temperature acidification of skim milk and the formation of direct acid curd. **Journal of Dairy science**, v.52, n.6, p.885, Champaign, 1969.

FOX, P.F. e GUINEE, T.P. Italian Cheeses. In: **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology.** ed. P.F. Fox. London: AVI Publishing Co., 1987.

FOX, P.F., LAW, J. Enzimology of cheese ripening. **Food Biotecechnology**, v.5 n.3, p.239-262, Chicago, 1991.

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

FURTADO, M.M. **A Arte e a Ciência do Queijo.** São Paulo: Globo, 1991. 297 p.

FURTADO, M.M. Formação de sabor amargo em queijos. **Revista do Instituto de laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.39, n.234, p.13-9, Jul/Ago.1984.

FURTADO, M.M. **Isolamento de Bactérias Láticas de Leite Cru e Soro de Queijo de Leite Cru da Região do Serro, Minas Gerais.** Universidade Federal de Viçosa. Viçosa 1990. (Tese de Mestrado).

FURTADO, M.M. A Practical Approach to Some Cheese Tecnology parameters and their affect on fermentation, cheese texture and flavor In: **Congreso Internacional de Tecnologia em Produccion de Quesos.** Buenos Aires. 1996.

FURTADO, M.M. **Manual prático da Mussarela (Pizza Cheese).** Campinas, Master Graf Gráfica e Comércio Ltda, 1997. 70 p.

FURTADO, M.M. & LOURENÇO NETO, J.P.M. Queijo Tipo Mussarela. In: **Tecnologia de Queijos: Manual técnico para produção industrial de queijos.** São Paulo, Dipemar, p.81-84. 1994.

GANGOPADHYAY, S.K. e THAKAR, P.N. Milk Coagulant Retention in Mozzarella Cheese and Curd. **The Australian Journal of Dairy Technology,** Nov/1991.

GARNOT, Heat stability of milk-clotting enzymes. **Bulletin International of Dairy Federation.** n.194, p.2-5. 1985.

GARNOT, P.; MOLLE, D.; PIOT, M. Influence of pH, type of enzyme and ultrafiltration on the retention of milk clotting enzymes in camembert cheese. **Journal Dairy Research.** n.54, p.315-320. 1987.

GORRETA, L.J. Coalho e Coagulantes. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes,** Julho-Agosto/1980.

GUARNE, E.L.; LARSON, W.A.; OLSON, N.F. Effect of acidulants and milk-clotting enzymes on yeld, sensory quality, and proteolysis os pizza cheese made direct acidification. **Journal of Dairy Science.** v.51, n.2, p.848-852, Champaig, 1968.

GUINEE, T.P.; AUTY, M.A.E.; HARRINGTON, D.; CORCORAN, M.O.; MULLINS, C.; MULHOLLAND, E.O. Characteristics of different cheeses used in pizza pie. **The Australian Journal of Dairy Technology.** v.53, p.109. June/1998.

GUNASEKARAN, S.; KUO, M.I.; WANG, Y.C. Evaluating melt characteristics of mozzarella cheese by a linear viscoelastic test. **The Australian Journal of Dairy Technology.** v.53, June/1998.

- GHOSH, B. C.; SINGH, S.; KANAWYLA, S. K. Rheological properties of Mozzarella cheese: a review. *Indian Journal Dairy Science*. v.43, n.1, p.71-80. 1990.
- GIOMETTI, J. *As culturas lácticas selecionadas sobre a qualidade do queijo Minas curado*. Viçosa:UFV julho-1985. p. (Tese-Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos).
- GRAPPIN, R.; RANK, T.C.; OLSON, N.F. Primary proteolysis of cheese proteins during ripening: reviw. *Journal of Dairy Science*. Champaing, v.68, n.3, p.531-534, Mar./1985.
- GRANDISON, A.S. Causes of variation in milk composition and their effects on coagulation and cheese making. *Dairy Industries Int*. v.51, n.3, p.21-24. 1986.
- GUO, M.R.; KINDSTEDT, P.S. Age-Related Changes in the Water Phase of Mozzarella cheese. *Journal Dairy Science*. v.78, n.10, p.2099-2107. 1995.
- GUO, M.R.; KINDSTEDT, P.S.; METZGER, L.; BARBANO, D.M. Low-fat mozzarella cheese from pre-acidified milk. *The Australian Journal of Dairy Technology*, v.53, p.108. 1998.
- GRIPON, J.C.; DESMAZEAUD, J.; LE BARS, D.; BERGERE, J.L. Etude du rôle des micro-organismes et des enzymes are cours de la maturation des fromages. *Le Lait*, Paris, v.55, n.548, p.502-512, Sept./Oct. 1975.
- GUINEE, T.P.; FOX, P.F. Influence of cheese geometry on the movement of sodium chloride and water during ripening. *Journal Food Tecnology*, v.10, p. 97. 1986.
- GUERTS, T.J.; WALSTRA, P.; MULDER, H. Brine composition and the prevention of the defect "soft rind" in cheese. *Netherlands milk and Dairy Journal*. n.26, p.168. 1972.
- HARPER, W. J.; LEE, C. R. Residual coagulants in whey. *Journal Food Science*, n.40, p.282-284. 1975.
- HEKKEN, D.L.V.; STRANGE, E.D. Rheological Properties and Microstructure of Dephosphorylated whole Casein Rennet Gels. *Journal Dairy Science*. v.77, n.4, p.907-916. 1994.

- HOLMES, D.G.; DRUERSCH, J.W.; ERNSTON, C.A. Distribution of milk clotting enzymes between curd and whey and their survival during Cheddar cheese making. *Journal Dairy Science*. n.60, p.862-869. 1977.
- HONG, Y.H.; YUN, J.J.; BARBANO, D.M., LAROSE, K.L., KINDSTEDT, P.S. Mozzarella cheese: Impact of three commercial culture strains on composition, proteolysis and functional properties. *The Australian Journal of Dairy Technology*. v.53, p.163-169, October/1998.
- HSIEH, Y.L.; Y.L.; BARBANO, D.M. Rheological and Chemical Properties of Mozzarella Cheese. *Journal of Texture Studies*. v.25, p.411-420. 1994
- HSIEH, Y.L.; Y.L.; BARBANO, D.M.; KINDSTEDT, P. S. Draw pH storage affect rheological properties of Mozzarella cheese. *Journal of Food Science*. v.59, n.6, p.1302-1304. 1994.
- HUTKINS, R.; HALAMBECK, S.M.; MORRIS, H.A. Use of galactose-fermenting *Streptococcus thermophilus* in the manufacture of Swiss, Mozzarella, and short-method Cheddar cheese. *Journal Dairy Science*. n.69, p.1. 1986.
- INTRIERI, F.; ALTIERO, V.; CAVALIERI, A. Influenza della qualita del latte sulle produzioni della Mozzarella, con particolare riferimento all'impiego di latte scongelato. *Il Latte*. v.13, p.55-59, Miano, 1988.
- ISEPON, J.S.; OLIVEIRA, J.A. Variação do índice de proteólise e aceitabilidade do queijo tipo Minas Frescal. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 13, Juiz de Fora, 1995. *Anais*. Juiz de Fora: EPAMIG/ILCT, p.287-290. 1995.
- JENNESS, R. Composition of milk. In: JENNESS, R. *Fundamentals of dairy chemistry*. 3.ed. New York: Van Nostrand Reinhold, p.1-38. 1988.
- JOHNSON, M.E.; OLSON, N.F. Nonenzymatic Browning in Mozzarella Cheese. *Journal Dairy Science*. v.68, p.3143-3147. 1985.
- KAMMERLHNER, J. Rennet cheese yield. *Deutsche-Milchwirtschaft*. v.45, n.3, p.118-121. 1994.
- KANAWJIA, S.K.; SABIKHI, L; SINGH, S. Research Developments in Mozzarella Cheese Technology - A review. *Indian Journal Dairy Science*. v.45, n.10, p.497-510. 1992.

