



**EFEITO DE DIFERENTES COAGULANTES E  
TEMPERATURAS DE FILAGEM SOBRE AS  
CARACTERÍSTICAS FUNCIONAIS DO  
QUEIJO MUSSARELA DE BÚFALA (*Bubalus  
bubalis*)**

**VALDOMIRO JARDIM DE OLIVEIRA**

**2005**

59130

050451

**VALDOMIRO JARDIM DE OLIVEIRA**

**EFEITO DE DIFERENTES COAGULANTES E TEMPERATURAS DE  
FILAGEM SOBRE AS CARACTERÍSTICAS FUNCIONAIS DO QUEIJO  
MUSSARELA DE BÚFALA (*Bubalus bubalis*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de "Mestre".

**Orientadora**

**Profa. Dra. Verônica Lobato**

**LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2005**

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

**Oliveira, Valdomiro Jardim**

Efeito de diferentes coagulantes e temperaturas de filagem sobre as características funcionais do queijo mussarela de búfala (*bubalus bubalis*) / Valdomiro Jardim Oliveira. – Lavras : UFLA, 2005.

95 p. : il.

**Orientadora: Verônica Lobato.  
Dissertação (Mestrado) – UFLA.  
Bibliografia.**

1. Queijo mussarela. 2. Leite de búfala. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD - 637.35

**VALDOMIRO JARDIM DE OLIVEIRA**

**EFEITO DE DIFERENTES COAGULANTES E TEMPERATURAS DE  
FILAGEM SOBRE AS CARACTERÍSTICAS FUNCIONAIS DO QUEIJO  
MUSSARELA DE BÚFALA (*Bubalus bubalis*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal  
de Lavras como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em  
Ciência dos Alimentos, para a obtenção do  
título de “Mestre”.

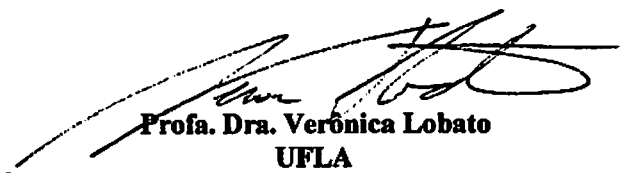
**APROVADA em 10 de Janeiro de 2005**

Profa. Dra. Maria de Fátima Piccolo Barcelos

UFLA

Prof. Dr. José Luís Contado

UNINCOR



**Profa. Dra. Verônica Lobato**

**UFLA**

**(Orientadora)**

**LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL**

**A Deus,**  
**Aos meus pais, Dom Jardim da Paixão, “in memorian” e Maria Rosa Oliveira.**  
**Às minhas irmãs, Nízia, Eliana e Eliene.**  
**Ao meu irmão, Getúlio.**  
**Ao meu tio, Flaviano Jardim Magalhães.**  
**Aos meus sobrinhos, Igor e Isadora.**

**OFEREÇO!!**

**A minha esposa Flávia de Floriani Pozza  
Rebello, pelo amor, apoio, paciência e força  
para seguir em frente**

**DEDICO!!**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela proteção e saúde.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA), pela oportunidade de realizar o mestrado.

A Professora Dra. Verônica Lobato, pela orientação.

À Professora Dra. Maria de Fátima Pícolo Barcelos, pela valiosíssima orientação na conclusão desta dissertação.

Ao Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA), nas pessoas do Dr. Altino Rodrigues Neto e Dr. Ivaldo Fernando Andrade Pereira, pela oportunidade para a realização do curso.

Aos professores e funcionários do Departamento de Ciência dos Alimentos, em especial ao Prof. Dr. Luiz Ronaldo de Abreu, pelo apoio e orientação na implantação e conclusão deste trabalho e à Profa. Dra. Joelma Pereira, pelo apoio na condução de parte das análises em seu laboratório de pesquisa.

Ao Professor Dr. José Luís Contado, pela amizade e ajuda na condução deste trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Laticínios do DCA, Alessandra, Beatriz, Carlos, Marcela e Alisson, pela amizade e ajuda na realização das análises. E aos colegas de curso do DCA, Ayrton e Celeide, pela amizade.

Ao amigo Luiz Carlos Gonçalves Júnior pela amizade e ajuda valiosa na conclusão deste trabalho.

À FAEPE, pela colaboração na execução deste trabalho. Aos funcionários da Usina de Beneficiamento de Leite – FAEPE, em Ijaci, MG.

Aos funcionários da Fábrica de Laticínios Verde Campo em Lavras, MG, onde realizamos parte deste experimento.

Aos amigos bubalinocultores, João Batista, Marcelo Batista e Sra. Maria Madalena de Souza, proprietários da Fazenda Pedreira em Oliveira, MG e ao Dr. Carlos Andrade, proprietário da Fazenda Samaipata, em Entre Rios de Minas, pela colaboração e disponibilidade do leite de búfala.

Aos colegas do IMA de Lavras, em especial Manoel Vital e Carlos M. Kato, pela colaboração durante este trabalho.

Ao Prof. Alcione de Oliveira, do Departamento de Engenharia Agrícola da UFLA, pela ajuda durante a execução deste experimento.

A Coalhobras Indústria Comércio de Produtos Químicos Ltda, pela doação do agente coagulante.

À empresa Danisco, pela doação da cultura lática.

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

## BIOGRAFIA

*Valdomiro Jardim de Oliveira, natural de Ouro Verde de Minas, MG. graduou-se em Medicina Veterinária pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) em agosto de 1995. Trabalhou no Instituto de Defesa Agropecuária do Estado do Mato Grosso (INDEA-MT) no período de agosto 1995 a 1996. É funcionário do Instituto Mineiro de Agropecuária do Estado de Minas Gerais (IMA-MG), desde 1997, na área de Inspeção e Fiscalização de Produtos de Origem Animal. Em 2001, concluiu o curso de especialização a distância (lato sensu) em Controle de Qualidade de Produtos de Origem Animal na Universidade Federal de Lavras (UFLA). Ingressou no mestrado no Departamento de Ciência dos Alimentos da UFLA no primeiro semestre de 2003.*



## SUMÁRIO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>RESUMO</b> .....   | <b>i</b>  |
| <b>ABSTRACT</b> .....   | <b>ii</b> |
| <b>1 INTRODUÇÃO</b> .....   | <b>1</b>  |
| <b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....  | <b>3</b>  |
| 2.1 Bubalinocultura brasileira .....  | 3         |
| 2.2 Qualidade do leite bubalino.....  | 5         |
| 2.3 Queijo mussarela de leite de búfala.....  | 8         |
| 2.4 Coalho bovino .....   | 12        |
| 2.5 Agente coagulante fúngico.....  | 13        |
| 2.6 Processo de coagulação do leite .....   | 16        |
| 2.7 Cultura lática .....  | 19        |
| 2.8 Ação da cultura lática na filagem da massa do queijo mussarela para pizza .....   | 20        |
| 2.9 Proteólise e estabilização do queijo mussarela para pizza .....   | 24        |
| 2.10 Salga dos queijos.....   | 25        |
| 2.11 Elasticidade do queijo mussarela aquecido .....  | 26        |
| 2.12 Derretimento do queijo mussarela.....  | 28        |
| 2.13 Liberação de óleo livre <i>oiling off</i> .....  | 29        |
| 2.14 Coloração do queijo mussarela (escurecimento não enzimático).....  | 30        |
| 2.15 Formato e estocagem do queijo mussarela para pizza.....  | 32        |
| <b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....   | <b>34</b> |
| 3.1 Matéria-prima: leite de búfala ( <i>Bubalus bubalis</i> ) e o processo de fabricação do queijo mussarela.....   | 34        |
| 3.2 Análises físico-químicas do leite de búfala em algumas etapas de fabricação do queijo, da força do coalho, do soro do queijo mussarela, da água de filagem da massa e análises do queijo mussarela do leite de búfala ..... | 38        |
| 3.2.1 Análises do leite de búfala cru e pasteurizado.....   | 38        |
| 3.2.2 Análises da força do coalho, do soro do queijo mussarela elaborado com leite de búfala e da água de filagem da massa dos queijos.....   | 39        |
| 3.2.3 Análises do queijo mussarela de leite de búfala.....  | 40        |
| 3.3 Análises estatísticas.....  | 46        |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>   | <b>47</b> |
| 4.1 Análises físico-químicas do leite de búfala cru e pasteurizado .....  | 47        |
| 4.2 Análise físico-química do soro de queijo mussarela elaborado com leite de búfala e da gordura presente na água de filagem da massa do queijo..... | 48        |
| 4.3 Análises dos queijos mussarela para pizza elaborado com leite de búfala...  | 50        |
| 4.3.1 Valores de acidez titulável e pH dos queijos mussarela para pizza elaborados com leite de búfala.....   | 52        |
| 4.4 Propriedades funcionais do queijo mussarela para pizza elaborado com leite de búfala.....   | 57        |
| 4.4.1 Derretimento do queijo mussarela de leite de búfala .....   | 58        |
| 4.4.2 Perda de óleo livre <i>oiling off</i> no queijo mussarela de leite de búfala .....  | 61        |
| 4.4.3 Elasticidade do queijo mussarela de leite de búfala .....   | 63        |
| 4.5 Cor do queijo mussarela de leite de búfala antes e após o processo de aquecimento (escurecimento não enzimático) .....                            | 65        |
| <b>5 CONCLUSÕES .....</b>   | <b>74</b> |
| <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>   | <b>75</b> |
| <b>ANEXOS .....</b>   | <b>88</b> |

## RESUMO

**OLIVEIRA, Valdomiro Jardim. Efeito de diferentes coagulantes e temperaturas de filagem sobre as características funcionais do queijo mussarela de búfala (*bubalus bubalis*). Lavras: UFLA, 2004. 95p. (Dissertação - Mestrado em Ciência dos Alimentos).<sup>1</sup>**

Com o objetivo de obter queijo mussarela de leite de búfala, com características ideais para ser utilizado como ingrediente em pizzas, foram utilizados, no seu processamento, diferentes coagulantes: o coalho bovino (80% pepsina e 20% quimosina) e a mucorpepsina do *Mucor miehei*, em diferentes temperaturas de filagem (75°C, 85°C e 95°C) e em diferentes períodos de estabilização (3, 7, 17, 27 e 35 dias) após o dia da filagem. Foram analisados as características funcionais destes queijos, tais como: derretimento, elasticidade, perda de óleo *oiling off* e o escurecimento não enzimático pelo sistema CIEL\*a\*b\*. Os dados obtidos revelaram não haver diferenças estatísticas entre as temperaturas da água de filagem e os tipos de coagulantes utilizados no processamento destes queijos. Apenas o período de estabilização mostrou diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,01$ ) para todas as características estudadas, exceto para o escurecimento não enzimático, que foi estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ). Os resultados estão, portanto, coerentes com a ação da proteólise sobre a matriz protéica dos queijos no decorrer do tempo de estabilização. Já para o escurecimento não enzimático, o período de estabilização, ao contrário das demais características, mostrou diminuir a intensidade dos índices de cores ( $a^*$ ,  $b^*$ ,  $L^*$  e  $\Delta E^*$ ). Justifica-se, portanto, a metabolização dos açúcares redutores durante o período de estocagem dos queijos. A avaliação desta característica é importante, principalmente porque todos os queijos foram processados com cultura láctica mista termofílica contendo parte dos microrganismos galactose negativa, ou seja, não metaboliza a galactose. Sendo assim, de acordo com os resultados obtidos, conclui-se que o período ideal para utilização deste queijo em pizza, com boas características funcionais e uma perda de gordura controlada juntamente com o escurecimento não enzimático, seria, portanto, não superior a três semanas de armazenagem sob refrigeração.

---

<sup>1</sup> Comitê Orientador: Profa. Dra. Verônica Lobato – UFLA (Orientadora)

## ABSTRACT

OLIVEIRA, Valdomiro Jardim. **Effects of different coagulants and stretching temperature upon the functional characteristics of the buffalo milk mozzarella cheese (*Bubalus bubalis*)**. Lavras: UFLA, 2005. 95p. (Dissertation – Master in Food Science).<sup>1</sup>

With the purpose of obtaining buffalo milk mozzarella cheese with characteristics ideal to be utilized as an ingredient in pizzas, bovine rennet (80% of pepsin and 20% of chymosine) and mucropepsin of *Mucor miehei* along with different stretching temperatures (75C, 85C, 95C) and different periods of storage (D+3, D+8, D+17, D+27 and D+35 days), regarding D as the day of manufacture, was utilized in its processing. Analyzing, therefore, the functional characteristics of these cheeses, such as: melting, elasticity, oiling off and non-enzymatic browning by the system CIEL\* a\* b\*. It was found that except for non-enzymatic browning, the data obtained revealed that there are no statistical differences between the temperatures of the stretching water and the kinds of coagulants used in the processing of these cheeses. Only the period of storage showed statically significant alterations ( $p < 0.01$ ) for all the studied characteristics, except for non-enzymatic browning which was statistically significant ( $p < 0.05$ ). The results are, therefore, consistent with the action of proteolysis on the protein matrix of the cheeses over the storage time. However, non-enzymatic browning, period of storage, on the contrary to the other characteristics showed to decrease the intensity of the color indices (a\*, b\*, L\* and  $\Delta E^*$ ). Accounting for, therefore, the metabolizing of reducing sugars over the storage period of cheese. Evaluation of this characteristic is important mainly because all the cheeses were processed with thermophilic lactic cultures which are in part galactose- negative, that is, it does not metabolizes galactose. So, according to the results obtained, it follows that the ideal period for utilization of this cheese in pizza, with good functional characteristics and controlled fat loss together with non-enzymatic browning, would therefore be not superior to three weeks' storage under refrigeration.

---

<sup>1</sup> Guidance Committee: Professor Dr. Verônica Lobato – UFLA (Adviser)

# 1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a bubalinocultura voltada para a exploração leiteira vem crescendo de forma significativa, mostrando ser essa uma alternativa à pecuária tradicional. Pesquisas têm demonstrado que o leite de búfala apresenta elevado valor nutricional, devido aos altos teores de proteínas, gordura, sólidos totais, sólidos não gordurosos e alguns minerais em relação ao leite de origem bovina (Verruma, 1993).

Entre os derivados produzidos a partir do leite de búfala, o queijo mussarela é o que mais se destaca. É um produto de origem italiana que tem como característica uma superfície branca, crosta fina e sabor levemente ácido com alto rendimento industrial, devido sobretudo, ao elevado teor de extrato seco total do leite (Neves, 1985).

Devido principalmente à evolução do mercado de pizzas, o queijo mussarela de leite de vaca produzido exclusivamente para esta finalidade tem apresentado, no Brasil, nos últimos anos, um alto crescimento de produtividade (Furtado, 1999). Mais recentemente, o queijo mussarela de leite de búfala produzido com a mesma finalidade vem tendo ótima aceitação pelos consumidores e remuneração para as fábricas de laticínios que processam este tipo de leite. Assim, a criação de búfalos exclusivamente para a produção de leite, torna-se uma boa fonte de renda para os produtores (Macedo et al., 2001).

O queijo mussarela produzido exclusivamente para pizza deve apresentar características próprias de comportamento para ser utilizado como ingrediente. As características que tornaram-se essenciais para a avaliação da qualidade deste tipo de queijo a ser usado em pizzarias são: teor de umidade de 47% a 48%, teor de gordura mais elevado, maior período de conservação, alta elasticidade e derretimento, baixa liberação de óleo *oiling off* e escurecimento não enzimático

*browning* controlado. Entretanto, estas características são influenciadas por uma série de fatores, tais como: período de estabilização, teor de sal, pH da massa, teor de umidade, teor de gordura, tipo de acidificação e tipo de coalho utilizado no processamento do queijo (Furtado, 1999).

Especificamente com relação ao tipo de coalho empregado na indústria laticinista, os agentes coagulantes, enzimas proteolíticas provenientes de microrganismos, são largamente utilizadas no processo de coagulação do leite para a fabricação de queijos. Atualmente, existe uma grande oferta destes agentes coagulantes no mercado e entre eles destacam-se os obtidos do *Mucor miehei*, *Mucor pusillus* e *Cryphonectria parasitica*, além dos coagulantes genéticos (Fox, 1988).

Uma das grandes vantagens da utilização dos agentes coagulantes provenientes de microrganismos é a de não serem produtos sazonais, podendo, assim, ser produzidos em grandes quantidades e a baixo custo. Todavia, podem apresentar determinados problemas, tais como uma pronunciada atividade proteolítica residual, que pode causar gosto amargo indesejável e ocasionar uma textura não apropriada para o queijo, além de possíveis ocorrências de perdas no rendimento (Rosa, 1998).

Neste contexto, o presente trabalho teve por objetivos avaliar as características funcionais do queijo mussarela de leite de búfala (*Bubalus bubalis*) para ser utilizado em pizzas, elaborado com coalho bovino e o agente coagulante fúngico (mucorpepsina), filados com água em diferentes temperaturas e mantidos por um período específico de estabilização sob refrigeração.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Bubalinocultura brasileira

O búfalo, da espécie *Bubalus bubalis*, pertence à família dos bovídeos. Trata-se de animal originário das zonas tórridas cuja aparição ocorreu na Mesopotâmia, em 400 a.C., entre o rio Tigre e o rio Eufrates, no Oriente Médio. A introdução do búfalo no Brasil deu-se em fins do século dezenove, na região norte do país, na Ilha de Marajó, com animais das raças Carabao e Mediterrâneo procedentes do sudeste Asiático e da Itália (Marques, 1997).

É importante ressaltar que os búfalos são adaptáveis às mais diversas condições climáticas. Na Itália, existe rebanho bubalino em regiões onde a temperatura pode, eventualmente, chegar a níveis baixíssimos, contrariamente às altas temperaturas e umidade observadas em Bombay, Índia. Há registros de criações bubalinas no deserto de Kutch, Índia, onde chove menos de 180mm por ano, com temperaturas oscilando em torno de 45°C durante o dia. No Brasil, observa-se a criação desde o extremo sul do país até o norte, onde está o maior rebanho brasileiro da espécie (Finotelo, 1981).

O Brasil, que possui uma superfície territorial superior a oito milhões de quilômetros quadrados, apresenta cerca de 90% do seu território localizado na zona tropical e o restante no subtropical. As pastagens são compostas principalmente por gramíneas estivais, que apresentam alto teor de fibra bruta quando comparadas às temperadas. Nesse ambiente observa-se melhor performance dos búfalos em relação aos bovinos. A grande resistência do búfalo e sua surpreendente capacidade de transformar alimentos volumosos de alto conteúdo de fibra em leite, gordura, carne e trabalho, indicam-no como indispensável ao povoamento de regiões de pastagens pobres, terrenos

alagadiços e areões, onde os bovinos europeu e indiano encontram dificuldades de adaptação e pleno desempenho (Yunes, 2000).

Devido a esta vastíssima área propícia à bubalinocultura, o Brasil destaca-se com o maior rebanho bubalino da América Latina, com 1.150.000 cabeças (FAO, 2002) e cresce a uma taxa de 12,7% ao ano (IBGE, 2001). Já a população mundial de bubalinos está estimada em 200 milhões de cabeças (FAO, 2002). Acredita-se que o plantel brasileiro de búfalos pode chegar a cinco milhões de cabeças até o ano de 2006 (APCB, 2004). A atividade, no Brasil, vem apresentando lucros cada vez maiores, quer no abate, quer na produção de leite, comprovando boas perspectivas de mercado, apontando como uma riqueza emergente no Brasil e no mundo (Nascimento & Carvalho, 1993).