- KATZBAUER, B. Xanthan gum: an indispensable stabiliser for modern foods. **Food Tech Europe**, London, v.3, p.44-48, Dec. 1996/Jan. 1997.
- KEATING, P. F. Bases técnicas de la fabricación del queso. In: **Introducción a la Lactología**. Monterrey, México, Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores, Cap. 9. 1969.
- KELLER, B., OLSON, N.F. e RICHARDSON, T. Mineral Retention and Rheological Properties of Mozzarella Cheese Made by Direct Acidification. **Journal Dairy Science**, v.57, n° 2, p. 174-180. 1974.
- KIELY, L.J.; McCONNELL, S.L.; KINDSTEDT, P.S. Melting behavior of Mozzarella/non-Mozzarella Cheese Blends. **Cultured Dairy Products Journal**. v.27, n.2, p.24-29, May/1992.
- KIELY, L.J.; KINDSTEDT, P.S.; HENDRICKS, G.M.; LEVIS, J.E.; YUN, J.J.; BARBANO, D.M. Effect of draw pH on the development of curd structure during the manufacture of Mozzarella cheese. **Food Structure**. v.11, p.217-224. 1992.
- KIELY, L.J.; KINDSTEDT, P.S.; HENDRICKS, G.M.; LEVIS, J.E.; YUN, J.J.; BARBANO, D.M. Age Related changes in the microstructure of Mozzarella cheese. **Food Structure**. v.12, n.1, p.13-20. 1993.
- KINDSTEDT, P.S. Functional Properties of Mozzarella Cheese on Pizza: a review. **Cultured Dairy Products Journal**. v.26, n.3, p.27-31, August/1991.
- KINDSTEDT, P.S. Effects of manufacturing factors, composition, and proteolysis on the functional characteristics of Mozzarella cheese. **Critical Review Food Science Nutrition**. v.33, n.2, p.167-187. 1993.
- KINDSTEDT, P.S. Mozzarella and Pizza Cheese. In: **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology**. London: Elsevier Applied Science AVI Publishing Co., 2° ed. Vol 2 cap.12, p.337-362. 1994.
- KINDSTEDT, P.S. Factors affecting the functional characteristics of unmelted and melted Mozzarella Cheese. In: **Chemistry of Structure/Function Relationships in cheese**. ed. Plenum Publ. Corp. Nova York, p.7. 1995.
- KINDSTEDT, P.S. Seminário Internacional "Pizza Cheese". Chr.Hansen ILCT, Juiz de Fora. Set/1997.

- KINDSTEDT, P.S. DUTHIE, C. M.;RIPPE, J. K. Rheological and proteolytic changes in Mozzarella cheese during refrigerated storage. **Journal Dairy Science** (suppl. 1), p.71: 70. 1988.
- KINDSTEDT, P.S.; GUO, M.R. A physico-chemical approach to the structure and function of mozzarella cheese. **The Australian Journal of Dairy Technology**. v.53. p.70-73. June/1998.
- KINDSTEDT, P.S.; KIELY, L.J.; GILMORE, J.A. Variation in Composition and Functional Properties Within Brine Salted Mozzarella Cheese. **Journal of Dairy Science**. v.75, n.11, p.2913-2921. 1992.
- KINDSTEDT, P.S.; KIELY, L.J ; YUN, J.J.; BARBANO, D. M. **Relationship between Mozzarella manufacturing parameters, cheese composition, and functional properties: impact of coagulant**. Proc. Marschall Italian Cheese Seminar. Madison, WI, 1991.
- KINDSTEDT, P.S.; FOX, P.F. Modified Gerber Test for free oli melted Mozzarella cheese. **Journal of Food Science**. v.56, n.4, p 1115-1116. 1991.
- KINDSTEDT, P.S, RIPPE, J.K **A New Instrumental Method for Measuring Mozzarella Cheese Consistency**. In: Proc.25th Annu. Marschall Invt. Ital. Cheese Sem. WI., p.1-9. 1988.
- KINDSTEDT, P.S, RIPPE, J.K. Rapid Quantitative Test for Free Oil (Oiling Off) in Melted Mozzarella Cheese. **Journal of Dairy Science**. v.73, n.4, p. 867-873. 1990.
- KINDSTEDT, P.S, RIPPE, J.K.; DUTHIE, C.M. Measurement of Mozzarella Cheese Melting Properties by Helical Viscometry. **Journal of Dairy Science**. v.72, n.12, p.3117-3122. 1989a.
- KINDSTEDT, P.S, RIPPE, J.K.; DUTHIE, C.M. Application of Helicoidal Viscometry to Study Commercial Mozzarella Cheese Melting Properties. **Journal of Dairy Science**. v.72, n.12, p.3123-3128. 1989b.
- KOSIKOWSKI, F. **Cheese and fermented milk foods**. 2° ed. Ann Arbor, MI Edward Brothers, Inc , 1977. 711p.
- KOSIKOWSKI, F.V. **The Manufacture of Mozzarella Cheese from Pasteurized Milk**. p.641-648. 1978a.