O interesse na exploração da bubalinocultura leiteira vem rapidamente difundindo-se intensamente em diversas regiões do país, particularmente nas regiões sul e sudeste, onde já se observam inúmeros rebanhos para esse fim (Barbosa et al., 2002).

Uma característica favorável da bubalinocultura voltada para a produção de leite é a ocorrência de maior atividade reprodutiva das búfalas em determinada época do ano, ou seja, apresenta-se com uma maior sazonalidade. Sendo o búfalo um animal mais rústico, consegue manter constante a produção leiteira, em períodos críticos desfavoráveis aos bovinos (Ford, 1982).

Os bubalinos exibem produtividade leiteira economicamente superior aos zebuínos, isto é, cada litro de leite é produzido a menor custo, devido, sobretudo, à extraordinária rusticidade desta espécie, aproveitando melhor forragem de qualidade inferior e resistindo às mais adversas condições climáticas, com marcante resistência às doenças (Nascimento & Carvalho, 1993).



A bubalinocultura de leite no Brasil vem se destacando cada vez mais, para atender às queijarias especializadas em produzir queijo mussarela, permitindo que o leite de búfala seja comercializado com um valor maior que o de vaca. Isso porque a mussarela do leite de búfala possui preço diferenciado no mercado varejista em comparação com o mesmo queijo elaborado com leite de vaca (Faria, 1997).

## **2.2 Qualidade do leite bubalino**

O leite de búfala, pode ser definido, quanto à composição, como sendo possuidor de um alto valor nutritivo, sendo uma excelente matéria-prima para o preparo de produtos lácteos. É também valioso na dieta em muitos países, onde a deficiência de proteína geralmente ocorre (FAO, 1981). Com relação aos componentes do leite de búfala, os lipídios são os que apresentam maior variação percentual, uma vez que valores mais frequentes encontrados oscilam em torno de 5,5% e 8,5% (Youssef & Khattab, 1997). Estes valores são altos quando comparados com o leite de vaca integral, que apresenta média de 3,4% (Silveira et al., 1989). O leite de búfala apresenta um menor índice de colesterol, quando comparado com o leite bovino, possuindo respectivamente 16mg e 20mg de colesterol em 100g de leite, o que possibilita a produção de produtos lácteos mais saudáveis (Prasad & Pandita, 1990).

O teor de sólidos totais no leite de búfala é maior do que o de vaca, com uma média de 16% para o leite de búfala e aproximadamente 12% para o leite de bovino. Para as vitaminas do complexo B e C, foram observados valores semelhantes ao leite de vaca. Porém, a lactose, a vitamina A e grande parte dos minerais foram observados com maiores valores no leite bubalino (Elias, 1988; Rajorhia, 1987).

As proteínas do leite de búfala são similares às do leite de vaca, porém não são idênticas nem estão nas mesmas proporções, com uma variação de 3,63% a 5,26% para o leite de búfala e 3,25% a 3,9% para o leite de vaca (FAO, 1981). Considerando-se os valores de proteína no leite de búfala com média de 4,0%, destes, 77% a 79% são constituídos de caseína, sendo, portanto, influenciados pela época da lactação. Já as proteínas do soro constituem entre 21% a 23% da fração protéica (De Francis & Di Palo, 1994).

A micela de caseína no leite de búfala possui maior dimensão, com diâmetro variando de 110 a 150 nm em comparação com as micelas de caseína do leite de vaca, que possuem 70 a 110 nm por micela, são mais opacas e com menor conteúdo de nitrogênio, mas com mais cálcio e fósforo, e encontra-se, principalmente, na forma micelar. Já a caseína solúvel encontrada no leite de vaca quase não existe no leite de búfala (Albano & Mincione, 1984). Com isso, o leite de búfala apresenta uma coagulação mais rápida, mas a coalhada tem dificuldade em reter umidade e, conseqüentemente, os queijos tendem a ser mais secos. No leite de vaca isto não ocorre, pois, as micelas menores são muito mais hidratadas (Furtado, 1999).

É importante mencionar que a composição do leite pode sofrer influência pelas condições de clima, alimentação, raça e manejo dos animais. Portanto, quando se observa a composição físico-química do leite citada por diferentes autores, grandes disparidades podem ser encontradas devido aos fatores enumerados (Benevides, 1998). A Tabela 1 apresenta a composição físico-química do leite bubalino e bovino, segundo vários autores em diversas partes do mundo.

**TABELA 1.** Composição físico-química do leite integral de origem bubalina (*Bubalus bubalis*) e bovina, de acordo com diversos autores.

| Parâmetro                                   | Búfalo           | Bovino           | Fonte   |
|---|------------------|------------------|---|
| Gordura (g/100g)                            | 5,5 – 8,5        | 3,4              | Silveira et al., 1989;<br>Youssef & Khattab, 1997 |
| Gordura (g/100g)                            | 8,16             | 3,68             | Benevides, 1998                                   |
| Colesterol (mg/100mL)                       | 16               | 20               | Prasad & Pndita, 1990                             |
| E.S.T (g/100g)                              | 16               | 12               | FAO, 1991   |
| Proteína (g/100g)                           | 3,6 – 5,2        | 3,2 – 3,9        | FAO, 1991   |
| Proteína (g/100g)                           | 4,50             | 3,70             | Benevides, 1998                                   |
| Caseína (g/100g)                            | 3,8              | 2,9              | Neves, 1985                                       |
| Umidade (g/100g)                            | 83,0             | 88,0             | Benevides, 1998                                   |
| Cinzas (g/100g)                             | 0,70             | 0,70             | Benevides, 1998                                   |
| Lactose (g/100g)                            | 4,5 – 5,0        | -                | Furtado, 1980a;<br>Tanezine et al., 1990          |
| pH  | 6,6 – 6,9        | -                | Furtado, 1980a;<br>Tanezine et al., 1990          |
| Acidez titulável<br>(g ácid. láctico/100mL) | 0,19             | 0,17             | Neves, 1985                                       |
| Densidade (g/mL)                            | 1,028 a<br>1,033 | 1,028 a<br>1,034 | Ferrara & Intrieri, 1992<br>Brasil, 2002          |
| Cálcio (%)                                  | 2,03             | 1,14             | Franco, 1992                                      |
| Fósforo (%)                                 | 0,12             | 0,10             | FAO, 1991   |
| Citrato de sódio (mg/100g)                  | 180-300          | -                | Ferrara, 1974                                     |

O percentual de lactose oscila entre 3,30 e 5,90, sendo que a maior freqüência fica entre os valores de 4,5% e 5,0%. A lactose, assim como os lipídios, é mais elevada no leite da segunda ordenha. Os valores de pH do leite de búfala variam entre 6,6 a 6,9, próximos ao leite de vaca. Porém, devido ao

elevado teor de caseína, exerce um efeito tampão na titulação acidimétrica no leite de búfala, ocasionando uma elevação na acidez titulável (Furtado, 1980b; Tanezine et al., 1990). Com relação à densidade do leite, Ferrara & Intrieri (1992) encontraram, em búfalas indianas, variações entre 1,028 a 1,033, com média de 1,030.

Outra avaliação físico-química importante para o processamento tecnológico do leite na indústria laticinista é a determinação da presença das enzimas fosfatase alcalina e peroxidase. Isto porque a temperatura de inativação da fosfatase alcalina é ligeiramente abaixo da pasteurização e a peroxidase ligeiramente acima. Com isso, um leite devidamente pasteurizado encontrará valores negativos para a fosfatase alcalina e positivo para a presença da peroxidase (Abreu, 2000).

A determinação do nível de cálcio é também de grande importância, do ponto de vista tecnológico e nutricional, para o leite de búfala. O conteúdo médio de cálcio no leite de búfala é de 0,18g/100g de leite e o valor médio da relação cálcio e nitrogênio caseínico (Ca/N) é de 0,335 e a relação de cálcio e fósforo (Ca/P) é de 1,5. Já os valores de citrato de sódio oscilam entre 180 a 300mg/100gramas de leite (Ferrara & Intrieri 1974).

### **2.3 Queijo mussarela de leite de búfala**

O queijo mussarela tem origem na planície de Nápoles, sul da Itália, onde é produzido desde os tempos medievais. Inicialmente, era produzido com leite de búfala, porém, hoje em dia, devido à grande demanda, é fabricado principalmente com de leite bovino. O nome mussarela vem do italiano mozzarella que deriva de um verbo que significa “repartir ou cortar em fatias”, uma importante característica da mussarela ou uma referência a uma etapa do processamento, na qual o queijeiro reparte pedaços de massa para realizar a

filagem. A típica mussarela italiana tem formato de bola, pesando de 100 a 300 gramas, sendo um queijo branco, opaco e bem macio, com um delicado sabor de leite ou creme e um levíssimo aroma de manteiga (Del Prato, 1993).

Na Itália, país que mantém a forma mais tradicional de fabricar o queijo mussarela no mundo, existem três tipos deste queijo: “mussarela tradicional italiana”, que apresenta teor de umidade elevado 60% a 65% e textura bem macia, sendo consumida fresca e, principalmente, em salada. É tradicionalmente produzida a partir da acidificação do leite, mediante ação do metabolismo das bactérias láticas empregadas antes da coagulação, usualmente cultura lática contendo somente *Streptococcus salivarius subesp. thermophilus*. O segundo tipo poderia ser chamado de “mussarela industrial”, em que são empregados ácidos (geralmente lático ou cítrico) para efetuar a acidificação do leite antes da coagulação. O terceiro tipo não é a mussarela propriamente dita e sim um produto imitação que é basicamente, um queijo fundido (Sigsgaard, 1994; Addeo, 1996).

No Brasil, como não existe uma legislação própria para o queijo mussarela de leite de búfala, adota-se a portaria 304 de 04/09/1997 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), que aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) para o queijo mussarela, visando à padronização da qualidade e dos processos de fabricação deste queijo no país.

Dos queijos fabricados no Brasil com leite de búfala, a mussarela é um dos principais e apresenta tecnologia de fabricação semelhante à utilizada para o leite bovino (Olivieri, 2004). Este queijo apresenta-se com uma superfície branca, enquanto que o elaborado com leite de vaca apresenta uma coloração amarelada, devido à presença do  $\beta$ -caroteno no leite de vaca e que é ausente no bubalino. Com relação à umidade deste queijo, Ferrara & Intrieri (1975)

observaram que a mussarela elaborada com o leite de búfala apresenta valores de umidade inferiores ao da mussarela fabricado com leite de vaca, oscilando entre 38% a 45%; já Bonassi et al., (1982) e Verruma (1993) obtiveram queijos com 48,12% e 48% de umidade, respectivamente.

Com relação aos valores de pH do queijo mussarela de leite de búfala, Ferrara & Intrieri (1975) encontraram valores entre 5,5 e 5,8, porém Bonassi et al.(1982) encontraram valor médio de 5,48 logo após a sua fabricação.

A Tabela 2 apresenta a composição química dos queijos mussarela de leite de búfala e de leite de vaca (Verruma, 1993).

**TABELA 2.** Avaliação físico-química do queijo mussarela fabricada com leite de búfala e de vaca

| Análises físico-químicas    | Queijo mussarela |       |
|-----------------------------|------------------|-------|
|                             | Búfala           | Vaca  |
| Umidade (%)                 | 48,00            | 53,00 |
| Proteína (g/100g)           | 43,20            | 34,00 |
| Gordura (g/100g)            | 44,10            | 38,50 |
| Cinzas (g/100g)             | 4,64             | 3,77  |
| Extrato seco total (g/100g) | 52,00            | 47,00 |

\* Fonte: Adaptação Verruma (1993).

O método utilizado para a elaboração do queijo mussarela é o tradicional, no qual ocorre a fermentação da massa, que propicia a redução do pH e a sinérese da coalhada. Estas transformações favorecem o processo de filagem e o desenvolvimento das características sensoriais do queijo (Bernardi et al., 2000). Na fabricação do queijo mussarela de leite de búfala ocorre uma

coagulação mais rápida em relação à produzida com leite de vaca devido ao elevado teor de cálcio (Neves, 1985).

Em razão do surgimento e do crescimento de modernas cadeias de pizzarias, há maior preocupação com a metodologia de fabricação do queijo mussarela para atender às exigências em termos do ponto ideal para a confecção de pizzas, também chamado de *pizza cheese* (Rosa, 1998).

O queijo mussarela para pizza, ou *pizza cheese*, tornou-se um dos principais queijos fabricados no país nos últimos anos. Por ser um queijo diferente da maioria dos outros, pois é consumido normalmente no estado derretido, suas características de derretimento e elasticidade são altamente apreciadas para a fabricação de pizza e de outros pratos relacionados, nos quais ele é importante ingrediente. Portanto, essas propriedades são críticas para a qualidade deste tipo de queijo e de sua aceitação (Visser, 1991; Ruegg et al., 1991). O desfibramento, que também é uma característica importante e predominante para sua utilização em pizza, diminui com o aumento da umidade do queijo (Kosikowski, 1978). Portanto, há uma relação inversa entre o teor de umidade e a firmeza ou consistência do queijo produzido (Kindstedt, 1997; Furtado, 1999).

O queijo mussarela para pizza, ou *pizza cheese*, deve exibir textura adequada para ser ralado ou moído, a fim de facilitar a distribuição e posterior fusão uniforme sobre a pizza (Lorton, 1987). 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 refere-se ao processo de fermentação da lactose e o segundo à degradação da proteína ou proteólise (Furtado, 1997).

## 2.4 Coalho bovino

Denomina-se “coalho” o extrato obtido a partir do abomaso de animais ruminantes, rico em proteinases ácidas, com atividade coagulante sobre o leite. As demais proteinases de origem diferentes, capazes de coagular o leite sob condições adequadas, são denominadas de agentes coagulantes (Fox, 1988). As enzimas proteolíticas, obtidas do abomaso de bovinos lactentes ou adultos, é um potente coalho destinado a promover a coagulação do leite para a produção de queijos. O principal papel do coalho é induzir à coagulação do leite por meio da hidrólise da caseína, sendo também muito importante durante a maturação do queijo (Fox e Law, 1991).

As proteinases do coalho animal e da fermentação do fungo *Mucor miehei* são todas pertencentes ao grupo das proteases aspárticas. Na classificação do *NC-IUBMB (Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology)*, o grupo recebe a denominação EC 3.4.23., que representa as proteinases mais importantes. A composição das proteinases aspárticas caracteriza-se, geralmente, pelo alto conteúdo de hidróxido aminoácido e ácidos dicarboxílicos e baixo conteúdo de grupo amina. Este grupo tem peso molecular compreendido entre 33.000 e 38.000 dáltons (Foltmann, 1987).

No Brasil, os coalhos são produzidos basicamente a partir de estômago (abomaso) de bovinos adultos e possuem as seguintes enzimas com seus respectivos nomes e classificação, recomendados pelo *NC-IUBMB 2004*: 80% de pepsina A (EC 3.4.23.1) e 20% de quimosina (EC 3.4.23.4). A pepsina bovina é menos específica e mais proteolítica do que a quimosina; já o coalho extraído do abomaso de bezerros (vitelos) contém, aproximadamente, 80% de quimosina, 17% de pepsina A e 3% de gastricsina (EC 3.4.23.3) (Visser, 1981; Foltmann, 1987).



A quimosina e a pepsina bovina apresentam a máxima estabilidade em pH 5,3, mas são suscetíveis à inativação quando submetidas à temperatura acima de 60°C (Garnot et al., 1972; Kindstedt et al., 1997).

O coalho animal possui uma mistura de quimosina A, B e C na proporção de 30:55:15. Alguns animais produzem a quimosina A, outros a quimosina B. A quimosina C é um produto da degradação da quimosina A. As quimosinas A e B diferem entre si por apenas um aminoácido na seqüência 244, em que, na quimosina A, é um ácido aspártico e, na quimosina B, uma glicina. Esta diferença confere a quimosina A uma atividade específica de 15-20% mais alta que a da quimosina B, especialmente em pH mais baixos. Quanto à especificidade destas enzimas, supõe-se que a quimosina A seja ligeiramente mais específica que a quimosina B, mas esta é um produto mais estável (Harboe, 1992). No coalho produzido por fermentação de microrganismos, não ocorre a mistura de mais de um tipo de quimosina, ele é constituído pelo tipo A ou B.

## **2.5 Agente coagulante fúngico**

Atualmente existe um grande número de agentes coagulantes, substitutos potenciais de coalhos, como os coagulantes obtidos a partir de estômago de animais (bovino, suíno e aves), de microrganismos e de origem vegetal. Contudo, a aplicação destas enzimas na coagulação do leite pode produzir resultados indesejáveis, como, por exemplo, a redução do rendimento da fabricação do queijo devido à intensa atividade proteolítica destas enzimas. Assim como podem também surgir defeitos de aroma e sabor, especialmente o gosto amargo no queijo. Entre os coagulantes disponíveis no mercado, apenas cinco têm sido considerados razoavelmente aceitáveis para algumas variedades de queijos: a pepsina de origem suína e de origem avícola e as proteinases ácidas produzidas pelos microrganismos *Mucor miehei*, *Mucor pusillus* e

*Cryphonectria parasitica*. A pepsina de aves é a menos adequada dentre estes coagulantes, sendo utilizada em poucos países. A pepsina suína é uma protease muito ácida, sensível a pH superior a 6,6 e pode ser intensamente desnaturada durante o processamento do queijo, contribuindo pouco para a proteólise (Retzl et al., 1992; Foltmann, 1987; Fox, 1988).

No Brasil, estes coagulantes ainda são pouco utilizados pelas fábricas de laticínios, sendo empregados eventualmente para a fabricação de queijos frescos, consumidos logo após a fabricação. Já os agentes coagulantes de origem microbiana vêm ganhando mercado gradativamente. As proteinases dos fungos possuem atividade proteolítica mais acentuada se comparadas com os coalhos, mas a aceitação, para muitas variedades de queijos utilizando-as tem sido satisfatória. Os agentes coagulantes microbianos são largamente usados nos Estados Unidos (Retzl et al., 1992; Folegatti, 1994).

Segundo Broome & Limsowtin (1998), as enzimas proteolíticas fúngicas são capazes de induzir à coagulação do leite de modo similar à quimosina de bezerros. O uso deste agente coagulante oferece grandes vantagens para essa substituição, como de ser produzido em larga escala, pois é um produto sem sazonalidade e possui baixo custo.

De acordo com a *NC-IUBMB* (2004), o coagulante proveniente da fermentação do fungo *Mucor miehei* é classificado como EC 3.4.23.23 e possui o nome oficial de mucorpepsina, embora seja conhecido por outros nomes, tais como protease ácida de mucor, renina de mucor, entre outros. A característica principal desta enzima é sua alta atividade proteolítica quando comparada a outros coagulantes e sua baixa especificidade (Fox, 1988). Possui peso molecular de 38 KDa, consiste de uma simples cadeia peptídica contendo aproximadamente 6% de carboidratos e apresenta estabilidade entre o pH 3 e 6, sendo o seu pH ótimo 4,5 (Foltmann, 1987; Labmicro, 2004).

Embora outros autores afirmem que a mucorpepsina é instável somente em pH acima de 6,7 e inativada quando exposta a temperatura em torno de 65°C, ela apresenta maior estabilidade ao calor que a quimosina do coalho bovino (Dalglish, 1987).

Segundo Martens & Nandts, (1973), os queijos produzidos com enzimas fúngicas freqüentemente maturam ou estabilizam de maneira diferente dos produzidos com outros tipos de agentes coagulantes, devido ao seu poder proteolítico, podendo, por isso, apresentar defeitos de corpo ou de textura.

O corpo do queijo fabricado com coagulante fúngico é ligeiramente mais macio e, conseqüentemente, sua fusão é superior, como são também o rendimento, a retenção da umidade e a gordura na massa (Ghosh et al., 1990).

O pH exerce influência na retenção do coalho na massa do queijo, assim como a proporção de soro retido na massa. As massas com pH mais baixo após a dessoragem apresentam maior retenção de coalho animal e maior proporção de  $\alpha_1$ -caseína hidrolisada, porém, a distribuição do agente coagulante obtido do *Mucor miehei* entre a massa e o soro não é dependente do pH (Lawrence et al., 1987).

Com relação ao uso do agente coagulante fúngico, é interessante notar que, em países como a Índia, onde existe um processamento significativo de queijos de leite de búfala, o uso do coalho de origem bovina tem grande dificuldade de aceitação por vasta maioria da população vegetariana e de determinadas religiões que não permitem o consumo de carne e derivados de origem bovina. A fonte alternativa para estas questões tem sido a adoção do uso de coalho microbiano (Ghosh, 1996).

## 2.6 Processo de coagulação do leite

Os coalhos e os agentes coagulantes são enzimas proteolíticas destinadas a promover a coagulação do leite para a produção de queijos. O mecanismo de ação destas enzimas está compreendido em três fases bem distintas, enumeradas a seguir (Hansen 1999; Furtado 1999; Oliveira & Caruso 1996).

1ª Fase - Ataque da enzima à k-caseína, camada protetora da micela de caseína, com liberação de uma fração protéica, denominada “caseíno-macroglicopeptídeo”. Esta fração solúvel é liberada no soro.

A hidrólise ocorre na ligação entre os aminoácidos fenilalanina (105) e metionina (106) da k-caseína, sendo a seqüência de aminoácido compreendida entre a histidina (98) e a lisina (112) importante para conferir a conformação espacial adequada para a associação do sítio ativo da enzima com a ligação peptídica a ser clivada (Figura 1) (Fox, 1989).

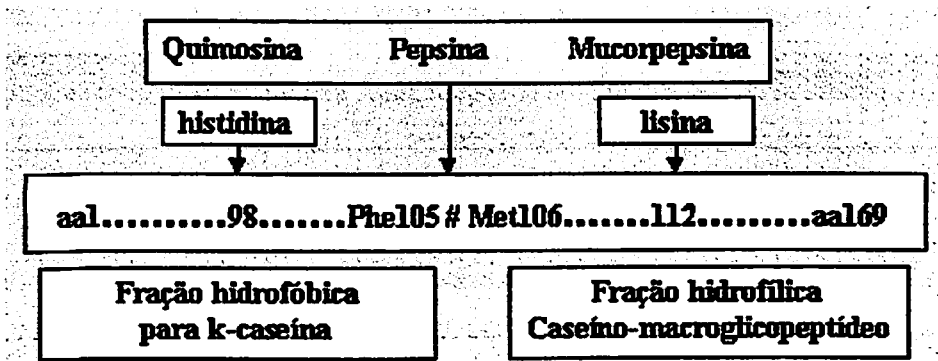


FIGURA 1. Ação dos coagulantes na k-caseína

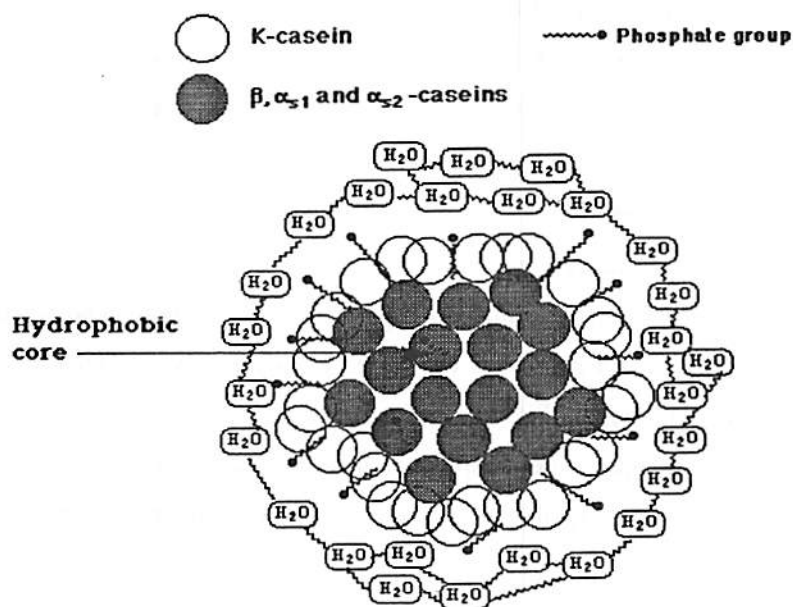
Fonte: Adaptação <[www.ufv.br/dbg/trab2002/outros/DUS002.htm](http://www.ufv.br/dbg/trab2002/outros/DUS002.htm)>

2ª Fase - A agregação das micelas de para-caseína recém-formadas é muito dependente da temperatura e da atividade de cálcio no meio.

A utilização de enzimas com características proteolíticas mais acentuadas provoca o rompimento de várias ligações peptídicas e uma solubilização importante das proteínas, o que induz à formação de coágulos com ligações de baixa tensão ou muito fracas, com conseqüentes perdas elevadas de matéria seca no soro.

O efeito do cálcio na agregação é essencial e não parece ser devido à diminuição de cargas, mas como participante das ligações entre os agregados micelares (Walstra, 1990).

A Figura 2 representa, esquematicamente, uma micela de caseína dispersa no leite devido, principalmente, à força eletrostática entre elas.



**FIGURA 2.** Esquema gráfico de uma micela de caseína  
Fonte: <[www.ufv.br/dbg/trab2002/outros/DUS002.htm](http://www.ufv.br/dbg/trab2002/outros/DUS002.htm)>

3ª Fase - Nesta fase, os agentes coagulantes ainda desempenham um papel essencial durante a estabilidade do queijo, período em que ocorrem o desenvolvimento do sabor, aroma e consistência. A escolha desses agentes é um passo importante para a obtenção das características desejadas no produto.

Após o processo de fabricação do queijo mussarela, é muito importante a permanência de agentes coagulantes na massa do queijo, pois estes serão responsáveis pela taxa de proteólise desenvolvida durante o período de estabilidade e armazenamento do produto. Esta permanência depende, principalmente, dos tipos de agentes coagulantes e da temperatura da água de filagem e do tratamento térmico aplicado na massa durante todo o processo de fabricação.

Segundo Gangopadhyay & Tahakar (1991), quanto mais baixa a temperatura utilizada no tratamento térmico da massa, durante o processo de filagem, mais o queijo apresenta coalho residual, comprovado pelo o índice de proteólise significativamente mais alto. A retenção do agente coagulante é afetada por alterações ocorridas durante a fabricação do queijo, decorrente 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.

Estudos realizados por Budtz (1989) demonstraram haver uma estabilidade térmica mais elevada para a protease fúngica em relação aos outros agentes coagulantes. Já Matheson (1981) e Gangopadhyay & Tahakar (1991) afirmam que o principal fator determinante do nível de retenção do agente coagulante em qualquer tipo de queijo está relacionado com a severidade do tratamento térmico ao qual a massa do queijo é submetida durante o seu processamento.

## 2.7 Cultura lática

A função primária da cultura lática é converter a lactose em ácido láctico, o que auxilia na eliminação do soro durante o processo de fabricação do queijo e na fase inicial de sua cura. As transformações bioquímicas ocorridas durante o processo de cura, responsáveis pela produção de aroma, sabor e consistência dos queijos, só são possíveis com uso de culturas láticas. Sem essas, os queijos resultariam em um produto desprovido de sabor característico e não seria possível a existência de tantas variedades com as existentes (Oliveira & Caruso, 1996; Furtado, 1997).

As culturas láticas mais utilizadas no processamento do queijo mussarela são os microrganismos termofílicos, especificamente *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*, *Lactobacillus delbruekii subsp. Bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus*, combinados ou não. Esta preferência deve-se, principalmente, à rápida acidificação provocada por estes microrganismos, que é necessária para que a filagem ocorra em menor tempo, diminuindo significativamente o tempo de fabricação do queijo. Além disso, na fabricação utilizando microrganismos termofílicos, a temperatura durante a agitação da massa é mais elevada, o que auxilia no controle da umidade, originando um queijo que atende aos requisitos desejados à elaboração de pizzas. Já o fermento mesofílico tem sido utilizado mais comumente na fabricação de queijo para consumo direto, em que a temperatura da coalhada não ultrapassa 40°C, resultando em um produto com maior teor de umidade e o pH ideal de filagem somente atingido no dia seguinte (Kindstedt, 1997; Furtado, 1999).

O *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* degrada a lactose com produção de glicose e galactose, mas não é capaz de metabolizar a galactose e é classificado como cultura galactose negativa. Este microrganismo promove uma rápida acidificação, permitindo que a massa do queijo possa ser filada no mesmo

dia e promove uma baixa proteólise, ou seja, degrada com menos intensidade os peptídeos provenientes da ação das enzimas do coalho. Já o *Lactobacillus helveticus* metaboliza a galactose, portanto, é classificado como galactose positiva. Como se trata de um microorganismo mais proteolítico, apesar de menos resistente à temperatura de filagem da mussarela, sua utilização deve ser controlada para não afetar características da massa, como a elasticidade (Perez et al., 1991; Furtado, 1999). Já os cultivos mesofílicos degradam inteiramente a lactose, porém, são muito menos proteolíticos e mais sensíveis ao calor (Furtado, 1997).

As culturas lácticas também promovem a liberação de peptídios da caseína por meio de proteases que elas produzem, e alguns destes peptídios (hidrofóbicos) podem conferir gosto amargo aos queijos. Segundo Desmazeud & Gripon (1977), a ação das culturas lácticas produz, sobretudo, peptídios de cadeia curta, enquanto os peptídios provenientes da ação do coalho são de alto peso molecular, ou seja, cadeias maiores. É importante ressaltar que, durante o período de estabilização do queijo mussarela, os microrganismos da cultura láctica empregada produzem uma grande variedade de peptidases responsáveis pela liberação dos aminoácidos dos peptídios produzidos pela ação dos coagulantes (Wolfshoon-Pombo, 1983).

## **2.8 Ação da cultura láctica na filagem da massa do queijo mussarela para pizza**

Segundo Kosikowski (1978), a função primária da cultura láctica é converter a lactose em ácido láctico, que auxilia na eliminação do soro durante o processo de fabricação e na fase inicial de cura. O autor também cita que, no decorrer do processo de fermentação da massa, percebe-se a ocorrência de uma série de reações, conforme apresentado na Figura 3.



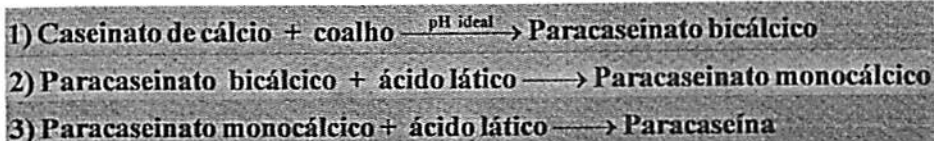



FIGURA 3. Apresentação esquemática da formação da paracaseína.

Fonte: Adaptação Del Prato, (1993)

Estas reações são:

1) Caseinato de cálcio mais coalho - reação que ocorre logo após o término da coagulação com a massa ainda fresca, com baixo teor de ácido láctico e alto teor de cálcio coloidal (paracaseinato bicálcico). O cálcio estabelece uma ligação entre as micelas de paracaseína após a coagulação e mesmo dentro de cada micela. Este cálcio é denominado de cálcio coloidal, no qual o íon  $\text{H}^+$  do ácido láctico formado durante a processamento do queijo faz intercâmbio com o cálcio coloidal, convertendo-o em cálcio solúvel, na forma de lactato de cálcio dissolvido na água livre no interior do grão de coalhada. Este processo denomina-se desmineralização, assim, a expulsão da água (soro) do grão elimina ácido láctico, sob a forma de lactato. Portanto, segundo Monteiro (1999), queijos duros possuem um elevado teor de cálcio e baixo teor de umidade.

2) 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. É essa transformação que garante que a massa, ao ser exposta ao tratamento térmico, possa fundir-se, demonstrando a qualidade de elasticidade uniforme, apresentando-se lisa e com um certo brilho, o que permite ao queijo, durante o período de maturação desenvolver suas características funcionais ideais para ser utilizado em pizza, inclusive ser moído e ralado (Kosikowski, 1978; Furtado, 1997).



3) Quando o paracaseinato monocálcico fica exposto ao ácido láctico, ele é transformado em paracaseína, ocasionando uma perda contínua de cálcio. A massa fica muito desmineralizada e excessivamente solubilizada, apresentando-se, conseqüentemente, fofa e fraca, desfazendo-se ao ser colocada em água quente, sendo, impossível de ser filada e não havendo mais possibilidade de recuperação (Monteiro, 1999).

Segundo Furtado (1997), não existe um pH ideal para a filagem do queijo mussarela, uma vez que o processo depende da quantidade de cálcio presente na massa. A filagem, ou seja, a capacidade da massa em se apresentar elástica quando colocada em água quente, irá ocorrer quando a massa perder a maior parte do cálcio que se encontra ligado à matriz protéica por ação do ácido láctico proveniente do metabolismo das bactérias da cultura láctica pela fermentação da lactose.

O processo de filagem é de grande importância para a produção da mussarela com características ideais para pizza, pois o uso de temperaturas mais altas resulta numa perda excessiva de gordura, enquanto que temperatura mais baixas ocasionam um estiramento incompleto da massa. Portanto, a temperatura ideal da filagem depende da concentração de cálcio presente na massa, daí a importância de não filar massas muito calcificadas ou muito desmineralizadas (Sigsgaard, 1994).

No processo de proteólise do queijo, quanto mais alta a temperatura de filagem, menor será a proteólise durante a maturação, pois as culturas lácticas sofrerão dano celular e haverá destruição quase total dos resíduos do coalho (Viotto et al, 1997; Furtado, 1996). Assim, altas temperaturas de filagem inativam a maior parte das culturas e enzimas residuais do coalho.

Segundo McMahon et al. (1993), estudos realizados com queijo mussarela de leite de vaca demonstraram que na temperatura de 77°C da água de

filagem, a massa alcançou a temperatura de 57°C. Bernardi et al. (2000), trabalhando com mussarela de leite de búfala, empregaram a temperatura de 90°C para água de filagem e a massa alcançou a temperatura de 58°C num tempo de filagem de 5 minutos.

Submetendo-se a massa do queijo à temperatura mais baixa por um período de tempo mais longo, pode-se ter o mesmo efeito sobre o fermento láctico e ou agente coagulante que uma temperatura mais alta, por um curto período de tempo (Kindstedt, 1997).

Com relação ao volume de água para filagem da massa do queijo mussarela, Furtado (1999) recomenda utilizar de 1,5 a 2,0 litros para cada 1,0 quilo de massa a filar, considerando-se aceitável uma perda de 30 gramas de gordura por quilo de massa filada. Já para o queijo mussarela elaborado com leite de búfala recomenda-se utilizar, no processo de filagem, água quente (85°C a 90°C) na proporção de até 1:3 (massa : água quente), com a finalidade de obter uma estrutura contínua e filamentosa (Valle, 1989). Se há um excesso de água quente, a massa fica muito diluída, o que dificulta a “soldagem” com outras partes igualmente filadas, ocorrendo excesso de filagem, perda de coesão e de gordura.

Estudos realizados por meio de microscopia ótica revelaram que, durante o aquecimento da massa do queijo mussarela no processo de filagem, as proteínas se alinham em fibras paralelas, entremeadas por soro e gordura emulsificada. A disposição destas estruturas em forma de fibra é importante para as características funcionais deste tipo de queijo (McMahon et al., 1993).

## 2.9 Proteólise e estabilização do queijo mussarela para pizza

A proteólise é um conjunto de reações que influencia, de forma marcante, várias características e propriedades dos queijos. Ela é essencial para a maioria das variedades dos queijos, especialmente os maturados, nos quais é, provavelmente, a principal ocorrência bioquímica durante a maturação. Segundo Monteiro (1999), a proteólise contribui para a maturação do queijo, principalmente de quatro maneiras: contribuição direta ao *flavor* (pela formação de peptídios, aminoácidos, aminas, ácidos, tióis, tioésteres, etc.) ou *off-flavor*, sabor inadequado; facilita a liberação rápida dos componentes durante a mastigação; provoca mudança de pH, promovendo elevações via formação de amônia e mudança da textura devido à rede protéica.

Os fatores mais importantes 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 e proteínases e peptidases de microrganismos secundários (Fox e Law, 1991).

O teor de maturação é definido como sendo a degradação protéica em um queijo produzido e acondicionado sob condições previamente definidas (Venema et al., 1987). A maturação caracteriza-se pela quantificação de substâncias nitrogenadas solúveis (NS) acumuladas durante o processo de maturação e expressas como percentual do nitrogênio total (NT). Para este índice, a determinação analítica baseia-se na precipitação isoelétrica da caseína em uma amostra diluída do queijo. Neste pH 4,6, esse índice mostra a atuação das enzimas do coalho na degradação da caseína. O coalho produz, sobretudo, peptídeos de peso molecular médio e baixo, que vêm a constituir o nitrogênio solúvel em pH 4,6. É importante mencionar que os peptídeos de gosto amargo

são normalmente encontrados nessa fração e são caracterizados pela presença de três a seis aminoácidos (Minussi 1994; Lemieux & Simard, 1991).

As substâncias nitrogenadas de baixo peso molecular, acumuladas durante o processo de maturação, constituem o índice de profundidade da proteólise. Esta profundidade é avaliada por meio do teor de nitrogênio não protéico (NNP), solúvel em solução de ácido tricloroacético a 12%, ou pela determinação direta dos aminoácidos produzidos e expressos como percentual do nitrogênio solúvel total. O NNP é definido como sendo substâncias nitrogenadas de baixo peso molecular que não se precipitam na presença de ácido tricloroacético a 12% e são, conseqüentemente, quantificadas nos respectivos filtrados, (Minussi, 1994).

## **2.10 Salga dos queijos**

A utilização de salmoura com 20% de NaCl, sob temperatura de 10°C a 12°C, é o tipo de salga mais comum empregado para queijo mussarela. Esta salga produz queijo com composição química heterogênea, geralmente devido às diferenças no tamanho do queijo, temperatura da salmoura e no formato dos blocos que causam diferentes padrões de distribuição do sal. A incorporação de sal à massa e a temperatura são pontos importantes para o queijo mussarela para pizza, promovido por este tipo de salga em salmoura (Kindstedt, 1992; Kindstedt, 1997; Furtado, 1997).

É importante também ressaltar que o teor de sal afeta diretamente as características funcionais do queijo, inicialmente sobre a estrutura do queijo, provocando variação na composição química, por meio do impacto sobre a atividade enzimática (Kindstedt, 1991).

Estudos desenvolvidos por Ghosh et al. (1990) demonstraram que a faixa ótima de sal na massa do queijo mussarela para pizza é 1,5% a 1,7%, uma vez que teores mais altos podem ocasionar uma baixa capacidade de derretimento, menor proteólise e maior elasticidade da massa, além de promover emulsificação da gordura e redução do *oiling off*. A quantidade de sal afeta também o teor de açúcares no queijo, uma vez que, quanto mais alto seu teor, mais lenta será a degradação da lactose e galactose residual (Furtado, 1997; 1999).