- KOSIKOWSKI, F.V. Soft, Italian cheese. In **Cheese and fermented milk foods**. 2° ed. Ann Arbor, MI Edward Brothers, Inc., p. 179-203. 1978b.
- KOSIKOWSKI, F.V. **Cheese and fermented milks**. 3° ed. Edward Brothers, Inc., Michigan. 711 p.1982.
- LAWRENCE, R.C.; CREAMER, L.K.; GILLES, J. The formation of bitterness in cheese; a critical evaluation. **N. Z. J. Dairy Technol.**, v.4, p.189. 1969.
- LAWRENCE, R.C.; CREAMER, L.K. e GILLES, J. Symposium: Cheese Ripening Tecnology. Texture Development During Cheese Ripening. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v.72, p.1748-1760, Sept./ 1987.
- LAWRENCE, R.C.; GILLES, J. Factors that determine the pH of young Cheddar cheese. **N. Z. J. Dairy Technology**. v.17, p.1. 1982.
- LAWRENCE, R.C.; GILLES, J.; CREAMER, L.K. The relationship between cheese texture and flavour. **N. Z. J. Dairy Technology**. v. 18, p.175. 1983.
- LEAKE, A.S.; NILSON, K.M. Factors affecting salting and cooling of Mozzarella cheese (Abstr.). **Journal Dairy Science**. v.52, p.278. 1969.
- LEE, C.H.; IMOTO, E.M.; RHA, C. Evaluation of Cheese Texture. **Journal of Food Science**. v.43, n.5, p.1600-1605. 1978.
- LORTON, A. **Italian Cheeses**. *Pizza Today*, v.5, n.9, p. 6. 1987.
- LOURENÇO NETO, J.P.M.; NASCIMENTO JUNIOR, P.N.; FISCHER, R. Evolução de Alguns Parâmetros Físico-Químicos Durante a Conservação da Mussarela. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. Juiz de Fora, v.43, n.257-272, p.18-21, Jan./Dez. 1988.
- LUCEY, J.A. e FOX, P.F. Importance of Calcium and Phosphate in Cheese manufacture: A Review. **Journal Dairy Science**. n.76, p.1714-1724. 1993.
- LUYTEN, H. **The rheological and fracture properties of Gouda cheese**. Ph.D. Thesis, Agricultural University, Wageningen, The Netherlands. 1988.
- LUYTEN, H. VAN VLIET, T.; WALSTRA, P. Characterization of the consistency of Gouda cheese: rheological properties. **Netherlands Milk Dairy Journal**. n.45, p.33-53. 1991.

- MAN, E.J. Mozzarella cheese. **Dairy Industries International**. p.17-18, Sept./1992.
- MARTENS, R.;NANDTS, M. Different types of rennets. **Annual Bulletin Int. Dairy Fed.**, v.73, p.1. 1973.
- MASI, P.; ADDEO, F. An examination of some mechanical properties of a group of Italian cheeses and their relation to structure and conditions of manufacture. **Journal Food Eng.**, n.5, p.217-229. 1986.
- McMAHON, D.J.; OBERG, C.J.; McMANUS, W. Functionality of Mozzarella Cheese. **The Australian Journal of Dairy Technology**. v.48, p.99-106, Nov./1993.
- MATTA, J.E.; TYTUS, R. P. Liquid stretching using a falling cylinder. **JNNFM**. n.35, p.215-229. 1990.
- MATHESON, A. R. The immunochemical determination of chymosin activity in cheese. **N. Z. J. Dairy Science Tecnology**. n.16, p.33-41. 1981.
- MATTEO, M.D.; CHIOVITTI, G.; ADDEO, F. Variation in the composition of Mozzarella cheese during storage. **Dairy Science Abstract**. v.45, p.1269. 1982.
- MERRIL, R.K.; OBERG, C.J.; McMAHON, D.J. A Method for Manufacturing Reduced Fat Mozzarella Cheese. **Journal of Dairy Science**. v.77, n.7, p.1783-1789. 1994.
- NANDTS, M. Different types of rennets. **Int. Dairy Fed. Bull. Doc.**, v.7, p.43. 1969.
- NILSON, K. M. **Factors affecting meltability of Mozzarella cheeseevaluating criteria for Mozzarella cheese manufacturing utilizing membrane processing tecnology**. Proc. 11th Annu. Marschall Invit. Italian Cheese Seminar. Madison, WI. 1974.
- NILSON, K. M. Effects of salt concentration on the quality of Italian cheeses. **Dairy Science Abstr.**, v.31, p.2837. 1968.
- NILSON, K. M.; LaCLAIR, F. A. A national survey of quality of Mozzarella cheese. **Am. Dairy Rev.**, n.38, p.18 A. 1976.

- OBERG, C. J. **Factors affecting stretch, melt, and cook color in Mozzarella cheese.** Proc. Marschall Italian Cheese. Madison, WI. 1991.
- OBERG, C. J. MERRIL, R. K.; BROWN, R. J. , RICHARDSON, G. H. **Effects of milk clotting enzymes on physical properties of Mozzarella cheese.** *Journal Dairy Science.* v.75, n.3, p.669-657. 1992.
- OBERG, C. J. McMANUS, W. R.; McMAHON, D. J. **microstructure of Mozzarella cheese during manufacture.** *Food Structure.* v.12 p.251-258. 1993.
- OLIVEIRA. J.S. **Fabricação dos Principais Queijos.** In: **Queijo: Fundamentos Tecnológicos.** Campinas. Ícone Editora. p.128-136. 1986.
- OLIVEIRA, A. J.; CARUSO, J. G. B. **Leite: Obtenção e Qualidade do Produto Fluido e Derivados.** Piracicaba : FEALQ Bibliotca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz, v.2, p.47-51. 1996.
- O'KEEFE, A. M.; FOX, P. F.; DAILY, C. **Proteolysis in Cheddar cheese: role of coagulant and starter bacteria,** *Journal Dairy Research.* n.45, p.465. 1978.
- OLSON, N.F.; GUNASEKARAN, S.; BOGENRIEF, D.D. **Chemical and physical properties of cheese and their interactions.** *Netherlands Milk Dairy Journal.* v.50, p.279-294. 1996.
- PACIULLI, S.O.D. **Proteólise em Queijo Tipo Gorgonzola, Elaborado com Leite Pasteurizado pelos Sistemas HTST e Ejetor de Vapor.** Lavras:UFLA 1996. 76p. (Tese-Mestrado em Ciência dos Alimentos).
- PARK, J.; ROSENAU, J.R.; PELEG, M. **Comparison of Four Procedures of Cheese Meltability Evaluation.** *Journal of Food Science.* v.49, p.1158-1170. 1984.
- PAULSON, B.M.; McMAHON, D.J.; OBERG, C.J. **Influence of Sodium Choloride on Appearance, Functionality, and Protein Arrangements in Nonfat Mozzarella Cheese.** *Journal of Food Science.* v.81, n.8, p.2053-2064. 1998.
- PILCHER, S. W.: KINDSTEDT, P. S. **Survey of Mozzarella cheese quality at restaurant end use.** *Journal Dairy Science.* v.73, n.6, p.1644-1647. 1991.
- PRATO, S. **Italian Mozzarella.** *Dairy Ind.International.* v.58, n.4, p.26-29, April/1993.