O sal auxilia no retardo e controle do desenvolvimento de leveduras e outros fungos, influenciando na intensidade do *flavor* e na vida de prateleira, dando ao queijo um sabor característico e mais adequado, retardando o desenvolvimento da acidez, controlando o crescimento de microorganismos produtores de ácido lático. A relação entre a proteína e a água no queijo é drasticamente alterada pela presença de sal, durante a primeira semana após a fabricação, resultando em um aumento substancial da capacidade de retenção de água, com a convergência de micelas de caseína, componentes da estrutura protéica da massa, a um estágio solúvel (Ghosh et al., 1990; Kindstedt et al., 1992).

### **2.11 Elasticidade do queijo mussarela aquecido**

A elasticidade é a resistência do estiramento do queijo quando submetido à temperatura elevada durante o processo de assamento, ou seja, a resistência ao alongamento da fibra enquanto ela é estirada. O queijo mussarela aquecido deve apresentar, portanto, textura elástica com resistência adequada (Cortez, 1998).

No queijo mussarela para pizza ocorrem mudanças funcionais durante o período de estabilização sob refrigeração. A mussarela não estabilizada tende a derreter pouco, por apresentar consistência áspera e elástica. Da primeira para a

segunda semana de maturação, a textura do queijo amolece progressivamente, atingindo a sua funcionalidade ótima (Kindstedt, 1991). Durante o período de maturação, as fibras e as estruturas constituintes são transformadas em estruturas mais macias, lisas, suaves e maleáveis, apresentando moderada elasticidade. Com o envelhecimento, eventualmente, ocorre o declínio da integridade das estruturas, no qual estas se apresentam demasiadamente rígidas, perdendo a elasticidade e a maleabilidade (Kindstedt & Guo, 1997).

Outros autores relatam que a propriedade de esticamento da mussarela pode estar relacionada ao alto teor de caseína intacta e peptídeos grandes. Tem sido sugerido que a subfração  $\alpha_1$ -caseína é importante nas características funcionais, observando-se que a degradação desta no queijo mussarela é menor do que no queijo cheddar (McMahon et al., 1993; Furtado, 1997). A quimosina bovina é mais ativa na  $\alpha_1$ -caseína do que o coagulante fúngico obtido da fermentação do *Mucor miehei*, mas menos ativa na  $\beta$ -caseína (Oberg et al, 1992).

É importante mencionar que a elasticidade da massa depende tanto do nível da relação cálcio e fosfato quanto da proteólise. Ambos são fatores altamente dependentes do desempenho da cultura lática. A razão bacilos:cocos influencia as propriedades funcionais do queijo, afetando a estrutura do coágulo durante a fabricação do queijo. A velocidade e a extensão da produção de ácido, o pH do soro drenado e a desmineralização resultante no coágulo durante a fabricação são determinantes críticos da estrutura do queijo e textura, devido aos níveis de cálcio e fósforo no coágulo fresco (Sigsgaard 1994).

A atividade proteolítica da cultura lática influencia na elasticidade (Sigsgaard, 1994; Kindstedt, 1991). Portanto, a escolha específica das bactérias que irão compor a cultura do fermento a ser utilizado pode influenciar a funcionalidade do queijo e, conseqüentemente, seu uso final (Kindstedt, 1991).

É importante também mencionar que a relação da umidade e proteína influencia fortemente a proteólise, pois essa aumenta quando aumenta-se esta relação. Alta umidade e proteólise da caseína são fatores associados com as mudanças funcionais durante a maturação (Kindstedt, 1997).

## **2.12 Derretimento do queijo mussarela**

O derretimento é a capacidade de fusão das partículas de queijo, formando uma camada contínua e uniforme na superfície da pizza. O derretimento do queijo mussarela é dependente da atividade proteolítica da cultura láctica empregada e dos teores de gordura e umidade do queijo. Altos teores de gordura, umidade e proteólise intensa resultam em maior derretimento (Kindstedt 1991; Sigsgaard 1994; Oberg et al., 1992).

Quanto mais “curado” ou seja, estabilizado for o queijo mussarela, melhor será o seu derretimento sobre a pizza. O armazenamento a frio entre 2 a 3 semanas melhora o derretimento, sem prejudicar a elasticidade. Ainda pode-se enumerar outros fatores que podem afetar o derretimentos do queijo mussarela, tais como o teor de sal, pois quanto mais elevado o teor de sal do queijo, pior será o derretimento 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 (Furtado, 1999).

No início da fase de maturação, a massa do queijo mussarela é firme e fibrosa, já que o queijo recém-fabricado possui um alto teor de caseína intacta, apresentando derretimento irregular e inadequado. Aumentando gradualmente o processo de degradação da matriz protéica, aumenta também a característica de derretimento. A proteólise, como já mencionado anteriormente, é influenciada principalmente pela composição dos fermentos, agentes coagulantes, temperatura da água de filagem (Kindstedt, 1997; Furtado, 1997).



### 2.13 Liberação de óleo livre *oiling off*

Segundo Furtado (1999), o processo de liberação do óleo livre do queijo mussarela para pizza é conhecido tecnicamente como *oiling off*. Esta característica refere-se à separação excessiva de gordura durante o processo de derretimento da mussarela na pizza. A separação de gordura é um problema que ocorre com frequência em queijos mussarela utilizados no preparo de pizzas. Levando-se em consideração o teor de gordura do queijo e as altas temperaturas dos fornos, a formação de gotas de gordura do queijo em quantidades mínimas é considerada aceitável, mas nada que se compare à exsudação excessiva de óleo. O *oiling off* será mais acentuado em queijos com maior teores de gordura; o ideal seria que o queijo mussarela tivesse em torno de 40% a 42% de gordura no extrato seco, para obter, assim, um bom derretimento e boa elasticidade, sem, contudo, apresentar teores excessivos de liberação de gordura.

No decorrer do processo de filagem, o próprio aquecimento da massa do queijo mussarela permite que a matriz paracaseínica funcione como um barreira física para a gordura, sofra um colapso permitindo que os glóbulos de gordura que encontram-se mais próximo uns dos outros tendam a aglomerar-se. Presume-se que maior quantidade de gordura emulsificada apresente menor tendência de coalescer e formar verdadeiras poças de gordura, resultando em menor liberação de óleo livre durante o processo de aquecimento do queijo mussarela na pizza (Paquet & Kalab, 1998; Oliveira, 1999).

Estudos têm demonstrado que a atividade proteolítica excessiva no queijo mussarela, conseqüentemente, propiciará alto teor de óleo livre. Em queijos recém-fabricados, normalmente, nota-se menor exsudação de óleos do que naqueles que passaram por um período de estabilização (Sigsgaard, 1994). A extensão da proteólise, especialmente a quebra da subfração  $\beta$ -caseína,

influencia significativamente na liberação de óleo livre do queijo mussarela (Yun et al., 1993a).

Concentrações mais elevadas de cloreto de sódio diminuem a proteólise e permitem a emulsificação da fase gordurosa, diminuindo a liberação da gordura. Queijos com menor concentração de cloreto de sódio e maior teor de gordura, principalmente logo após a salga na sua porção interna, são mais propensos a separar a gordura na pizza durante o processo de derretimento. Por meio da troca iônica, o sódio desloca o cálcio do paracaseinato, aumentando a sua capacidade emulsificante e, em consequência, com maior poder de retenção de gordura. A menor separação de gordura ocorreria, então, na mussarela mais jovem (Furtado, 1999).

Yun et al. (1993b) processaram queijos mussarela utilizando três diferentes agentes coagulantes: protease *Cryphonectria parasitica*, protease *Mucor miehei* e quimosina derivada de fermentação. Neste experimento observou-se que a liberação do óleo livre dos queijos fabricados com a protease da primeira aumentou continuamente, devido à maior extensão da proteólise, mas o óleo livre dos queijos feitos com outros coagulantes tornou-se constante após três semanas de estocagem refrigerada.

É importante enumerar que todos os fatores que tendem a aumentar a proteólise, obviamente influenciam nos problemas relacionados ao aumento do *oiling off* (Furtado, 1999).

#### **2.14 Coloração do queijo mussarela (escurecimento não enzimático)**

O processo de escurecimento ocorre quando o alimento é aquecido a elevadas temperaturas, resultando numa degradação e deterioração que envolvem açúcares e proteínas, podendo assim, afetar a cor, o sabor e o valor

nutricional desse alimento. A reação de Maillard é uma das reações mais importantes envolvendo alimentos ricos em açúcares redutores como o leite e alguns de seus derivados (Brien e Morrissey, 1989).

No caso do queijo mussarela para pizza, o escurecimento não enzimático que aparece no produto é resultante, em parte, de reações induzidas pelo calor entre os açúcares e as proteínas durante o processo de assamento (Kindstedt, 1994).

A galactose parece ser muito mais reativa nas reações térmicas do que a glicose e muito mais do que a lactose. No queijo, ocorrendo o processo de proteólise promovida pelas enzimas do coalho e culturas lácteas, e havendo um acúmulo de açúcares, como a lactose e galactose no queijo, cria-se potencial para a reação de Maillard (Bley et al., 1985; Furtado 1997).

O acúmulo da galactose, resultante de uma fermentação incompleta da lactose pela cultura lática, é o maior determinante do escurecimento. Muitas estirpes do *Streptococcus salivarius subesp. thermophilus* utilizam apenas a glicose da lactose, liberando galactose livre que se acumula no meio, ao contrário de outras, como algumas estirpes de *Lactobacillus delbruekii subesp. bulgaricus* que são hábeis para fermentar a glicose e galactose, tanto quanto a lactose para ácido láctico (Johnson & Olson, 1985; Kindstedt, 1994).

A proteólise secundária, ou seja, a hidrólise dos grandes peptídeos para peptídeos menores e aminoácidos ocorre por meio da ação de culturas lácticas inicialmente adicionadas ao leite e tem papel crucial no desenvolvimento das características de escurecimento do queijo (Kindstedt & Guo, 1997).

Concentrações mais elevadas de cloreto de sódio no queijo mussarela para pizza podem interferir no escurecimento, pois, o sal age inibindo a cultura lática e, conseqüentemente, ocorre o surgimento de altos teores de lactose e galactose não degradadas (Bley et al, 1985; Sigsgaard, 1994; Kindstedt, 1991).

Furtado (1998) relata que o escurecimento não enzimático no queijo mussarela ocorre devido à presença de grupamentos amino livres dos aminoácidos e grupamentos carbonila do açúcar redutor, que são influenciados por uma série de fatores, tais como:

- cultura lática utilizada: os microrganismos galactose negativos não são capazes de metabolizar a galactose que se acumula no queijo;
- utilização de coalho muito proteolítico levando à formação de grupamentos amino livres com potencial de participação da reação de Maillard;
- uso de altas temperaturas de filagem, que causariam injúria celular, com perda da capacidade de ação da cultura lática em metabolizar os carboidratos, originando um alto teor residual de lactose e galactose no queijo;
- períodos de armazenamento prolongados, levando à extensa proteólise e formação de grupo amino;
- excesso de umidade do queijo, favorecendo a proteólise, além de estar relacionado com elevada quantidade de soro que contém alto teor de lactose;
- alto teor de cloreto de sódio, inibindo a ação bacteriana.

### **2.15 Formato e estocagem do queijo mussarela para pizza**

O queijo mussarela para pizza é moldada em blocos retangulares, podendo ser manual ou por máquinas moldadeiras. Após o processo de moldagem, os queijos são colocados em água gelada por um tempo máximo de duas horas, quando os mesmos adquirem maior firmeza e remove-se parte da gordura superficial para, em seguida, serem levadas à salga (Valle et al., 1995).

Com relação ao tipo de embalagem, o plástico termoencolhível tem sido o tipo mais utilizado para o queijo mussarela em peça. O fechamento das embalagens é feito a vácuo e, em seguida, o produto embalado é mergulhado num banho de 85°C a 95°C, por um tempo não superior a cinco segundos, ou passa por um túnel com jatos de água quente para que ocorra o encolhimento do plástico, o que auxilia na resistência mecânica da embalagem, melhoria do aspecto e redução do espaço livre (Monteiro, 1999).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras (DCA-UFLA), visando avaliar as características funcionais (derretimento, elasticidade, perda de óleo livre *oiling off* e o escurecimento não enzimático ou seja, a cor após o aquecimento do queijo mussarela para pizza fabricado com leite de búfala. Para o procedimento experimental foram feitas três repetições consecutivas, utilizando dois coagulantes diferentes: coalho bovino (80% pepsina e 20% quimosina) e o agente coagulante mucorpepsina obtido da fermentação do fungo *Mucor miehei*. Ambos foram filados com água em diferentes temperatura (75°C, 85°C e 95°C). Foram utilizados 47 litros de leite de búfala integral para cada tipo de coalho nas três repetições e os queijos foram salgados em salmoura estática e estabilizados em câmara de resfriamento (9°C ± 1) por 3, 7, 17, 27 e 35 dias após o processo de filagem dos mesmos.

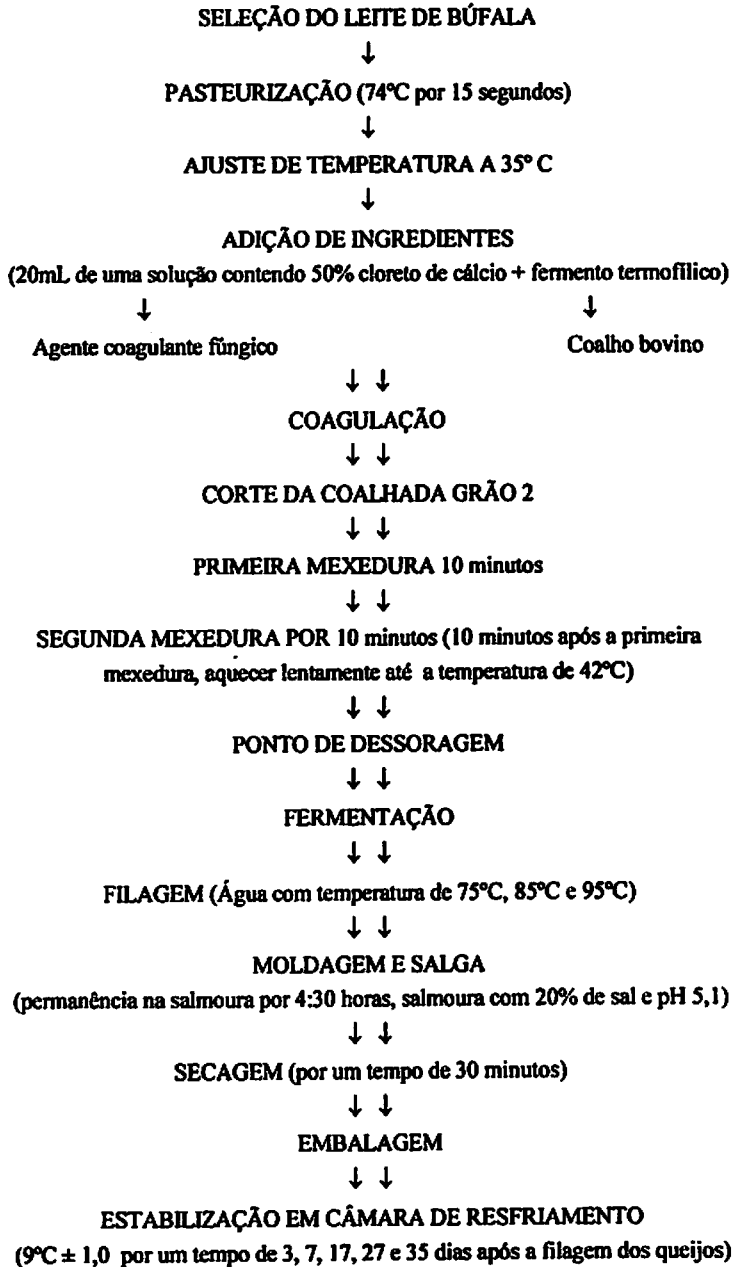
#### 3.1 Matéria-prima: leite de búfala (*Bubalus bubalis*) e o processo de fabricação do queijo mussarela

O leite de búfala (*Bubalus bubalis*) utilizado neste experimento era proveniente da Fazenda Pedreira, situada no município de Oliveira, MG. O leite integral foi pasteurizado na usina de beneficiamento de leite da Faepe em Ijaci, MG, utilizando-se temperaturas de 74°C por 15 segundos. Após o processo de pasteurização, foi transportado até a fábrica de laticínios Verde Campo em Lavras, MG, onde todo o processo de fabricação do queijo foi realizado. O lote de leite pasteurizado foi dividido em dois tanques de aço inoxidável, onde procedeu-se a fabricação dos queijos mussarela.

As análises do leite de búfala, soro e queijo mussarela para pizza foram realizadas no Laboratório de Laticínios do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras (DCA – UFLA).

O queijo mussarela de leite de búfala foi fabricado utilizando-se a mesma metodologia empregada pelas fábricas de laticínios do sul do estado de Minas Gerais, conforme fluxograma da Figura 4. O procedimento é uma adaptação à técnica de fabricação do queijo mussarela descrita por Furtado (1997). O leite de búfala não foi padronizado, como ocorre na fabricação industrial para o leite de vaca. Os queijos permaneceram por um período menor de tempo na salmoura estática, pois, o queijo mussarela elaborado com leite de búfala é tradicionalmente menos salgado do que a mussarela de leite de vaca.

Após a moldagem dos queijos de aproximadamente 500 gramas, eles foram resfriados em água gelada a 4°C por 30 minutos e, posteriormente, levados à salmoura por quatro horas e trinta minutos. Após a salga, os queijos foram colocados em uma prateleira para escorrer por aproximadamente meia hora e embalados, posteriormente, pelo processo a vácuo e mantidos em câmara de resfriamento a uma temperatura constante de (9°C ± 1) até o término das análises, ou seja, por um período de 35 dias após a sua fabricação.



**FIGURA 4.** Fluxograma da fabricação do queijo mussarela de leite de búfala.

**Fonte:** Adaptação (Furtado 1997)



A seguir estão especificados alguns pontos da seqüência de fabricação do queijo mussarela:

- cultura lática – foi utilizada na fabricação do queijo mussarela para pizza de leite de búfala com diferentes tipos de coalhos, a cultura lática termofílica FD-DVS (Direct Vat Set), contendo *Streptococcus salivarius subesp. thermophilus* e *Lactobacillus helveticus*. Essa cultura tem como característica a ausência de produção de gás, atividade proteolítica média e sensibilidade ao sal, que varia de 50% de inibição em presença de 2,6% de NaCl e 100% de inibição em 3,5% de NaCl;
- coalhos - foi empregado coalho líquido de origem bovina que é um produto obtido a partir de estômago (abomaso) de animal adulto contendo 20% de quimosina (EC 3.4.23.4) e 80% de pepsina (EC 3.4.23.1). Agente coagulante fúngico Mucorpepsina (E.C.3.4.23.23) obtido da fermentação do fungo *Mucor miehei*;
- cloreto de cálcio - utilizou-se o cloreto de cálcio numa proporção equivalente a 20 gramas de cloreto de cálcio para cada 100 litros de leite previamente pasteurizado;
- salga dos queijos - foi utilizada uma salmoura estática contendo 20% de sal, pH 5.1, temperatura 10°C e uma proporção equivalente a três litros de salmoura para cada quilo de queijo adicionada à mesma. As peças do queijo mussarela de 500 gramas permaneceram na salmoura por um tempo de quatro horas e trinta minutos;
- especificação dos tratamentos - foram estabelecidos seis tratamentos, sendo: Tratamento 1: coalho bovino + cultura lática termofílico + temperatura da água de filagem a 95°C; Tratamento 2: coalho bovino + cultura lática termofílico + temperatura da água de filagem a 85°C; Tratamento 3: coalho bovino + cultura lática termofílico + temperatura da água de filagem a 75°C;

Tratamento 4: coalho fúngico + cultura lática termofílico + temperatura da água de filagem a 95°C; Tratamento 5: coalho fúngico + cultura lática termofílico + temperatura da água de filagem a 85°C; Tratamento 6: coalho fúngico + cultura lática termofílico + temperatura da água de filagem a 75°C.