- PRENTICE, J. H. **Dairy Rheology: A Concise Guide.** VCH Publishers Inc. New York, NY. 1992.
- RAMOS, M.; MARTINS-CASTRO, I. JUAREZ, M. Detection of Cow's Milk in Manchego Cheese. **Journal of Dairy Science.** v.60, n.6, p.870-877.
- REINBOLD, G. W. **Italian Cheese Varieties.** Chas. Pfizer & Co., Inc. New York, NY. 1963.
- RETEL, C.; SGUEDONI, A.; JULIANO, A.M.M. Coalhos e coagulantes. **Leite e Derivados.** São Paulo, v.2, n.7, p. 27-33. Nov./Dez. 1992.
- RICHARDSON, G. H. NELSON, J. H.; LUBNOW, R. E.; SCHWARBERG, R. L. Rennin-like enzyme from *Mucor pusillus* for cheese manufacture. **Journal Dairy Science.** n.50, p.1066-72. 1967.
- RIPPE, J.K., KINDSTEDT, P.S., DUTHIE, C.M. Preliminary evaluation of objective methods for measuring rheological properties of melted Mozzarella cheese. **Journal Dairy Science.** 71 (suppl. 1) : 69. (Abstr.). 1988.
- RIPPE, J.K., KINDSTEDT, P.S., DUTHIE, C.M. Free oil formation (oiling off) in commercial Mozzarella cheese. **Journal Dairy Science.** 72 (suppl. 1) : 133. (Abstr.). 1989.
- ROEFS, S.P.F.M.; WALSTRA, P.; DALGLEISHET, D.G.; HORNE, D.S. Preliminary note on the change in casein micelles caused by acidification. **Netherlands Milk & Dairy Journal.** v.39, p.119. 1985.
- ROSSI, D. A. **Utilização do Coalho Bovino e Coagulantes Microbiano e Genético na Elaboração do Queijo Minas Frescal.** Lavras:UFLA 1997. 68p. (Tese-Mestrado em Ciência dos Alimentos).
- ROWNEY, M.; ROUPAS, P.; HICKEY, M.; EVERETT, D.W. Mozzarella cheese: putting the pieces together. **The Australian Journal Dairy Technology.** v.53, p.191-192, October/1998.
- RUEGG, M.; EBERHARD, P.; POPPLEWELL, L., M.; PELEG, M. Melting properties of cheese. **IDF Bull.**, n.268, p.36-43. 1991.
- RUDAN, M.A.; BARBANO, D.M. A dynamic model for melting and browning of mozzarella cheese during pizza baking. **The Australian Journal of Dairy Technology.** v.53, p.95-97. 1998.

- RUDAN, M.A.; BARBANO, D.M.; GUO, M.R.; KINDSTEDT, P.S. Effect of the Modification of Fat Particle Size by Homogenization on Composition, Proteolysis, Functionality, and Appearance of Reduced Fat Mozzarella Cheese. *Journal Dairy Science*. v. 81, n.88, p.2065-2076. 1998.
- SANTORO, M.; FACCIA, M. Degradation of the protein in cheese fortified with whey proteins. *Netherlands Milk and Dairy Journal*. v.50, p.61-68, 1996.
- SANDOVAL, L. A.; PAULO, M. S. ZUPELARI, J. S. Use of a microbial rennet in cheese making. *Dairy Science Abstract*. n.32, p.2803. 1969.
- SAVAGE, A.A.; MULLAN, W.M.A. Quality Perceptions and Expectations of Mozzarella Cheese Producers and Pizza Manufacturers. *Milchwissenschaft*. v.51, n.12, p.677-679. 1996.
- SIGSGAARD, P. Defined cultures for pizza cheese. *Scandinavian Dairy Information*. v.8, n.3, p.36-38. 1994.
- SILVA, P.H.F. **Desenvolvimento de Metodologia Analítica para Determinação do Teor de Caseína em Leite e para Avaliação de Proteólise em Queijos**. Viçosa 1985. (Tese de Mestrado).
- SGHEDONI, A.; RETTI, C.; SOUZA, G.P. Fabricação de Mussarela. *Revista Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v.34, n.204, p.27-30. 1979.
- SHIMP, L.A. Process cheese principles. *Food Technology*. v.39, n.5, p.63. 1985.
- SMITH, C.E.; ROSENAU, J. R.; PELEG, M. Evaluation of the flowability of melted Mozzarella cheese by capillary rheometry, *Journal Food Science*. v.45, n.5, p.1142-1145. 1980.
- SINGH, H.; SHARMA, R.; TAYLOR, M.W.; CREAMER, L.K. Heat-induced aggregation and dissociation of protein and fat particles in recombined milk. *Netherlands Milk and Dairy Journal*. v.50, p.149-166. 1996.
- THAKER, P. N.; GANGOPADHYAY, S. K.; MIYANI, R. V. Influence of manufacturing parameters on rheology of Mozzarella cheese made from buffalo milk. *The Australian Journal Dairy Technology*. n.11, p.53-59. 1991.

- THUNNEL, R.K.; DUERSCH, J. W.; ERNSTROM, C. A. Thermal inactivation of residual milk clotting systems in whey. **Journal Dairy Science**. v.62, p.373-377. 1979.
- THOMAS, T. D., PEARCE, K. N. Influence of salt on lactose fermentation and proteolysis in Cheddar cheese. **New Zealand Journal Dairy Science e Technology**. v.16, p.253-259. 1981.
- TUCKEY, S.L. **The phenomena of curd stringiness and matting**. Proc. 11th Annu. Marschall Invit Italian Cheese Sem., Madison, WI. 1974.
- TUNICK, M.H.; MACKEY, K. L.; SMITH, P. W.; HOLSINGER, V. H. Effect of composition and storage on the texture of Mozzarella cheese. **Netherlands Milk and Dairy Journal**, n.45, p.117-125. 1991.
- TUNICK, M.H. Effects of Homogenization and Proteolysis on Free Oil in Mozzarella Cheese. **Journal Dairy Science**. v.77, p.2487-2493. 1994.
- TUNICK, M.H.; SHIEH, J.J. Rheology of reduced-fat Mozzarella cheese. In: **Chemistry of Structure-Function Relationships in cheese**. Plenum Press, Nova York. p.7. 1995
- TUNICK, M.H.; MALIN, E.L.; SMITH, P.W.; SHIEH, J. J.; SULLIVAN, B.C.; MACKEY, K.L.; HOLSINGER, V.H. Proteolysis and rheology of low fat and full fat Mozzarella cheese prepared from homogenized milk. **Journal Dairy Science**. v.76, p.3621-3628. 1993.
- UNITED STATES FOOD and ADMINISTRATION. 1989 Cheeses and related cheese products. Part 133, Title 21, Code. Fed.Reg.US Dep.Health Human Serv., Washington, DC.
- VALLE, J.L.E. **Influência de parâmetros físico-químicos na fermentação e filagem do queijo tipo Mozarela**. São Paulo, FCF/USP, 1991 88p. (Tese de Doutorado).
- VALLE, J.L.E.; LEITÃO, M.F.F. Utilização do ácido cítrico na fabricação do queijo mussarela. **Coletâneas do ITAL**. Campinas, v.25, n.2, p.143-151, Jul/Dez. 1995b.
- VALLE, J.L.E.; LEITÃO, M.F.F. Desmineralização, pH e acidez durante a fermentação/acidificação do queijo mozarela produzido pelas tecnologias tradicional e da acidificação direta. **Coletânea do ITAL**. Campinas, v. 25, p.35-45, Jan/Jun. 1995a.

- VALLE, J.L.E.; TAKAHASHI, S.; KEATING, P.F.; FIGUEIREDO, I.B. Modificação da Tecnologia Clássica do queijo tipo "Mozzarella", para melhorar e Padronizar a filagem. *Boletim do ITAL*. Campinas, v.16, n.1, p.65-70, Jan/Mar. 1979.
- VALLE, J.L.E. Aspectos Tecnológicos da Filagem do Queijo Mozarella Coletânea do ITAL. Campinas, 1996.
- VAKALERIS, D.G.; PRICE, W.V. A rapid spectrophotometric method for measuring cheese ripening. *Journal Food Science*. Champaign, v.42, n.2, p.264-276, Feb/ 1959.
- VAN DEN BERG, C.; KONING, P.J. Gouda cheesemaking with purified calf chymosin and microbially produced chymosin. *Netherlands Milk and Dairy Journal*. Wageningen, v.44, p.189-205. 1990.
- VIEIRA, S.D.A. A utilização de culturas lácticas na indústria de laticínios. *Revista do Laticínios Cândido Tostes*. Maio-Junho/1981.
- VISSER, F.M.W. Contribution of enzymes from rennet, starter bacteria and milk to proteolysis and flavour development in Gouda cheese. 4. Protein breakdown: a gel electrophoretical study. *Netherlands Milk and Dairy Journal*. v.31, p.247. 1977.
- VISSER, S. Proteolytic enzymes and their action on milk proteins: a review. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, Wageningen, v.35, p.65-88. 1981.
- VISSER, S. Factors affecting the rheological and fracture properties of hard and semi-hard cheese. *Int. Dairy Fed. Bull.*, v.268, p.49-61. 1991.
- VISSER, S. Proteolytic enzymes and their relation to cheese ripening and flavour: an overview. *Journal of Dairy Science*. Champaign, v.76, n.1, p.329-350. Jan./1993.
- VITAGLIANO, P. La legge 2 febbraio 1939 e l'odierna produzione di formaggio a pasta filata. *Rivista Società Italiana Scienza de Alimenti*. Roma, v.9, n.5, p.345-348. 1980.
- WANG, W., KINDSTEDT, P.S., GILMORE, J.A.; GUO, M.R. Changes in the Composition and Meltability of Mozzarella Cheese During Contact with Pizza Sauce. *Journal Dairy Science*. v. 81, n.3, p.609-614. 1998.

- WALSTRA, P. On the stability of casein micelles. *Journal of Dairy Science*, Champaigne, v.73, n.8, p.1965-1979, Aug./1990.
- WALSTRA, P.; VAN VLIET, T. Rheology of cheese. *Int. Dairy Fed. Bull.*, v.153, p.22-27. 1982.
- WECCKX, I. M.; DELBEKE, I.R. La fabrication des fromages Mozzarella et pizza. *Revue de Agriculture*. v.24, n.10, p.1327-1349, Brussels. 1971.
- WENDORFF, W.; JOHNSON, M. Care and Maintenance of salt brines. In: Proc.28 th Marschall Italian Cheese. Sem.Rhône-Poulenc, Madison, WI. 1991.
- WOLFSHOON-POMBO, A.F. Sobre a determinação da força do coalho. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*. Juiz de Fora, v.35, n.207-212, p.33-34, Março./Abril. 1980.
- WOLFSHOON-POMBO, A.; Índices de proteólise em alguns queijos brasileiros. *Boletim do Leite*. Rio de Janeiro, n.661, p.1-8. 1983.
- WOLFSCHOON-POMBO, A.F.; LIMA, A. Extensão e profundidade de proteólise no queijo Minas Frescal. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*. Juiz de Fora, v.44, n.261-266, p.50-54, Jan./Dez. 1989.
- YUN, J.J.; BARBANO, D.M.; KINDSTEDT, P.S. Mozzarella cheese: impact of milling pH chemical composition and proteolysis. *Journal Dairy Science*. v.76, p.3629. 1993a.
- YUN, J.J.; BARBANO, D.M.; KINDSTEDT, P.S. Mozzarella cheese: impact of coagulant type on chemical composition and proteolysis. *Journal Dairy Science*. v.76, p.3648. 1993b.
- YUN, J.J.; BARBANO, D.M.; KIELY, L.J.; KINDSTEDT, P.S. Mozzarella Cheese: Impact of Rod:Coccus Ratio on Composition, Proteolysis, and Functional Properties. *Journal Dairy Science*. v.78, n.4, p.751-760. 1995.
- YUN, J.J.; KIELY, L.J.; KINDSTEDT, P.S.; BARBANO, D.M. Mozzarella Cheese: Impact of Coagulant Type on Functional Properties. *Journal Dairy Science*. v. 76, n.12, p.3657-3663. 1993a.

YUN, J.J.; BARBANO, D.M.; KIELY, L.J.; KINDSTEDT, P.S; LAROSE, K.L. Mozzarella Cheese: Im pact of Whey pH at Draining on Chemical Composition, Proteolysis, and Functional Properties. **Journal Dairy Science**. v.78, n.1, p.1-7. 1995.

YUN, J.J.; HSIEH, Y.L.; BARBANO, D.M.; KINDSTEDT, P.S. Draw pH and Storage Affect Rheological Properties of Mozzarella Cheese. **Journal of Food Science**. v.59, n.6, p.1302-1304. 1994.

YUN, J.J.; HSIEH, Y.L.; BARBANO, D.M.; KINDSTEDT, P.S. Mozzarella Cheese: Impacto of Whey pH at Draining on Chemical Composition, Proteolysis, and Functional Properties. **Journal of Food Science**. v. 78, n.1, p.1-7, 1995.