### **3.2 Análises físico-químicas do leite de búfala em algumas etapas de fabricação do queijo, da força do coalho, do soro do queijo mussarela, da água de filagem da massa e análises do queijo mussarela do leite de búfala**

#### **3.2.1 Análises do leite de búfala cru e pasteurizado**

Foram realizadas as seguintes análises físico-químicas do leite de búfala cru e pasteurizado, de acordo com a normatização oficial do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (Brasil, 2003):

- acidez titulável – as amostras foram analisadas utilizando-se o método da titulação com hidróxido de sódio N/9 (solução Dornic), com a utilização do indicador fenolftaleína;
- pH - foi utilizado um pH-metro da marca Hanna Instruments, modelo 8341, com eletrodo de vidro modelo Gehaka série A 28714, previamente calibrado, leitura direta do potenciômetro na amostra. O objetivo desta análise é avaliar a concentração de íons de hidrogênio na amostra;
- gordura – as percentagens de gordura foram determinadas pelo método butirométrico de Gerber, utilizando-se butirômetro original Gerber;
- densidade – foi determinada com leitura direta em termolactodensímetro, previamente calibrado, corrigindo-se o efeito da temperatura;

- extrato seco total (EST) – uma vez conhecendo-se os valores de densidade e gordura, foi utilizado o método indireto, utilizando-se a fórmula de Fleishmann;
- determinação dos teores de nitrogênio total (NT) – o método utilizado foi o Kjeldahl. 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 a conversão dos teores de nitrogênio para proteína bruta foi de 6,38;
- determinação dos teores de nitrogênio não protéico (NNP em TCA 12%) – as amostras foram precipitadas com ácido tricloroacético (TCA) a 24%, obtendo-se concentrações finais de 12% e filtrado em papel de filtro WHATMAN 42. O nitrogênio contido nesta solução foi denominado nitrogênio não protéico, que foi determinado pelo método de Kjeldahl. O fator utilizado foi 3,60.

Para certificar a eficácia do processo de pasteurização do leite, foi realizado o teste da enzima fosfatase alcalina, por meio do kit fosfatase alcalina (DIASYS) da Diagnóstico Systems GmbH & Co. KG D-65558 Holzheim, Germany. O resultado negativo deste teste indica a eficácia da pasteurização.

### **3.2.2 Análises da força do coalho, do soro do queijo mussarela elaborado com leite de búfala e da água de filagem da massa dos queijos**

- Força dos coagulantes - para a determinação da atividade coagulante do coalho e do agente coagulante utilizou-se a metodologia conforme determinam os métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos (Brasil, 2003). Consiste em determinar o tempo de coagulação de um volume de leite a 35°C, por uma quantidade de coalho

conhecida, baseada na propriedade que têm as enzimas do coagulante de desdobrar a caseína do leite. Esta avaliação permitiu a utilização da quantidade adequada do coalho bovino e do agente coagulante fúngico a ser empregado nas condições específicas deste trabalho.

- Soro de queijo mussarela de leite búfala - as amostras do soro do queijo mussarela foram coletadas cinco minutos após o corte da coalhada e analisadas em triplicata. Foram realizadas as seguintes análises para o soro: acidez titulável, pH, gordura, extrato seco total (EST), densidade, nitrogênio total (NT) e nitrogênio não protéico - TCA 12% (NNP), de acordo com a normatização oficial do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (Brasil, 2003).
- Água de filagem da massa do queijo - as amostras da água de filagem foram coletadas no momento da filagem do queijo mussarela e as análises de gordura para cada tratamento do coalho bovino e do agente coagulante fúngico foram realizadas em triplicata (Brasil, 2003). Na filagem foi utilizado um volume de água quente equivalente a três litros de água para um quilo de massa a ser filada (Valle, 1989).

### **3.2.3 Análises do queijo mussarela de leite de búfala**

No terceiro dia após a fabricação dos queijos foram realizadas as seguintes análises, de acordo com a metodologia oficial (Brasil, 2003), exceto para análise de cloreto, em que foi utilizado a metodologia da A.O.A.C (1995):

- umidade – o teor de sólidos totais foi determinado por meio da evaporação da água da amostra na presença de areia, a uma temperatura determinada em estufa de secagem;

- gordura – baseia-se no ataque seletivo da matéria orgânica por meio de ácido sulfúrico, com exceção da gordura que será separada por centrifugação, auxiliada pelo álcool amílico, que modifica a tensão superficial;
- cloreto de sódio (NaCl) - foi utilizado o método de titulação com tiocianato de potássio a 0,1N;
- matéria seca e gordura no extrato seco (G.E.S) – foram realizadas por método indireto (cálculo) (Brasil, 2003).

No período de estabilização dos queijos, compreendido por 7, 17, 27 e 35 dias após a filagem dos mesmos, foram realizadas as análises descritas a seguir:

- pH - foi utilizado um pH-metro da marca Hanna Instruments, modelo 8341, com eletrodo de vidro modelo Gehaka série A 28714, previamente calibrado. Esta análise tem como princípio a medida da concentração de íons hidrogênio na amostra (Brasil, 2003).
- Acidez titulável - as amostras foram analisadas utilizando-se o método da titulação com hidróxido de sódio 0,1N com indicador fenolftaleína e os resultados expressos em graus Dornic ou grama de ácido láctico por 100 gramas de queijo (Brasil, 2003).
- Determinação da coloração do queijo mussarela após aquecimento (Indicativo de escurecimento não enzimático *browning*).

A coloração do queijo após aquecimento (escurecimento não enzimático) é caracterizada pela formação de uma camada superficial contendo manchas, cuja coloração varia do amarelo ao marrom-escuro, quando o queijo mussarela é submetido a altas temperaturas em fornos (aproximadamente 300°C por oito

minutos). Neste experimento foi utilizada uma temperatura constante de 280°C por quatro minutos. Após aquecimento controlado, a cor do queijo (escurecimento não enzimático) foi determinada com emprego de um colorímetro. A determinação da cor foi padronizada de acordo com Mukherjee & Hutkins (1994), cujos procedimentos foram:

- colocaram-se aproximadamente 28 gramas de queijo mussarela ralado em uma forma de alumínio com 12 Cm de diâmetro;
- amassou-se o queijo com os dedos para formar uma massa plana e uniforme no fundo da forma;
- aqueceu-se por quatro minutos em forno elétrico com temperatura constante de 280°C;
- as amostras foram resfriadas à temperatura ambiente antes da determinação dos índices de cor;
- fez-se leitura num colorímetro, sistema CIEL\*a\*b\*.

As análises de cor foram realizadas com o auxílio de um colorímetro de marca MINOLTA (Chroma Meter, M CR-300b), calibrado para um padrão branco em ladrilho (Bressan, 1998). Utilizou-se o sistema CIEL\*a\*b\*, que é composto pelos índices a\* = verde até vermelho; b\* = azul até amarelo; L\* = escuro até claro;  $\Delta E^*$  = intensidade das cores, que foi calculada a partir da seguinte equação  $\Delta E^* = [(dL^*)^2 + (da^*)^2 + (db^*)^2]^{1/2}$ , sendo “d” a diferença total das cores entre a amostra (queijo aquecido) e o padrão, que foi considerado o queijo mussarela ralado sobre a placa de alumínio antes de sofrer o processo de aquecimento. As medidas do índice de cor foram realizadas em três pontos diferentes em cada placa em triplicata, após o resfriamento do queijo em temperatura ambiente por trinta minutos. Os resultados finais para cada índice foram representados pela média das amostras em triplicatas (Bley et al., 1985).

O processo de aquecimento do queijo mussarela por quatro minutos a 280°C, em vez de apenas dois minutos a 260°C, conforme preconizam Mukherjee & Hutkins (1994) para mussarela de leite de vaca, foi realizado no Laboratório de Grãos e Cereais do DCA-UFLA. Utilizou-se um forno elétrico marca Layr modelo luxo 110 volts, com temperatura e tempo controlados.

- Determinação da separação de gordura ou óleo livre, *oiling off*, do queijo mussarela para pizza, elaborado com leite de búfala.

O método de separação de gordura do queijo baseia-se na determinação da gordura livre do mesmo *free oil* e não daquela gordura retida na forma emulsificada pela caseína (Kindstedt & Rippe 1990). A técnica adotada para o processamento das análises foi a de Gerber, modificada por Kindstedt & Fox (1991) e cujos procedimentos foram:

- colocaram-se em um tubo de ensaio rosqueado de 200 mm, seis gramas de queijo mussarela ralado;
- colocaram-se os tubos em água fervente por quatro minutos;
- foram adicionados 10 mL de água acidificada com HCl (pH 2,2);
- levou-se ao banho-maria, a 60°C, por um minuto;
- centrifugou-se por 5 minutos;
- foram adicionados 10 mL de uma solução de água:metanol (1:1);
- levou-se ao banho-maria a 60°C por um minuto;
- centrifugou-se por 2 minutos;
- levou-se novamente ao banho-maria, a 60°C, por um minuto;

- transferiu-se a gordura com pipeta de Pasteur (acoplada com uma përa) para o butirômetro de Gerber com a solução de água:metanol (1:1). Repetiu-se o processo para limpar a pipeta e retirar o máximo da gordura que estiver retida. Se necessário, completar o volume com uma solução de água:metanol;
- fechou-se o butirômetro e agitou-se;
- levou-se ao banho-maria, a 60°C, por um minuto;
- centrifugou-se por dois minutos;
- levou-se ao banho-maria a 60°C, por dois minutos e fez-se a leitura.

Cálculo:  $FO = (\% \text{ gordura do queijo}) = \text{Valor de leitura}/2$

FO = liberação de óleo livre, *free oil*

- Determinação do derretimento do queijo mussarela para pizza, processado com leite de búfala,

A metodologia adotada para estas análises foi o método de Scheiber, descrito por Kosikowski, (1978), que consiste no derretimento de uma amostra de queijo em temperatura e tempo definidos e posterior cálculo percentual da área derretida com relação à área inicial. Os procedimentos adotados foram:

- as amostras foram retiradas da parte interna e superficial do queijo (1,5 x 0,5 cm), com auxílio de um sonda própria para coletar amostra de queijo;
- em seguida, as amostras foram colocadas em papel de filtro Whatman n° 42 e levadas ao forno com temperatura constante de 110°C por cinco minutos; em seguida, as amostras foram esfriadas em temperatura ambiente;



- mediu-se a expansão da amostra pelo aumento da área derretida em relação à amostra original antes do derretimento. Utilizou-se a fórmula descrita abaixo para os cálculos:

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

Sendo: A1 – área inicial da amostra

A2 – área da amostra circular após o derretimento

- Na determinação da área de expansão do queijo derretido, foi utilizado um planímetro marca Mom Budapest Bné série 142020 de compensação polar com o pólo externo. Calculou-se uma média partindo-se de três leituras no planímetro para a estimativa da área, a qual, posteriormente, multiplicou-se pelo fator de correção, de acordo com Souza (1978).
- Determinação da elasticidade do queijo mussarela para pizza, elaborado com leite de búfala.

A elasticidade do queijo mussarela para pizza fundamenta-se em determinar a capacidade de formar fios, quando o queijo fundido é puxado. As análises foram feitas de acordo com a metodologia de avaliação, segundo as especificações de Apostolopoulos (1994), que consiste de um teste instrumental empírico que se assemelha às condições do comportamento do queijo sobre a pizza, ao ser manipulado pelo consumidor. O método adotado consiste em:

- utilizar uma placa de aço circular com 165 mm de diâmetro, dotada de um orifício central móvel com 9 mm de diâmetro;
- espalhar noventa gramas de queijo ralado sobre a massa da pizza cortada, de acordo com o molde da placa, ou seja, com 165 mm de diâmetro;
- levar ambos ao forno elétrico, com temperatura constante de 280°C, por quatro minutos;

- ao retirar a pizza do forno devidamente assada, a parte central da mesma deverá ser montada no centro do equipamento de teste controlado por um motor;
- a circunferência central será puxada verticalmente, esticando-se o queijo derretido a uma velocidade de 1500 mm/minuto;
- a extensibilidade do queijo será considerada como a distância percorrida pelo bastão central, até que todos os fios das extremidades do queijo sejam rompidos.

De acordo com Apostolopoulos, (1994b), este teste pode ser usado para mensurar objetivamente uma das características funcionais mais importantes do queijo mussarela para pizza que é a elasticidade.

### **3.3 Análises estatísticas**

Para a realização das análises estatística, foi utilizado o software SISVAR 4.0 (Ferreira, 2000). O experimento foi conduzido seguindo-se um delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 2 x 3, subdividido no tempo, sendo;

- 2 tipos de agentes coagulantes (coalho bovino e agente coagulante fúngico);
- temperaturas de água de filagem ( 75°C, 85°C e 95°C);
- períodos de estabilização para análises com 3, 7, 17, 27 e 35 dias após o processo de filagem da massa dos queijos.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Análises físico-químicas do leite de búfala cru e pasteurizado

Na Tabela 3, encontra-se o resultado das análises físico-químicas do leite de búfala cru.

**TABELA 3.** Valores médios físico-químicos do leite de búfala cru utilizado na fabricação dos queijos mussarela para pizza.

| Variáveis                                 | Leite de búfala cru |
|---|---------------------|
| Acidez titulável (g ácido láctico/100 mL) | 0,23                |
| pH  | 6,60                |
| Gordura (g/100g)                          | 7,50                |
| Densidade relativa 15/15°C (g/mL)         | 1033,80             |
| Extrato seco total (g/100g)               | 17,74               |
| Extrato seco desengordurado (g/100g)      | 10,21               |
| Proteína total (g/100g)                   | 4,62                |

Os valores obtidos foram semelhantes aos descritos por Ferrara & Intriери (1992); Cockrill (1974) e Amaral et al., (2004). Os valores de acidez titulável e do pH não estão de acordo com os valores verificados para o leite de vaca que são 0,18 e 6,4, respectivamente (Brasil, 2002). Isto ocorre devido o fato do leite bubalino apresentar elevado teor de caseína, conferindo um efeito tampão, ocasionando uma elevação na acidez titulável sem influência aparente no pH (Furtado, 1980b).

O leite de búfala, após passar pelo processo de pasteurização (74°C por 15 segundos) foi submetido ao teste da presença da enzima fosfatase alcalina, avaliando, dessa forma, a eficiência do tratamento. Encontraram-se resultados negativos para a presença da referida enzima no leite, caracterizando assim a eficácia do processo de pasteurização. Conforme Abreu (2000), a temperatura de inativação da enzima fosfatase alcalina encontra-se abaixo do binômio tempo e temperatura usual do processo de pasteurização do leite que é 72°C a 75°C, por 15 a 20 segundos ou 62°C a 65°C por 30 minutos.

#### 4.2 Análise físico-química do soro de queijo mussarela elaborado com leite de búfala e da gordura presente na água de filagem da massa do queijo.

Na Tabela 4, estão descritos os valores médios das análises do soro do queijo mussarela cinco minutos após o corte da coalhada.

**TABELA 4.** Valores médios de três repetições das análises físico-química do soro de leite de búfala, obtidos por ação de coalho bovino e agente coagulante fúngico.

| Variáveis                                 | Coagulante fúngico | Coalho bovino |
|---|--------------------|---------------|
| Acidez titulável (g. ácido láctico/100mL) | 0,12               | 0,14          |
| pH  | 6,40               | 6,30          |
| Gordura (g/100g)                          | 1,32               | 1,87          |
| Densidade relativa 15/15°C (g/mL)         | 1028,70            | 1027,60       |
| Extrato seco total (g/100g)               | 8,96               | 9,67          |
| Extrato seco desengordurado (g/100g)      | 7,62               | 7,82          |
| Nitrogênio total (g/100g)                 | 0,23               | 0,23          |
| Nitrogênio não protéico (g/100g)          | 0,057              | 0,054         |

Os resultados encontrados para nitrogênio total foram iguais, tanto para o soro do coalho bovino como para o soro obtido do agente coagulante fúngico; já o valor de nitrogênio não protéico em TCA 12% foi maior para o soro obtido do agente coagulante fúngico, demonstrando assim provável maior capacidade proteolítica para este coagulante. Os dados encontrados foram semelhantes aos obtidos por Oberg et al. (1992), porém, trabalhando com leite de vaca.

Os valores encontrados de pH, densidade, extrato seco total e desengordurado para o soro do queijo, obtido pela ação do coalho bovino apresentaram diferenças, embora pequena, em relação ao agente coagulante fúngico. Provavelmente, a diferença nestes valores tenha ocorrido devido ao fato do coalho bovino ser dependente de pH para atuação adequada no processo de coagulação. Já o agente coagulante fúngico age independentemente do pH, promovendo o processo de coagulação mais rápido do que o coalho bovino. Entretanto, quanto mais tempo demora a coagulação do leite, maior será a produção de ácido proveniente da ação da cultura lática utilizada e, conseqüentemente, ocorre a redução nos valores de pH deste queijo, podendo atingir o ponto de filagem da massa mais rápido, o que está de acordo com o citado por Oberg et al. (1992) e Monteiro (1999). Os valores do percentual de gordura no soro do coalho bovino foram ligeiramente maiores do que no soro originado do agente coagulante fúngico. Isto provavelmente ocorreu devido à falha no processo de homogeneização do leite no ato da divisão em dois lotes para iniciar o processo de fabricação com os diferentes coagulantes. Conseqüentemente, o valor mais elevado do teor de gordura no soro obtido por ação do coalho bovino interferiu também nos valores de densidade e extrato seco total do mesmo.

Na Tabela 5, encontram-se as médias dos valores observados para perda de gordura na água de filagem da massa do queijo mussarela. Observa-se que, com o aumento da temperatura da massa durante o processo de filagem, ocorreu

maior desprendimento de gordura na água tanto para o coalho bovino como para o agente coagulante fúngico.

**TABELA 5.** Valores médios da gordura na água de filagem da massa dos queijos mussarela de leite de búfala, obtidos por ação de coalho bovino e agente coagulante fúngico em diferentes temperaturas.

| <b>Temperatura da água de filagem</b> | <b>Coalho bovino</b> | <b>Coagulante fúngico</b> |
|---------------------------------------|----------------------|---------------------------|
| 75°C                                  | 0,63                 | 1,26                      |
| 85°C                                  | 0,96                 | 1,56                      |
| 95°C                                  | 1,36                 | 2,13                      |

Observou-se também que o queijo fabricado com o coagulante fúngico teve maior acréscimo nos valores da gordura presente na água de filagem. Esta diferença pode estar relacionada com maior atividade proteolítica do coagulante fúngico, enfraquecendo, portanto, 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 (McMahon & Oberg 1996).

#### **4.3 Análises dos queijos mussarela para pizza elaborado com leite de búfala**

Na Tabela 6, apresentam-se os resultados das médias das análises dos queijos mussarela no terceiro dia após a fabricação.

**TABELA 6.** Composição físico-química dos queijos mussarela fabricados com coalho bovino e agente coagulante fúngico, filados sob três temperaturas diferentes e mantidos a ( $9^{\circ}\text{C} \pm 1,0$ ) por três dias após a sua fabricação.

| Análises físico-químicas      | Coalho bovino adulto |       |       | Coagulante fúngico |       |       |
|-------------------------------|----------------------|-------|-------|--------------------|-------|-------|
|                               | 75°C                 | 85°C  | 95°C  | 75°C               | 85°C  | 95°C  |
| Temperatura de filagem        | 75°C                 | 85°C  | 95°C  | 75°C               | 85°C  | 95°C  |
| Cloreto de sódio (% m/v)      | 1,11                 | 1,09  | 1,11  | 1,15               | 1,18  | 1,28  |
| Matéria seca (g/100g)         | 60,47                | 60,78 | 59,18 | 61,49              | 61,03 | 60,79 |
| Umidade (g/100g)              | 39,51                | 39,20 | 40,80 | 38,50              | 38,96 | 39,21 |
| Gordura extrato seco (g/100g) | 49,14                | 54,31 | 52,87 | 52,14              | 51,36 | 48,51 |
| Gordura (g/100g)              | 29,77                | 32,94 | 31,33 | 31,83              | 31,16 | 29,33 |

Os valores da concentração média de cloreto de sódio encontrados para os queijos mussarela de leite búfala ficaram abaixo da faixa ótima (1,5% a 1,7% de NaCl) recomendada para o queijo elaborado com leite de vaca Christensen (1966). Isto ocorreu, provavelmente, devido às peças de queijo com 500 gramas terem permanecido em salmoura estática somente por quatro horas e trinta minutos.

É importante mencionar que o teor de cloreto de sódio nos queijos influencia em suas características funcionais de derretimento, elasticidade e perda de óleo *oiling off*, podendo acelerar ou retardar estas mudanças no queijo mussarela para pizza (Kiely et al., 1992).

Neste experimento, os valores médios encontrados para a umidade nos queijos mussarela de leite de búfala variaram entre 38,50% a 40,80%, estão, portanto, de acordo com os resultados relatados por Ferrara & Intrieri, (1975), que foram 38% a 45% para o mesmo tipo de queijo. Entretanto, estes valores foram inferiores aos preconizados por Furtado & Lourenço Neto, (1994) para o

queijo mussarela para pizza processado com leite de vaca, que foram de 43% a 46%. A diferença nos valores de umidade no queijo mussarela destas espécies provavelmente está relacionado com o elevado percentual de grandes micelas de caseína no leite de búfala, em comparação com o de vaca. Como consequência, a coalhada do leite de búfala possui dificuldade em reter umidade e, conseqüentemente, os queijos tendem a ser mais secos. No leite de vaca, isto não ocorre, pois, as micelas menores são muito mais hidratadas (Ganguli, 1979; Furtado, 1999).

Quanto aos teores de gordura para este queijo, foram encontrados valores entre 29,33% e 32,94%, o que difere dos valores encontrados por Verruama, (1993) que foram de 44,10%. Provavelmente, estes valores estão diferentes em função das altas temperaturas da água de filagem, juntamente com a proporção de água e massa utilizados no processo de filagem deste queijo que foi de 3:1, ou seja, três litros de água quente para cada um quilo de massa a ser filada num tempo não superior a 7 minutos. Já para o queijo mussarela de leite de vaca para pizza, os valores ideais variam entre 22% a 24% de gordura (Furtado, 1990).

#### **4.3.1 Valores de acidez titulável e pH dos queijos mussarela para pizza elaborados com leite de búfala**

Conforme a Tabela 7, observa-se que o coalho bovino e o agente coagulante fúngico, nas três temperaturas de filagem, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas sobre a acidez titulável e o pH dos queijos ( $p > 0,05$ ). Também não foi significativa a interação entre os dois tipos de coagulantes e as temperaturas de filagem ( $p > 0,05$ ). Já a interação dos coagulantes com o período de estabilização promoveu alterações significativas ( $p < 0,05$ ) na acidez titulável e no pH dos queijos. O período de estabilidade dos



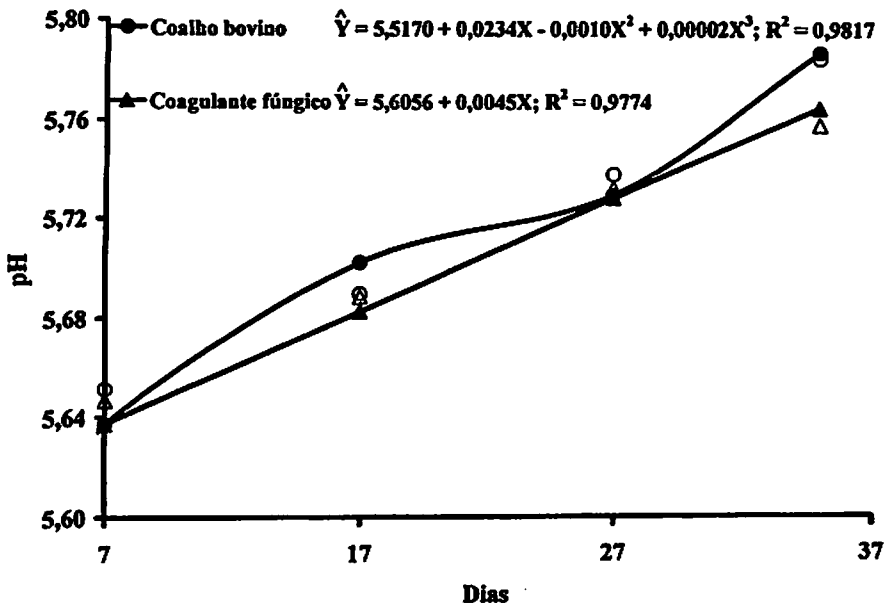
mesmos em função dos coagulantes empregados também foi estatisticamente significativo ( $p < 0,01$ ).

**TABELA 7.** Valores médios de acidez titulável e pH dos queijos mussarela para pizza processado com leite de búfala, utilizando coalho bovino e o agente coagulante fúngico, submetidos a três temperaturas de filagem (75°C, 85°C e 95°C) e estabilizados a 9°C  $\pm$  1,0, por 3, 17, 27 e 35 dias após a fabricação.

| Variáveis                               | Dias | Coalho bovino |       |       | Coagulante fúngico |       |       |
|---|------|---------------|-------|-------|--------------------|-------|-------|
|   |      | 75°C          | 85°C  | 95°C  | 75°C               | 85°C  | 95°C  |
| pH                                      | 3    | 5,58          | 5,53  | 5,61  | 5,61               | 5,59  | 5,61  |
|   | 7    | 5,66          | 5,65  | 5,65  | 5,62               | 5,66  | 5,66  |
|   | 17   | 5,68          | 5,70  | 5,69  | 5,67               | 5,69  | 5,70  |
|   | 27   | 5,74          | 5,73  | 5,74  | 5,72               | 5,74  | 5,74  |
|   | 35   | 5,77          | 5,78  | 5,80  | 5,74               | 5,76  | 5,77  |
| Acid. titulável<br>(g. ácido lát./100g) | 3    | 0,508         | 0,510 | 0,514 | 0,551              | 0,517 | 0,521 |
|   | 7    | 0,469         | 0,491 | 0,484 | 0,499              | 0,491 | 0,465 |
|   | 17   | 0,460         | 0,469 | 0,454 | 0,465              | 0,449 | 0,449 |
|   | 27   | 0,424         | 0,431 | 0,390 | 0,446              | 0,430 | 0,435 |
|   | 35   | 0,400         | 0,390 | 0,364 | 0,440              | 0,411 | 0,422 |

- **Valor de pH dos queijos mussarela de leite de búfala em estudo**

Na Figura 5 encontram-se as alterações significativas de pH durante a estabilização dos queijos ( $p < 0,01$ ) por até 35 dias após a fabricação.



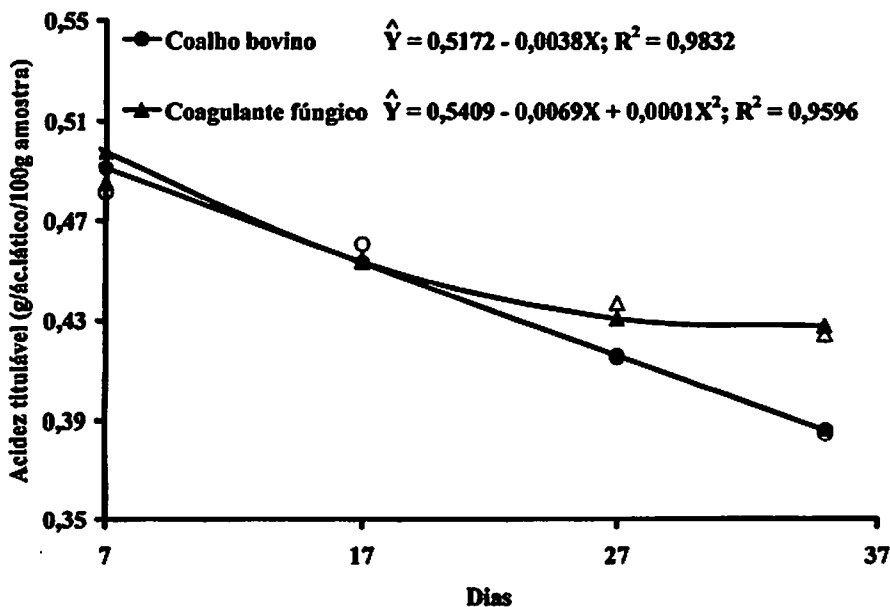
**FIGURA 5.** Evolução do pH dos queijos obtidos por ação do coalho bovino e agente coagulante fúngico durante o período de estabilização, sob refrigeração de  $9^{\circ}\text{C} \pm 1,0$ .

O gráfico demonstra uma tendência de elevação do pH durante todo o período de estabilização do queijo, ou seja, do 3° ao 35° dia. Os valores encontrados de pH estão de acordo com os dados publicados por Ferrara & Intriери (1975). Esta elevação nos valores do pH durante o período de estabilização, ou seja, do 3° ao 35° dia após o processo de filagem dos queijos, provavelmente está relacionada com a proteólise ocorrida no queijo, contribuindo para a formação de compostos alcalinos nitrogenados pela desaminação de aminoácidos livres, além do catabolismo do ácido láctico durante o período de estabilização sob refrigeração ( $9^{\circ}\text{C} \pm 1$ ) (Farkye & Fox, 1990).

O pH do queijo está diretamente relacionado com a proteólise ocorrida no mesmo durante o período de estabilização e o pH da massa no momento da filagem, juntamente com o grau de acidificação ocorrida durante o processo de fermentação (Cortez, 1998). Conforme já mencionado anteriormente, a interação entre coagulantes e o período de estabilização foi estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ). Portanto, o queijo produzido com o coalho bovino atingiu um índice de acidificação maior no terceiro dia após a filagem. Houve, portanto, um aumento do pH em comparação com o coalho fúngico após o 7º dia de filagem até o 27º dia. Logo após, aumentou novamente o valor do pH em relação ao coalho fúngico. Isto ocorreu, provavelmente, pelo fato do coalho bovino ter demorado, em média, 15 minutos a mais do que o coagulante fúngico para promover o processo de coagulação do leite. Com isso, o pH da massa diminuiu mais do que no queijo processado com o agente coagulante fúngico que independe de pH para promover o processo de coagulação. Como houve uma acidificação maior na massa do queijo com coalho bovino, ocorreu maior retenção da enzima quimosina, produzindo, assim, provavelmente, concentrações maiores de compostos alcalinos na massa do queijo, neutralizando, portanto, parte da sua acidez ao longo do período de estabilização.

- **Valor de acidez titulável dos queijos mussarela de leite de búfala em estudo**

Conforme apresentado na Figura 6, o período de estabilização dos queijos promoveu alterações significativas ( $p < 0,01$ ), assim como a interação entre os coagulantes e o período de estabilização ( $p < 0,05$ ).



**FIGURA 6.** Acidez titulável dos queijos obtidos por ação do coalho bovino e o agente coagulante fúngico, durante o período de estabilização sob refrigeração

A concentração de ácido láctico no queijo decresce a partir do terceiro dia até o trigésimo quinto dia de estabilização para ambos os coagulantes. Isso porque, nesse período, acontece uma gradativa neutralização deste componente na massa do queijo, pela liberação de aminoácidos como consequência da ação das enzimas dos microrganismos do fermento que atuam sobre as proteínas tamponando a fase aquosa do queijo.

Os queijos fabricados com o agente coagulante fúngico apresentaram uma acidez ligeiramente mais elevada no terceiro dia após o processo de fabricação, em relação aos valores obtidos com o coalho bovino. Porém, para ambos os tratamentos, houve diminuição na acidez em consequência da

neutralização ocorrida durante o período de estabilização, no qual a proteólise colabora intensamente na formação de compostos alcalinos. Já a partir do 17º dia após a filagem, percebe-se que, o queijo processado com coalho bovino teve a sua acidez neutralizada mais progressivamente, ao contrário daquele fabricado com o agente coagulante fúngico, que reduziu sua acidez mais lentamente, mantendo maior teor de ácido láctico do que o queijo com coalho bovino no 35º dia após o processo de filagem. Isto provavelmente ocorreu pelo fato deste queijo ter demonstrado, já no 3º dia após o processo de filagem, teores de umidade inferiores ao fabricado com coalho bovino. Por não terem sido realizadas as análises de umidade ao longo do período de estabilização sob refrigeração ( $9^{\circ}\text{C} \pm 1$ ), podem ter ocorrido pequenas alteração nos valores desta umidade. Possivelmente, esta foi a causa da neutralização menos intensa da acidez para o queijo fabricado com o coalho fúngico. Resultados semelhantes foram observados por Kiely et al. (1992) e Yun et al. (1995), estudando tais comportamentos em queijo mussarela para pizza fabricado com leite de vaca.

#### **4.4 Propriedades funcionais do queijo mussarela para pizza elaborado com leite de búfala**

Conforme descrito na Tabela 8, as propriedades de derretimento, perda de óleo *oiling off* e elasticidade não apresentaram interação estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ) para os tratamentos com coalho bovino e o agente coagulante fúngico, da mesma forma que para as diferentes temperaturas de filagem utilizadas  $75^{\circ}\text{C}$ ,  $85^{\circ}\text{C}$  e  $95^{\circ}\text{C}$ . Também não foram significativas as interações entre os coagulantes utilizados e o período de estabilização; as diferentes temperaturas da água de filagem, e o período de estabilização; os coagulantes e as temperaturas de filagem, assim como a interação de todos os fatores não apresentou diferenças estatisticamente significativos ( $p > 0,05$ ).

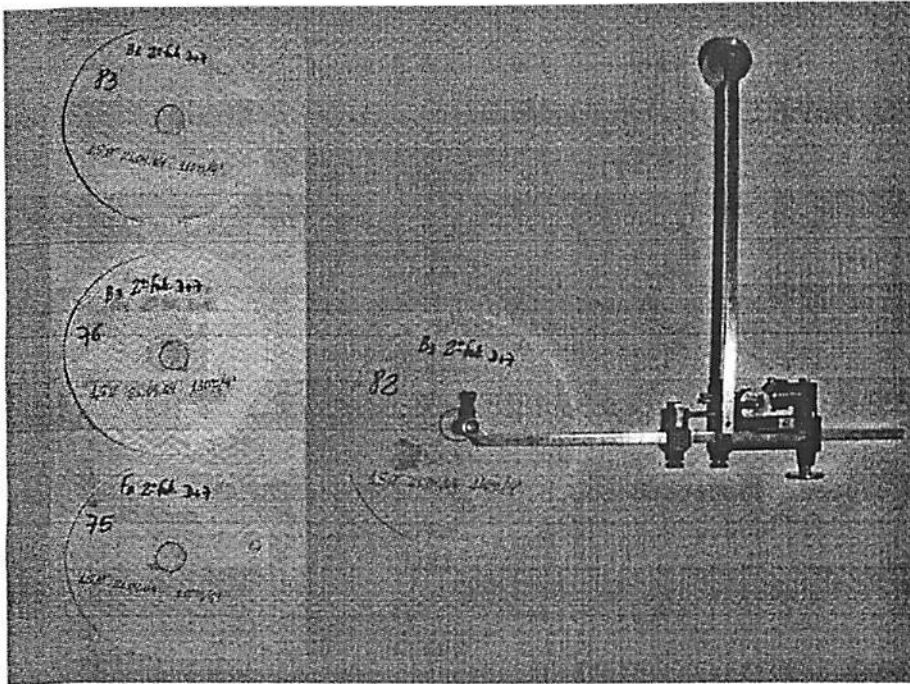
Entretanto, o período de estabilização dos queijos, do 7º ao 35º dias após o processo de filagem, promoveu alteração estatisticamente significativa ( $p < 0,01$ ) com relação ao derretimento, perda de óleo livre *oiling off* e elasticidade do queijo mussarela para pizza processado com leite de búfala.

**TABELA 8.** Propriedades funcionais dos queijos mussarela de leite de búfala, fabricados com coalho bovino e coagulante fúngico, submetidos a três temperaturas de filagem e estabilizado sob refrigeração ( $9^{\circ}\text{C} \pm 1$ ) por 7, 17, 27 e 35 dias após o processo de filagem.

| Temperatura de filagem | Derretimento (%) |                 | <i>Oiling off</i> (%) |                 | Elasticidade (cm) |                 |
|------------------------|------------------|-----------------|-----------------------|-----------------|-------------------|-----------------|
|                        | Coalho bovino    | Coagul. fúngico | Coalho bovino         | Coagul. fúngico | Coalho bovino     | Coagul. fúngico |
| 75°C                   | 66,95            | 77,75           | 14,73                 | 18,40           | 40,45             | 43,39           |
| 85°C                   | 62,22            | 78,41           | 14,78                 | 16,83           | 42,00             | 41,51           |
| 95°C                   | 66,77            | 76,87           | 15,32                 | 15,72           | 40,41             | 37,43           |

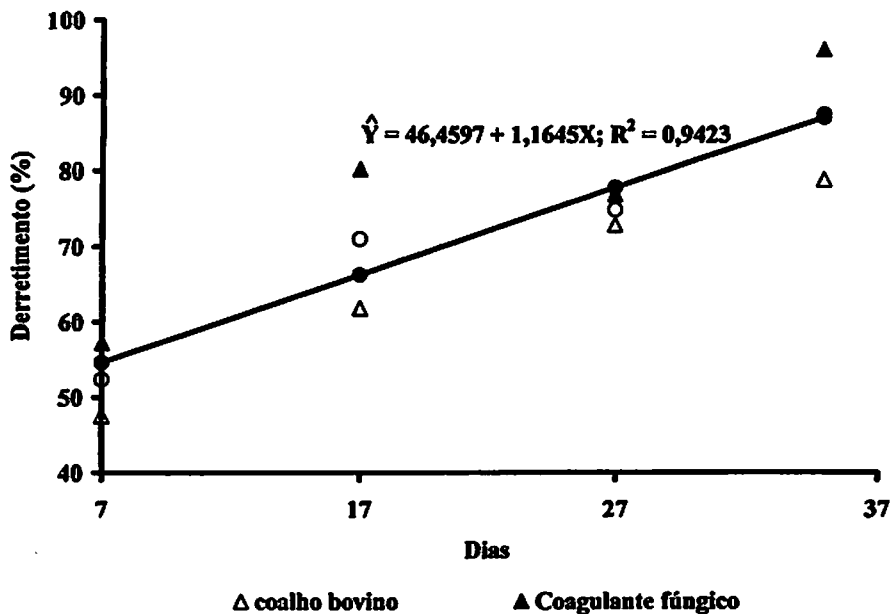
#### 4.4.1 Derretimento do queijo mussarela de leite de búfala

Conforme demonstra a Figura 7, neste experimento procurou avaliar-se a área de expansão do queijo derretido pelo cálculo do percentual da diferença entre a área inicial e a área expandida do queijo derretido, de acordo com aos trabalhos realizados por Tunick et al. (1993).