YUN, J.J.; KIELY, L.J.; KINDSTEDT, P.S; BARBANO, D.M. Mozzarella Cheese: Impact of Milling pH on Functional Properties. **Journal of Dairy Science**. v.76, n.12, p.3639-3647.1993b.

YUN, J.J.; KIELY, L.J.; BARBANO, D.M.; KINDSTEDT, P.S; Mozzarella Cheese: Impact of Cooking Temperature on Chemical Composition, Proteolysis, and Functional Properties. **Journal of Dairy Science**. v.76, n.12, p. 3664-3673. 1993.

YUN, J.J.; KIELY, L.J.; KINDSTEDT, D.M.; ROHN, C.L. Rheological and Chemical Properties do Mozzarella Cheese. **Journal of Texture Studies**. v.25, p.411-420. 1994.

YUN, J.J.; HSIEH, Y.L.; YUN, J.J; RAO, M.A. Rheological Properties of Mozzarella Cheese Filled with Dairy, Egg, Soy Proteins and Gelatin. **Journal of Food Science**. v.58, n.5, p.1001-1004. 1993.

ZHANG, B.; GUO, M.R.; KINDSTEDT, P.S. Age-related changes in the water phase of Mozzarella cheese. 1. Evaluation of moisture expelled by pressing. **Journal Dairy Science**, v. 77 (suppl. 1): 41. (abstr.). 1994.

ANEXOS

TABELAS		Página
TABELA 1A	Análise de variância de umidade (%) em queijos Mussarela para pizza (<i>Pizza Cheese</i>) fabricados com coalho bovino e coagulante fúngico submetidos à temperatura de filagem de 50°, 56° e 64°C estocados por 4 à 9±1°C.....	117
TABELA 2A	Análise de variância de gordura (%) em queijos Mussarela para pizza (<i>Pizza Cheese</i>) fabricados com coalho bovino e coagulante fúngico submetidos à temperatura de filagem de 50°, 56° e 64°C estocados por 4 à 9±1°C.....	117
TABELA 3A	Análise de variância de cloreto de sódio (NaCl) em queijos Mussarela para pizza (<i>Pizza Cheese</i>) fabricados com coalho bovino e coagulante fúngico submetidos à temperatura de filagem de 50°, 56° e 64°C estocados por 4 à 9±1°C.....	118
TABELA 4A	Análise de variância de extrato seco desengordurado (ESD) em queijos Mussarela para pizza (<i>Pizza Cheese</i>) fabricados com coalho bovino e coagulante fúngico submetidos à temperatura de filagem de 50°, 56° e 64°C estocados por 4 à 9±1°C.....	118
TABELA 5A	Análise de variância de gordura no extrato seco (GES) em queijos Mussarela para pizza (<i>Pizza Cheese</i>) fabricados com coalho bovino e coagulante fúngico submetidos à temperatura de filagem de 50°, 56° e 64°C estocados por 4 à 9±1°C.....	119

TABELA 6A	Análise de variância de acidez em queijos Mussarela para pizza (<i>Pizza Cheese</i>) fabricados com coalho bovino e coagulante fúngico submetidos à temperatura de filagem de 50°, 56° e 64°C estocados por 8, 18 e 28 dias à 9±1°C.....	120
TABELA 7A	Análise de variância de pH em queijos Mussarela para pizza (<i>Pizza Cheese</i>) fabricados com coalho bovino e coagulante fúngico submetidos à temperatura de filagem de 50°, 56° e 64°C estocados por 8, 18 e 28 dias à 9±1°C.....	121
TABELA 8A	Análise de variância de nitrogênio total (%) em queijo Mussarela para pizza (<i>Pizza Cheese</i>) fabricados com coalho bovino e coagulante fúngico submetidos à temperatura de filagem de 50°, 56° e 64°C estocados por 8, 18 e 28 dias à 9±1°C.....	122
TABELA 9A	Análise de variância de nitrogênio solúvel em pH 4,6 (NS) no queijo Mussarela para pizza (<i>Pizza Cheese</i>) fabricados com coalho bovino e coagulante fúngico submetidos à temperatura de filagem de 50°, 56° e 64°C estocados por 8, 18 e 28 dias à 9±1°C.....	123
TABELA 10A	Análise de variância de nitrogênio não protéico em TCA 12% (NNP) no queijo Mussarela para pizza (<i>Pizza Cheese</i>) fabricados com coalho bovino e coagulante fúngico submetidos à temperatura de filagem de 50°, 56° e 64°C estocados por 8, 18 e 28 dias à 9±1°C.....	124
TABELA 11A	Análise de variância da relação (NS/NT) no queijo Mussarela para pizza (<i>Pizza Cheese</i>) fabricados com coalho bovino e coagulante fúngico submetidos à temperatura de filagem de 50°, 56° e 64°C estocados por 8, 18 e 28 dias à 9±1°C.....	125

TABELA 12A	Análise de variância da relação (NNP/NT) no queijo Mussarela para pizza (<i>Pizza Cheese</i>) fabricados com coalho bovino e coagulante fúngico submetidos à temperatura de filagem de 50°, 56° e 64°C estocados por 8, 18 e 28 dias à 9±1°C.....	126
TABELA 13A	Análise de variância de derretimento em queijo Mussarela para pizza (<i>Pizza Cheese</i>) fabricados com coalho bovino e coagulante fúngico submetidos à temperatura de filagem de 50°, 56° e 64°C estocados por 8, 18 e 28 dias à 9±1°C.....	127
TABELA 14A	Análise de variância de <i>oiling off</i> em queijos Mussarela para pizza (<i>Pizza Cheese</i>) fabricados com coalho bovino e coagulante fúngico submetidos à temperatura de filagem de 50°, 56° e 64°C estocados por 8, 18 e 28 dias à 9±1°C.....	128
TABELA 15A	Análise de variância de elasticidade em queijos Mussarela para pizza (<i>Pizza Cheese</i>) fabricados com coalho bovino e coagulante fúngico submetidos à temperatura de filagem de 50°, 56° e 64°C estocados por 8, 18 e 28 dias à 9±1°C.....	129

TABELA 1A Análise de variância de umidade (%) em queijos Mussarela para pizza (*Pizza Cheese*) fabricados com coalho bovino e coagulante fúngico submetidos à temperatura de filagem de 50°, 56° e 64°C estocados por 4 a 9±1°C.

FONTES DE VARIAÇÃO		GRAUS DE LIBERDADE		QUADRADOS MÉDIOS	
Tipo de Coalho (TC)	1	2,58402 ^{ns}			
Temperatura de Filagem (TF)	2	5,55457 ^{ns}			
TC x TF	2	1,40707 ^{ns}			
RESIDUO	12	1,30563			

NS - Não significativo ao nível de 1 e 5% de probabilidade

TABELA 2A Análise de variância de gordura (%) em queijos Mussarela para pizza (*Pizza Cheese*) fabricados com coalho bovino e coagulante fúngico submetidos à temperatura de filagem de 50°, 56° e 64°C estocados por 4 a 9±1°C.