**FIGURA 7.** Obtenção da área expandida do queijo mussarela com uso de planímetro de compensação polar.

Conforme o gráfico da Figura 8, houve um ligeiro acréscimo no derretimento dos queijos mussarela para pizza fabricado com leite de búfala, ao longo do período de estabilização, ou seja, do 7º ao 35º dia após o processo de filagem dos queijos.



**FIGURA 8.** Derretimento (%) dos queijos mussarela de leite de búfala obtidos por ação do coalho bovino e o agente coagulante fúngico durante o período de estabilização sob refrigeração

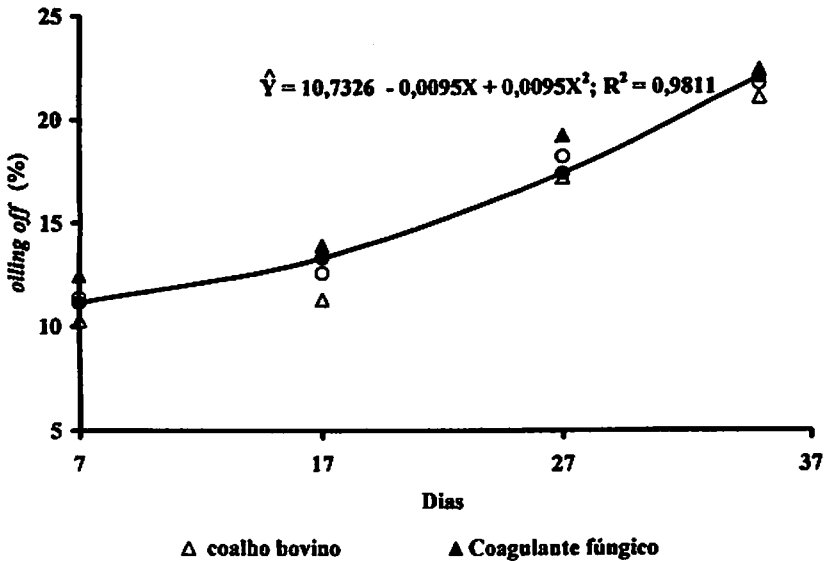
É provável que o aumento do derretimento seja em função da hidrólise das proteínas durante a proteólise, quando ocorreu, portanto, um aumento da desestruturação da matriz protéica, aumentando sensivelmente o derretimento do queijo. Portanto, os dados obtidos neste experimento encontram-se de acordo com os trabalhos realizados por Cortez (1998), com queijo mussarela para pizza elaborado com leite de vaca e coerentes com as afirmações de Oberg et al. (1992), que relataram ser necessário que o queijo tenha sofrido um avanço no seu processo de proteólise, diminuindo, portanto, parte da sua coesão para que o mesmo apresente um derretimento uniforme e desejável para uso em pizzarias.



Segundo Pilcher & Kindstedt (1990), o padrão do derretimento do queijo mussarela considerado ideal é aquele exigido e aceito pelo mercado consumidor. É interessante notar que nos Estados Unidos um dos maiores motivos de reclamações de defeitos de queijos mussarela usados como ingrediente em pizza é o seu derretimento desigual, ou seja, não uniforme.

#### 4.4.2 Perda de óleo livre *oiling off* no queijo mussarela de leite de búfala

Conforme apresentado na Figura 9, apenas o período de armazenamento refrigerado promoveu alterações estatisticamente significativas ( $p < 0,01$ ) nas características funcionais de *oiling off*, ou seja, separação do óleo livre no queijo quando aquecido.



**FIGURA 9.** Evolução da perda de óleo livre *oiling off* nos queijos mussarela de leite de búfala obtidos por ação do coalho bovino e agente coagulante fúngico durante o período de estabilização sob refrigeração.

Percebe-se que houve um acréscimo do *oiling off* do 7º ao 35º dia após o processo de filagem, tendo ocorrido maior acréscimo a partir do 17º dia. É provável que este crescimento tenha ocorrido em função do desenvolvimento da proteólise durante o período de armazenamento do queijo.

Estudos realizados por McMahon et al. (1993) demonstraram haver um aumento progressivo do *oiling off*, após as duas primeiras semanas de fabricação do queijo mussarela processado com leite de vaca. Portanto, são resultados bastante semelhantes aos encontrados para o queijo mussarela de leite de búfala neste experimento. O autor também observou que o *oiling off* tende a aumentar em queijos com maior teor de gordura, o que confirma os resultados encontrados, pois o leite de búfala encontrava-se com um teor de gordura de 7,5% e foi processado sem prévia padronização.

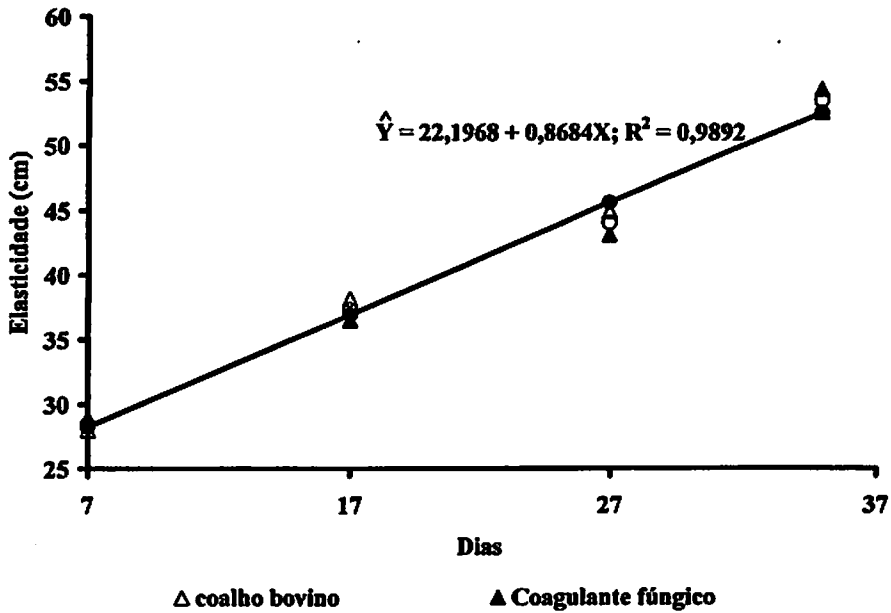
Segundo Kindstedt et. al. (1992), o menor teor de cloreto de sódio presente no queijo mussarela favorece o desenvolvimento do *oiling off*, pois o sódio entra no lugar do cálcio nas moléculas de caseína, aumentando assim a capacidade destas de interagirem com os glóbulos de gordura, atuando como agente emulsificante. Uma gordura mais emulsificada terá uma tendência menor em se separar, originando assim uma baixa ocorrência de *oiling off*.

Em relação ao teor de cloreto de sódio no queijo mussarela de leite de búfala, foram encontradas variações entre 1,1% a 1,2% (m/m). Estes valores são inferiores aos preconizados para o queijo mussarela de leite de vaca que, segundo Ghosh et al. (1990), variam de 1,5% a 1,7% (m/m). Provavelmente este baixo percentual de sal também contribuiu para o acréscimo nos valores de *oiling off*.

#### **4.4.3 Elasticidade do queijo mussarela de leite de búfala**

O queijo mussarela para pizza de boa qualidade deve apresentar uma elasticidade satisfatória, ou seja, ao ser aquecido e submetido à tensão, não deve arrebentar com facilidade e deve manter certa aderência à superfície da pizza. Porém, vários são os fatores que podem levar à perda desta importante característica do queijo mussarela, tais como: intensa proteólise que leva à quebra das cadeias polipeptídicas da caseína, altas concentrações de gordura que diminuem a firmeza da estrutura do queijo e a aderência à pizza, altos teores de umidade, que aceleram a hidrólise das proteínas, maior período de estabilização e utilização de coalhos e culturas com elevadas características proteolíticas (Furtado, 1996).

Conforme a Figura 10, apenas o período de estabilização promoveu alterações significativas ( $p < 0,01$ ) na característica funcional da elasticidade do queijo mussarela.



**FIGURA 10.** Elasticidade dos queijos mussarela de leite de búfala obtidos por ação do coalho bovino e do agente coagulante fúngico durante o período de estabilização sob refrigeração.

Houve, portanto, um crescimento uniforme da elasticidade durante o período de estabilização, ou seja, do 7º ao 35º dia após o processo de filagem dos queijos, conforme ilustra a Figura 10. Provavelmente a elevação contínua da elasticidade está relacionada à proteólise exercida pelas enzimas remanescentes dos coagulantes empregados e, numa segunda fase, à ação das peptidases provenientes do fermento láctico. Os resultados encontrados neste experimento estão de acordo com as afirmações de Yun et al. (1993a), segundo as quais a atividade proteolítica ocasiona o desenvolvimento adequado das características funcionais do derretimento, elasticidade e *oiling off*.

Em outros estudos realizados por Monteiro (1999) com queijo mussarela para pizza obtido de leite de vaca, foi observada uma redução na elasticidade após o 18º dia de sua fabricação, em virtude, principalmente, do processo de proteólise ter enfraquecido a matriz protéica, promovendo assim, alterações profundas em seus componentes. Neste experimento, o queijo mussarela processado com leite de búfala, com teor de proteína mais elevado do que o de vaca, pode ser a causa provável da característica de elasticidade continuar aumentando progressivamente no 35º dia após o processo de filagem dos queijos.

#### **4.5 Cor do queijo mussarela de leite de búfala antes e após o processo de aquecimento (escurecimento não enzimático)**

Para o queijo mussarela assado, somente o período de estabilização promoveu alterações estatisticamente significativas ( $p < 0,01$ ) para os seguintes índices de cor:  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $L^*$  e  $\Delta E^*$ , que significa intensidade das cores ocorridas no queijo. Já para o queijo mussarela antes do processo de aquecimento utilizado como padrão, a análise de variância mostrou haver interações estatisticamente significativas ( $p < 0,01$ ) apenas para o período de estabilização sobre os índices de cor  $a^*$  e  $L^*$ . Os índices de cor  $b^*$  e  $\Delta E^*$  não foram estatisticamente significativos ( $p > 0,05$ ) para as interações estudadas.

Na Tabela 9 encontram-se os valores médios dos índices de cores com as respectivas temperaturas de filagem do queijo, embora estatisticamente não sejam significativas.

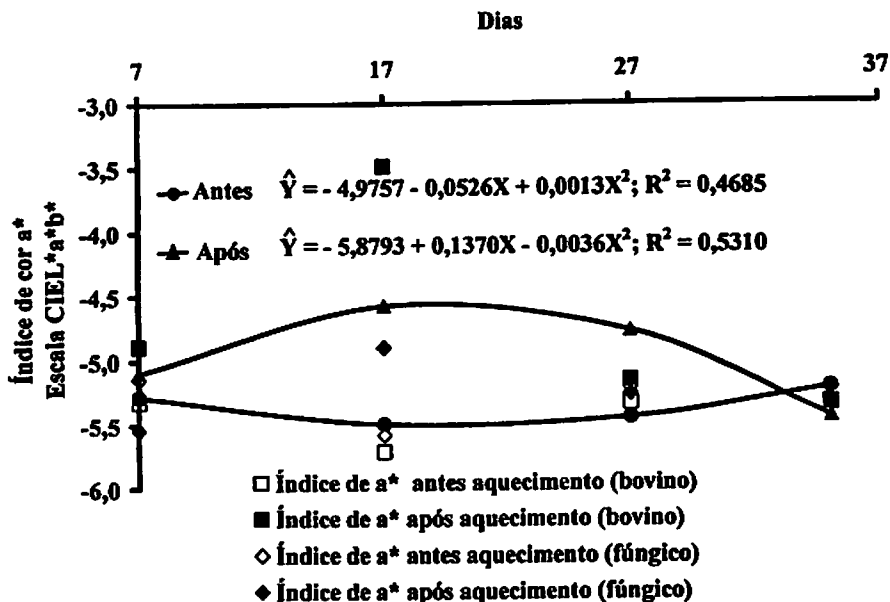
**TABELA 9.** Índices de cor dos queijos mussarela de leite de búfala, conforme escala CIEL\* a\* b\* e  $\Delta E^*$  (intensidade dos índices de cores), fabricados com coalho bovino e o agente coagulante fúngico e submetidos a três temperaturas de filagem e estabilizados a  $(9^{\circ}\text{C} \pm 1,0)$  por 7, 17, 27 e 35 dias após a filagem.

| Variáveis             | Temperatura   |       |       |                    |       |       |
|-----------------------|---------------|-------|-------|--------------------|-------|-------|
|                       | Coalho bovino |       |       | Coagulante fúngico |       |       |
|                       | 75°C          | 85°C  | 95°C  | 75°C               | 85°C  | 95°C  |
| Valor de $\Delta E^*$ | 35,72         | 45,22 | 38,94 | 33,73              | 27,49 | 37,30 |
| Valor de a* (padrão)  | -5,24         | -5,36 | -5,65 | -5,14              | -5,32 | -5,41 |
| Valor de b* (padrão)  | 14,33         | 13,89 | 13,45 | 13,55              | 13,30 | 13,12 |
| Valor de L* (padrão)  | 75,09         | 75,49 | 75,90 | 75,37              | 75,73 | 75,68 |
| Valor de a* (assado)  | -4,75         | -4,54 | -4,85 | -5,32              | -5,23 | -5,13 |
| Valor de b* (assado)  | 17,83         | 18,15 | 17,12 | 16,96              | 16,50 | 16,86 |
| Valor de L* (assado)  | 68,69         | 68,64 | 69,25 | 69,46              | 69,81 | 69,42 |

• **Valor do índice de cor a\* para o queijo mussarela de leite de búfala**

Este valor possibilita avaliar a cor de verde a vermelho, sendo que, para o valor menor, a amostra está mais verde e para o maior valor a amostra está mais vermelha ou menos verde que o padrão.

Conforme pode ser visto na Figura 11, apenas o período de estabilização 7, 17, 27 e 35 dias após a fabricação promoveu alterações estatisticamente significativas ( $p < 0,01$ ) para o índice de cor a\*.



**FIGURA 11.** Índice de cor a\* antes e após o processo de aquecimento dos queijos mussarela de leite de búfala, obtidos por ação do coalho bovino e agente coagulante fúngico durante o período de estabilização sob refrigeração

Observa-se que, para o queijo antes de ser aquecido, o índice de cor a\* pouco se alterou, tendo havido um pequeno decréscimo nestes valores entre o 7º e o 17º dia tendendo para o verde. Após o 17º dia, percebe-se que houve um acréscimo, lentamente, nos valores com tendência à cor vermelha. Já para os valores de a\* do queijo assado, observou-se um ligeiro acréscimo nos valores a partir do 7º dia até o 17º dia tendendo para a cor vermelha, sendo um indicativo de maior escurecimento, ou seja, maior presença da reação de Maillard. Isso se justifica pelo fato de ter sido empregada cultura láctica termofílica contendo parte dos microrganismos galactose negativa no processamento dos mesmos. A partir do 17º dia percebe-se que ocorreu uma ligeira diminuição da cor vermelha

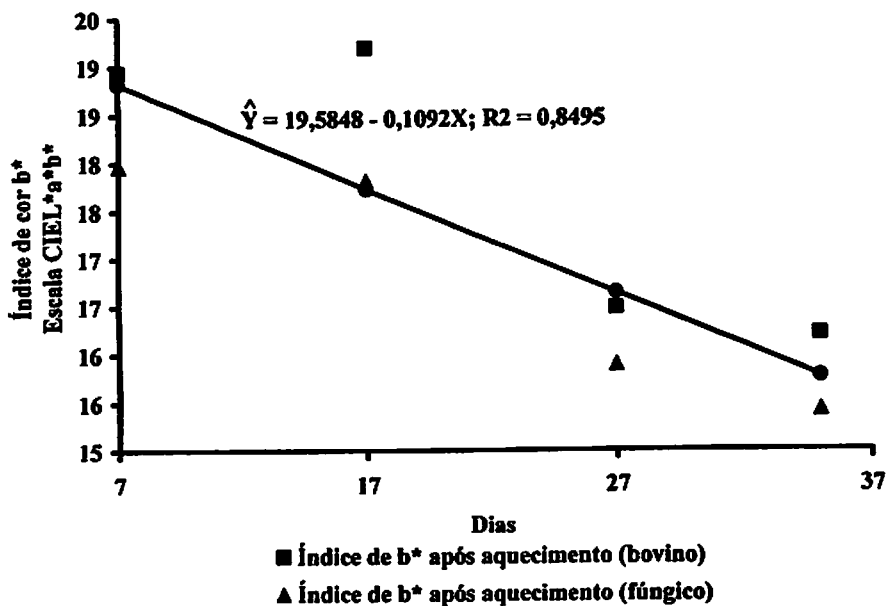
tendendo para o verde até o trigésimo quinto dia, o que pode ser entendido como redução do escurecimento e, conseqüentemente, diminuição da reação de Maillard. Isso se deve à degradação da galactose, por parte dos microrganismos da cultura láctica empregada, que são galactose positiva (*Lactobacillus helveticus*). Estes resultados estão, portanto, de acordo com os dados encontrados por Bley et al. (1985), estudando o escurecimento não enzimático em queijo mussarela de leite de vaca.

- **Valor do índice de cor  $b^*$  para o queijo mussarela de leite de búfala**

O valor do índice de cor  $b^*$  no sistema CIEL\*a\*b\*, utilizado neste experimento, permite avaliar a cor do azul até o amarelo. Valor decrescente tende acentuar a cor azul, enquanto valor crescente acentua a cor amarelo para a amostra analisada.

Pelo que se pode observar na Figura 12, apenas o período de armazenamento promoveu alterações estatisticamente significativas ( $p < 0,01$ ) sobre os índices de cor  $b^*$  para o queijo assado, sendo os demais valores estatisticamente não significativos ( $p > 0,05$ ).





**FIGURA 12.** Índice de cor  $b^*$  após o processo de aquecimento dos queijos mussarela de leite de búfala, fabricado com coalho bovino e agente coagulante fúngico durante o período de estabilização sob refrigeração.

No queijo mussarela assado, o índice de cor  $b^*$  teve um decréscimo do 7º ao 35º dia após o processo de fabricação, acentuando, assim, a cor azul. Provavelmente, este comportamento está indicando uma diminuição no escurecimento não enzimático no decorrer do período de estabilização do queijo mussarela de leite de búfala. Contudo, observações feitas por Mukherjee & Hutkins (1994), trabalhando com queijo de leite vaca, indicam que o índice de  $b^*$  não é um bom índice para medir o escurecimento não enzimático.

- Valor do índice de cor L\* para o queijo mussarela de leite de búfala

O valor do índice de cor L\* possibilita avaliar a cor de claro a escuro, sendo que valores decrescentes tendem para o escurecimento da amostra. Já os valores crescentes significam que a amostra tende à cor mais clara, ou seja, menos escura do que o padrão.

A Figura 13 demonstra que o período de estabilização promoveu alterações estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) sobre o índice de cor L\* para o queijo assado e cru. Já as demais interações estudadas não foram estatisticamente significativas ( $p > 0,05$ ).

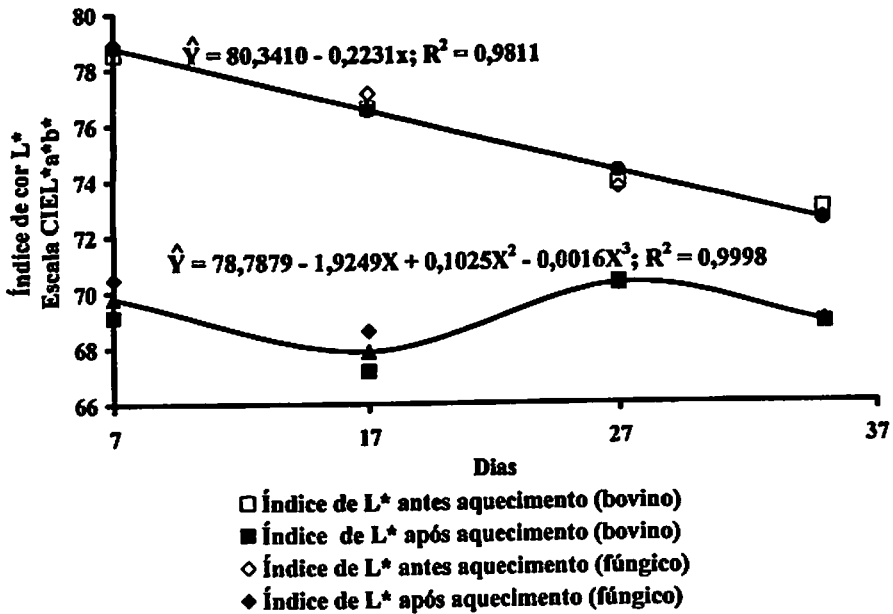


FIGURA 13. Índice de cor L\*, antes e após o processo de aquecimento dos queijos mussarela de leite de búfala, processados com coalho bovino e o agente coagulante fúngico durante o período de estabilização sob refrigeração.

Conforme observa-se na Figura 13, o queijo mussarela sem aquecimento apresentou uma ligeira redução do índice de cor  $L^*$  ao longo do período de estabilização, ou seja, do 7º ao 35º dia após o processo de filagem. Entretanto, para o queijo mussarela assado, houve um decréscimo nos valores do índice de cor  $L^*$  do 7º ao 17º dia após a filagem, tendendo, assim, ao escurecimento. Isso pode ter ocorrido, provavelmente, pelo acúmulo de galactose no queijo, uma vez que foi empregado cultura lática contendo em parte microrganismos galactose negativa, ou seja, que não degrada a galactose, podendo haver reação de escurecimento no queijo aquecido. Já do 17º ao 27º dia, notou-se uma elevação nos valores de cor  $L^*$ , caracterizando assim uma diminuição do escurecimento, o que pode estar relacionado com a provável degradação embora pequena da galactose presente na massa do queijo, diminuindo, portanto, o açúcar redutor e, conseqüentemente, a reação de Maillard. Após o 27º dia de filagem dos queijos, percebeu-se novamente um decréscimo nos valores de cor  $L^*$ , o que pode estar relacionado à maior disponibilidade de aminoácidos livres, principalmente lisina proveniente do processo de proteólise, contribuindo, juntamente com açúcares redutores remanecente no queijo, para a elevação do processo de escurecimento não enzimático do queijo assado.

Segundo Mukherjee & Hutkins, (1994), o índice de cor  $L^*$  é o que melhor define o escurecimento não enzimático em queijo mussarela. Já Matzdorf et al. (1994) obtiveram uma diminuição significativa no valor de  $L^*$ , demonstrando maior escurecimento, ao longo do período de estabilização dos queijos mussarela fabricados com leite de vaca, quando foi empregado cultura lática com maior potencial para exibir o escurecimento, ou seja, galactose negativa sob condições mais drásticas de temperatura de aquecimento.

- Valor do índice de cor  $\Delta E^*$  para o queijo mussarela de leite de búfala

Segundo dados publicados por Bley et al. (1985), quanto maior os valores de  $\Delta E^*$ , mais escurecimento estará ocorrendo, sendo esta característica associada à presença de maior quantidade de galactose e lactose, juntamente com peptídios e aminoácidos no queijo.

Pelo gráfico da Figura 14, observa-se que houve interação estatisticamente significativa ( $p < 0,01$ ) apenas para o período de estabilização sobre o índice da intensidade de cor  $\Delta E^*$ . As demais interações estudadas não foram estatisticamente significativas ( $p > 0,05$ ).

$$\text{Valor de } \Delta E^* : Y = 74,2324 - 1,7595x \quad R^2 = 79,15\%$$

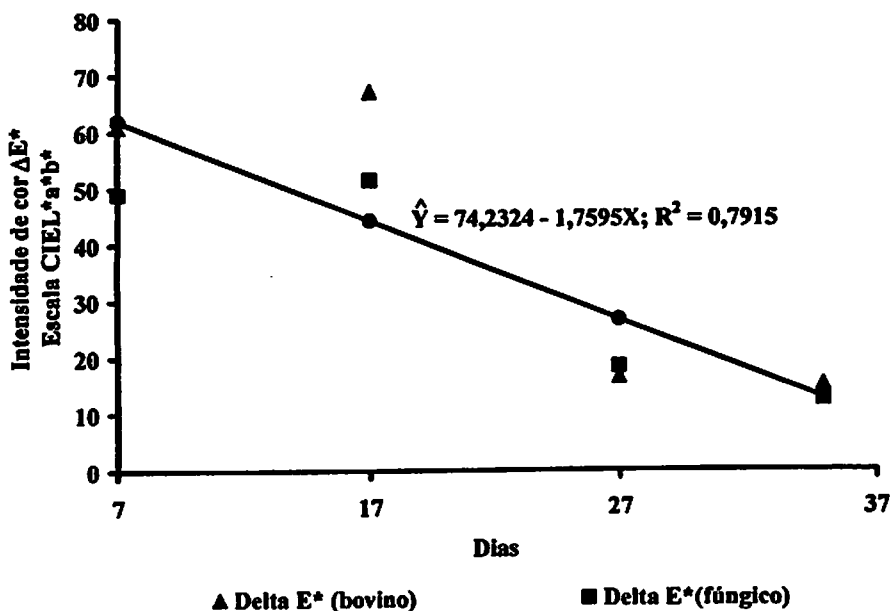


FIGURA 14. Índice da intensidade de cor  $\Delta E^*$  do queijos mussarela de leite de búfala, fabricado com coalho bovino e o agente coagulante fúngico durante o período de estabilização sob refrigeração.

O índice de intensidade de cor  $\Delta E^*$  apresentou uma redução no seu valor do 7º ao 35º dia após o processo de filagem dos queijos, revelando assim uma diminuição na intensidade de todas as cores ocorridas no queijo no decorrer do período estudado. Esta redução nos valores de  $\Delta E^*$  provavelmente está relacionada à lenta metabolização dos açúcares redutores ao longo do período de estabilização dos queijos, uma vez que foi utilizada neste experimento cultura láctica com poder médio de proteólise e degradação da lactose, conforme já mencionado anteriormente. Os dados para este índice são, portanto, semelhantes aos resultados obtidos por Cortez (1998) trabalhando com queijo mussarela para pizza, processado a partir do leite de vaca.

## 5 CONCLUSÕES

Observou-se que o queijo mussarela de leite de búfala necessita de um período de estabilização mínimo de três semanas, para que possa apresentar características funcionais ideais a ser utilizado como ingrediente em pizzas, que são: bom derretimento sobre a pizza, diminuição no processo de escurecimento não enzimático, perda de óleo controlado *oiling off* e boa elasticidade.

As características funcionais do queijo mussarela para pizza elaborado com leite de búfala, não foram influenciadas pelas diferentes temperaturas da água de filagem nem pelos coagulantes utilizados.

Os queijos mussarela de leite de búfala não necessitaram sere secos por um tempo prolongado para somente depois serem embalados, conforme exigem os queijos mussarela fabricados com leite de vaca.

Mesmo sem padronizar o leite de búfala, no terceiro dia após a fabricação, os queijos mussarela apresentaram percentual de gordura no extrato seco não muito elevado.

A umidade dos queijos mussarela permaneceu baixa no terceiro dia após a fabricação, provavelmente devido à constituição do leite bubalino conter elevado percentual de grandes micelas, o que dificulta manter a umidade no queijo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AAMANN, F. Cuajo bovino. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE TECNOLOGIA EN PRODUCCION DE QUESOS, 1996, Buenos Aires. *Anais...* : Buenos Aires: Chr. Hansen – FEPAL, 1996. p. 16-36.
- ABREU, L. R. de. *Tecnologia de leite e derivados*. Lavras: UFLA/FAEPE, 2000. 205 p.
- ADDEO, F. La Mozzarella un queso tradicional en evolución. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE TECNOLOGIA EN PRODUCCION DE QUESOS, 1996, Buenos Aires. *Anais...* Buenos Aires: Chr. Hansen – FEPAL, 1996. p. 251-271.
- ALBANO, F.; MINCIONE, B. Recenti progressi nella conoscenza delle proteine del latte di bufala. In: CONGRESSO INTERNAZIONALE SULL'ALLEVAMENTO BUFALINO NEL MONDO, 1., 1984, Caserta. p. 189-201.
- AMARAL, F. R.; CARVALHO, L. B.; SILVA, N.; BRITO, J. R. F.; SOUZA, G. N. Composição e contagem de células somáticas em leites bubalinos na região do alto São Francisco, Minas Gerais, Brasil. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS ICLT, 21., Juiz de Fora. *Anais...* Juiz de Fora, 2004. p. 37-41.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DE BÚFALO - APCB - *Derivados de leite de búfalos*, 2004. Disponível em: < [www.bufalo.com.br/leite.htm](http://www.bufalo.com.br/leite.htm)>. Acesso em: 2004
- 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 Technology*, London, v. 47, n. 3, p. 84-87, Aug. 1994.
- ASSOCIATION OF ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. *Official methods of analysis*. 16. ed. Washington, 1995. 1094 p.

BARBOSA, R. A.; PRUDÊNCIO, E. S.; GIOVANNI, R. N.; BENEDET, H. D.; LUIZ, M. T. B. Formulação e elaboração de iogurte a partir de leite de búfala (*Bubalus bubalis*), congelado e parcialmente desnatado. *Revista do Instituto Laticínios Cândido Tostes*, juiz de Fora, v. 57, n. 324, p. 31-34, jan./fev. 002.

BENEVIDES, C. M. de J. Leite de Búfala: qualidades tecnológicas. *Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 12, n. 54, p. 70, mar./abr. 1998.

BERNARDI, M. R. V.; DAMÁSIO, M. H.; VALLE, J. L. E.; OLIVEIRA, A. J. Elaboração do queijo mozzarella de leite de búfala pelos métodos tradicionais e da acidificação direta. *Ciência e Tecnologia Alimentos*, Campinas, v. 20, n. 2, p. 138-144, maio/ago. 2000.

BLEY, M. E.; JOHNSON, M. E.; OLSON, N. F. Factors affecting non enzymatic browning of process cheese. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 68, n. 3, p. 555-561, Mar. 1985.

BONASSI, I. A.; CARVALHO, J. B. de C.; VILLARES, J. B. Utilização do leite de búfala como matéria prima para elaboração de queijo mussarela. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, Caracas, v. 32, n. 4, p. 903-912, 1982.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Métodos analíticos oficiais físico-químico para controle de leite e produtos lácteos. Instrução Normativa SDA Nº22, de Abril 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Regulamento técnico de identidade e qualidade para o leite cru refrigerado. Instrução Normativa SDA Nº51, de 18/09/2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Queijo Mozzarella (Muzzarella ou Mussarela), Portaria nº 364 de 04 de Setembro de 1997.

BRESSAN, M. C. Efeito dos fatores pré e pós-abate sobre a qualidade da carne de peito de frango. 1998. 201 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.



BRIEN, J. M.; MORRISSEY, P. A. The maillard reaction in milk products. In: Heat-induced changes in milk. **Bulletin of the International Dairy Federation**, Brussels, v. 8, n. 283, p. 53-61, 1989.

BROOME, M. C.; LIMSOWTIN, G. K. Y. Starter peptidase activity in maturing cheese. **The Australian Journal of Dairy Technology**, Victoria, v. 53, n. 1, p. 79-82, June 1998.

BUDTZ, P. Microbial rennets for cheesemaking. **Dairy Industries International**, London, v. 54, n. 5, p. 15-19, May 1989.

CHRISTENSEN, V. W. Manufacturing methods for high and low moisture Mozzarella. **American Dairy Review**, Mont Morris, v. 28, n. 9, p. 38 e 92-96, 1966.

COCKRILL, W. R. **The husbandry and health of the domestic buffalo**. Rome: FAO, 1974. 933 p.

CORTEZ, M. A. S. **Uma alternativa tecnológica para evitar o escurecimento não-enzimático em queijo mussarela**. 1998. **Disertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa**.

DALGLEISH, D. G. The enzymatic coagulation of milk. In: FOX, P. F. (Ed.). **Cheese: chemistry, physics and microbiology**. Londres: Elsevier Applied Science Publishers, 1987. v. 1.

DE FRANCISCIS, G.; DI PALO, R. Buffalo Milk production In: **WORD BUFFALO CONGRESS**, 6., 1994, São Paulo. **Proceedings...** São Paulo, 1994. p. 137-146.

DEL PRATO, S. Italian mozzarella. **Dairy Industries International**, Dartford, v. 58, n. 4, p. 26-29, 1993.

DESMAZEUD, M. J.; GRIPON, J. C. **General mechanism of protein breakdown during cheese ripening**. **Milchwissenschaft**, v. 32, n. 12, p. 731-734, 1977.

**ELIAS, M. Bubalinocultura: potencial e perspectiva no Paraná. Londrina: IAPAR, 1988. 28 p.**

**FAO. Aminoacid scoring pattern. Rome, 1981. 176 p.**

**FAO. Production Yearbook – 2000. Rome, 2002. v. 54, p. 211.**

**FARIA, M. H. Produção de leite e seus constituintes em diferentes grupos genéticos nos bubalinos (*Bubalus bubalis*). 1997. 75p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal.**

**FARKEY, N. Y.; FOX, P. F. Objective indices of cheese ripening. Trends in Food Science & Technology, London, v. 2, n. 3, p. 37-40, Mar. 1990.**

**FARKYE, 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.**

**FERRARA, B.; INTRIERI, F. Características e uso do leite de búfala. II.**

**Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, v. 30, n. 178, p. 27-35, mar./abr. 1975.**

**FERRARA, B.; INTRIERI, F. Caratteristiche ed impiego del latte di bufala. Estratto da “Revista di Zootecnia e Veterinária” Napoli, n. 1/2, 1974.**

**FERRARA, B.; INTRIERI, F. Caratteristiche ed. Impiego del latte di bufala. Rivista di Zootecnia e Veterinária, Napoli, v. 1, p. 15-30, p. 111-222, 1992.**

**FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR para Windows versão 4. 0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos, SP. Anais... São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.**

**FINOTELO, N. A. Melhoramento de tecnologia na producao e conservacao do queijo marajoara. Campinas: UNICAMP, 1981. 113 p. (Dissertação - Mestrado em Tecnologia de Alimentos).**

**FOLEGATTI, M. I. da S. Avaliação do uso de quimosina produzida por *Aspergillus niger* var. *awamori* na fabricação de queijo tipo prato. 1994. 65 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Campinas, Campinas.**

**FOLTMANN, B. General and molecular aspects of rennets. In: *Cheese: chemistry, physics and microbiology 1*. London: Elsevier, 1987. p. 33-61.**

**FORD, B. D. Productivity and management of the water buffalo in Australia. Darwin, Northern Territory: Department of Primary Production, Division of Agriculture and Stock, 1982. 40 p.**

**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. Rennets and their action in cheese manufacture and ripening : reviw. *Biothecnology and Applied Biochemistry*, London, v. 10, n. 6, p. 522-535, Dec. 1988.**

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

**FRANCO, G. Tabela de composição química dos alimentos. 9. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1992. 307 p.**

**FURTADO, M. M. Composição centesimal do leite de búfala na Zona da Mata Mineira. *Revista do Instituto de Laticínios “Cândido Tostes”*, Juiz de Fora, v. 35, n. 2, p. 43-47, 1980a.**

**FURTADO, M. M. A practical approach to some cheese technology parameters and their effect on fermentation, cheese texture and flavor. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE TECNOLOGIA EM PRODUCCION DE QUESOS, 1996, Buenos Aires. *Anais...* Buenos Aires: Chr Hansen, 1996. p. 165-211.**

**FURTADO, M. M. Manual prático da Mussarela (Pizza cheese). Campinas: Master Graf, 1997. 70 p.**

**FURTADO, M. M. Manual prático dos principais defeitos de queijo. Parte 7: Queijos mussarela: principais defeitos e problemas de sua utilização em pizzas. Juiz de Fora: Instituto de Laticínios Cândido Tostes, 1998. 130 p.**

**FURTADO, M. M. Principais problemas dos queijos causas e prevenção, São Paulo, 1999. p. 130-132.**

**FURTADO, M. M. O teor de proteína no leite de búfala e sua acidez titulável. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, v. 35, n. 212, p. 27-30, nov./dez. 1980b.**

**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, 1994. p. 81-84.**

**GANGOPADHYAY, S. K.; THAKAR, P. N. Milk Coagulant Retention in Mozzarella Cheese and Curd. The Australian Journal of Dairy Technology, Victoria, v. 2, n. p. 49-52, Nov. 1991.**

**GANGULI, U. C. Tecnologia de la leche de búfala. Revista Mundial de Zootecnia, Rome, v. 30, p. 2-10, 1979.**

**GARNOTT, P.; THAPSON, J. L.; MATHIEU, C. M.; MAUBOIS, J. L.; DUMAS, B. R. Determination of rennin and bovine pepsins in commercial rennets and abomasal juices. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 55, n. 12, p. 1641-1650, Dec. 1972.**

**GHOSH, B. C.; SINGH, S.; KANAWYLA, S. K. Rheological properties of Mozzarella cheese: a review. Indian Journal of Dairy Science, Bangalore, v. 43, n. 1, p. 71-80, 1990.**

**HANSEN CHR – Divisão de Laticínios. Informativo Há-La Biotec, São Paulo, v. 9, n. 54, nov./dez. 1999.**

**HARBOE, M. K. Chymogen, a chymosin rennet manufactured by fermentation of *Aspergillus niger*. Bulletin of the IDF, Guyancourt, v. 269, p. 3-12, 1992.**

**INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA - IBGE - Censo agropecuário 2001, Pesquisa Pecuária Municipal (PPM). Disponível em: <[www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp](http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp)>. Acesso em: 2004.**

**JOHNSON, M. E.; OLSON, N. F. Nonenzymatic browning of Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 68, n. 12, p. 3143-3147, Dec. 1985.**

**KIELY, L. J.; McCONNELL, S. L.; KINDSTEDT, P. S. Melting behavior of Mozzarella/non-Mozzarella Cheese Blends. *Cultured Dairy Products Journal*, Washington, v. 27, n. 2, p. 24-29, May 1992.**

**KINDSTEDT, P. S. Effects of manufacturing factors, composition, and proteolysis on the functional characteristics of Mozzarella cheese. *Critical