FONTES DE VARIAÇÃO		GRAUS DE LIBERDADE		QUADRADOS MÉDIOS	
Tipo de Coalho (TC)	1	4,50000 ^{ns}			
Temperatura de Filagem (TF)	2	14,38889 ^{ns}			
TC x TF	2	15,16667 ^{ns}			
RESIDUO	12	13,87500			

NS - Não significativo ao nível de 1 e 5% de probabilidade

TABELA 3A Análise de variância de cloreto de sódio (NaCl) em queijos Mussarela para pizza (*Pizza Cheese*) fabricados com coalho bovino e coagulante fúngico submetidos à temperatura de 50°, 56° e 64°C estocados por 4 à 941°C.

FONTES DE VARIAÇÃO		GRAUS DE LIBERDADE		QUADRADOS MÉDIOS	
Tipo de Coalho (TC)		1	0,05014 ^{ns}		
Temperatura de Filagem (TF)		2	0,16287 ^{ns}		
TC x TF		2	0,07294 ^{ns}		
RESÍDUO		12	0,04898		

NS - Não significativo ao nível de 1 e 5% de probabilidade

TABELA 4A Análise de variância de extrato seco desengordurado (ESD) em queijos Mussarela para pizza (*Pizza Cheese*) fabricados com coalho bovino e coagulante fúngico submetidos à temperatura de 50°, 56° e 64°C estocados por 4 à 941°C.

FONTES DE VARIAÇÃO		GRAUS DE LIBERDADE		QUADRADOS MÉDIOS	
Tipo de Coalho (TC)		1	32,25161 ^{ns}		
Temperatura de Filagem (TF)		2	195,45591*		
TC x TF		2	103,33104 ^{ns}		
RESÍDUO		12	41,49713		

NS - Não significativo ao nível de 1 e 5% de probabilidade

* - Significativo ao nível de 5% de probabilidade (P<0,05)

TABELA 5A Análise de variância de gordura no extrato seco (GES) em queijos Mussarela para pizza (*Pizza Cheese*) fabricados com coalho bovino e coagulante fúngico submetidos à temperatura de filagem de 50°, 56° e 64°C estocados por 4 à 9±1°C.

FONTES DE VARIAÇÃO	GRAUS DE LIBERDADE	QUADRADOS MÉDIOS
Tipo de Coalho (TC)	1	22,69134 ^{ns}
Temperatura de Filagem (TF)	2	63,04007 ^{ns}
TC x TF	2	37,83796 ^{ns}
RESIDUO	12	72,64616

NS - Não significativo ao nível de 1 e 5% de probabilidade

TABELA 6A Análise de variância de acidez em queijos Mussarela para pizza (*Pizza Cheese*) fabricados com coalho bovino e coagulante fungico submetidos à temperatura de filagem de 50°, 56° e 64°C estocados por 8, 18 e 28 dias à 9±1°C.

FONTES DE VARIAÇÃO	GRAUS DE LIBERDADE	QUADRADOS MÉDIOS
Tipo de Coalho (TC)	1	0,0434 ^{ns}
Temperatura de Filagem (TF)	2	0,00183 ^{ns}
TC x TF	2	0,00067 ^{ns}
RESÍDUO 1	12	0,0951
Tempo de Armazenagem (TA)	2	0,23288**
TC x TA	4	0,00534 ^{ns}
TF x TA	4	0,01317 ^{ns}
TC x TF x TA	4	0,00555 ^{ns}
RESÍDUO 2	24	0,01295

NS - Não significativo ao nível de 1 e 5% de probabilidade
 ** - Significativo ao nível de 1% de probabilidade (P<0,01)

TABELA 7A Análise de variância de pH em queijos Mussarela para pizza (*Pizza Cheese*) fabricados com coalho bovino e coagulante fungico submetidos à temperatura de filagem de 50°, 56° e 64°C estocados por 8, 18 e 28 dias à 9±1°C.

FONTES DE VARIAÇÃO		GRAUS DE LIBERDADE		QUADRADOS MÉDIOS	
Tipo de Coalho (TC)		1	0,08720 ^{ns}		
Temperatura de Filagem (TF)		2	0,03012 ^{ns}		
TC x TF		2	0,02101 ^{ns}		
RESÍDUO 1		2	0,5861		
Tempo de armazenamento (TA)		12	0,28352*		
TC x TA		2	0,06305 ^{ns}		
TF x TA		2	0,06864 ^{ns}		
TC x TF x TA		4	0,2237 ^{ns}		
RESÍDUO 2		24	0,14290		

NS - Não significativo ao nível de 1 e 5% de probabilidade
* - Significativo ao nível de 5% de probabilidade (P<0,05)

TABELA 8A Análise de variância de nitrogênio total (%) em queijo Mussarela para pizza (*Pizza Cheese*) fabricados com coelho bovino e coagulante fungico submetidos à temperatura de filagem de 50°, 56° e 64°C estocados por 8, 18 e 28 dias à 9±1°C.

FONTES DE VARIAÇÃO	GRAUS DE LIBERDADE	QUADRADOS MEDIOS
Tipo de Coelho (TC)	1	-0,00036 ^{ns}
Temperatura de Filagem (TF)	2	0,34712 ^{ns}
TC x TF	2	0,01247 ^{ns}
RESIDUO 1	12	0,12256
Tempo de Armazenagem (TA)	2	0,48056*
TC x TA	2	0,00436 ^{ns}
TF x TA	4	-0,01540 ^{ns}
TC x TF x TA	4	0,00547 ^{ns}
RESIDUO 2	24	0,07646

NS - Não significativo ao nível de 1 e 5% de probabilidade
 * - Significativo ao nível de 5% de probabilidade (P<0,05)

TABELA 9A Análise de variância de nitrogênio solúvel em pH 4,6 (NS) no queijo Mussarela para pizza (*Pizza Cheese*) fabricados com coalho bovino e coagulante fungico submetidos à temperatura de filagem de 50°, 56° e 64°C estocados por 8, 18 e 28 dias à 9±1°C.

FONTES DE VARIAÇÃO	GRAUS DE LIBERDADE	QUADRADOS MEDIOS
Tipo de Coalho (TC)	1	0,00105 ^{ns}
Temperatura de Filagem (TF)	2	0,00146 ^{ns}
TC x TF	2	0,00060 ^{ns}
RESIDUO 1	12	0,00389
Tempo de Armazenagem (TA)	2	0,04555*
TC x TA	2	0,00073 ^{ns}
TF x TA	4	0,00196 ^{ns}
TC x TF x TA	4	0,00092 ^{ns}
RESIDUO 2	24	0,00292

NS - Não significativo ao nível de 1 e 5% de probabilidade

* - Significativo ao nível de 5% de probabilidade (P<0,05)

TABELA 10A Análise de variância de nitrogênio não protéico em TCA 12% (NNP) no queijo Mussarela para pizza (*Pizza Cheese*) fabricados com coalho bovino e coagulante fúngico submetidos à temperatura de filagem de 50°, 56° e 64°C estocados por 8, 18 e 28 dias à 9±1°C.

FONTES DE VARIAÇÃO	GRAUS DE LIBERDADE	QUADRADOS MEDIOS
Tipo de Coalho (TC)	1	0,00105 ^{ns}
Temperatura de Filagem (TF)	2	0,00146 ^{ns}
TC x TF	2	0,00060 ^{ns}
RESIDUO 1	12	0,00389
Tempo de Armazenagem (TA)	2	0,04555**
TC x TA	2	0,00073 ^{ns}
TF x TA	4	0,00196 ^{ns}
TC x TF x TA	4	0,00092 ^{ns}
RESIDUO 2	24	0,00292 ^{ns}

NS - Não significativo ao nível de 1 e 5% de probabilidade
 ** - Significativo ao nível de 1% de probabilidade (P<0,01)

TABELA 11A Análise de variância da relação (NS/NT) no queijo Mussarela para pizza (*Pizza Cheese*) fabricados com coalho bovino e coagulante fungico submetidos à temperatura de filagem de 50°, 56° e 64°C estocados por 8, 18 e 28 dias à 9±1°C.

FONTES DE VARIAÇÃO	GRAUS DE LIBERDADE	QUADRADOS MÉDIOS
Tipo de Coalho (TC)	1	0,33104 ^{ns}
Temperatura de Filagem (TF)	2	1,18935 ^{ns}
TC x TF	2	1,50197 ^{ns}
RESIDUO 1	12	0,88005
Tempo de Armazenagem (TA)	2	9,43966**
TC x TA	2	1,67576 ^{ns}
TF x TA	4	2,11609 ^{ns}
TC x TF x TA	4	0,82874 ^{ns}
RESIDUO 2	24	0,96510

NS - Não significativo ao nível de 1 e 5% de probabilidade
 ** - Significativo ao nível de 1% de probabilidade (P<0,01)

TABELA 12A Análise de variância da relação (NNP/NT) no queijo Mussarela para pizza (*Pizza Cheese*) fabricados com coelho bovino e coagulante fungico submetidos à temperatura de filagem de 50°, 56° e 64°C estocados por 8, 18 e 28 dias à 9±1°C.

FONTES DE VARIAÇÃO		GRAUS DE LIBERDADE	QUADRADOS MÉDIOS
Tipo de Coelho (TC)		1	0,00824 ^{ns}
Temperatura de Filagem (TF)		2	0,02854 ^{ns}
TC x TF		2	0,01970 ^{ns}
RESIDUO 1		12	0,03147
Tempo de Armazenagem (TA)		2	0,17992**
TC x TA		2	0,00742 ^{ns}
TF x TA		4	0,03494 ^{ns}
TC x TF x TA		4	0,01116 ^{ns}
RESIDUO 2		24	0,01081

NS - Não significativo ao nível de 1 e 5% de probabilidade
 ** - Significativo ao nível de 1% de probabilidade (P<0,01)

TABELA 13A Análise de variância de derretimento em queijo Mussarela para pizza (*Pizza Cheese*) fabricados com coalho bovino e coagulante fúngico submetidos à temperatura de filagem de 50°, 56° e 64°C estocados por 8, 18 e 28 dias à 9±1°C.

FONTES DE VARIAÇÃO	GRAUS DE LIBERDADE	QUADRADOS MÉDIOS
Tipo de Coalho (TC)	1	430,89725*
Temperatura de Filagem (TF)	2	381,40080 ^{NS} *
TC x TF	2	178,98516 ^{NS}
RESIDUO 1	12	173,88539
Tempo de Armazenagem (TA)	2	5177,55678**
TC x TA	2	114,43140 ^{NS}
TF x TA	4	245,30179 ^{NS}
TC x TF x TA	4	85,88887 ^{NS}
RESIDUO 2	24	212,59128

NS - Não significativo ao nível de 1 e 5% de probabilidade

** - Significativo ao nível de 1% de probabilidade (P<0,01)

* - Significativo ao nível de 5% de probabilidade (P<0,05)

TABELA 14A Análise de variância de *oilting off* em queijos Mussarela para pizza (*Pizza Cheese*) fabricados com coalho bovino e coagulante fungico submetidos à temperatura de filagem de 50°, 56° e 64°C estocados por 8, 18 e 28 dias à 9±1°C.

FONTES DE VARIAÇÃO		GRAUS DE LIBERDADE	QUADRADOS MÉDIOS
Tipo de Coalho (TC)		1	0,32047*
Temperatura de Filagem (TF)		2	1,73458 ^{ns}
TC x TF		2	1,50249**
RESIDUO 1		12	0,96667
Tempo de Armazenagem (TA)		2	12,58921**
TC x TA		2	0,01367 ^{ns}
TF x TA		4	0,51025 ^{ns}
TC x TF x TA		4	0,837554 ^{ns}
RESIDUO 2		24	1,44478 ^{NS}

NS - Não significativo ao nível de 1 e 5% de probabilidade

** - Significativo ao nível de 1% de probabilidade (P<0,01)

* - Significativo ao nível de 5% de probabilidade (P<0,05)

TABELA 15A Análise de variância de elasticidade em queijos Mussarela para pizza (*Pizza Cheese*) fabricados com coelho bovino e coagulante fungico submetidos à temperatura de filagem de 50°, 56° e 64°C estocados por 8, 18 e 28 dias à 9±1°C.

FONTES DE VARIAÇÃO		GRAUS DE LIBERDADE	QUADRADOS MÉDIOS
Tipo de Coelho (TC)		1	247,04167*
Temperatura de Filagem (TF)		2	55,66667 ^{ns}
TC x TF		2	10,63819 ^{ns}
RESÍDUO 1		12	456,70093
Tempo de Armazenagem (TA)		2	3425,68056**
TC x TF		2	260,84722 ^{ns}
TF x TA		2	73,57899 ^{ns}
TC x TF x TA		4	39,05156 ^{ns}
RESÍDUO 2		24	215,06534 ^{ns}

NS - Não significativo ao nível de 1 e 5% de probabilidade

** - Significativo ao nível de 1% de probabilidade (P<0,01)

* - Significativo ao nível de 5% de probabilidade (P<0,05)

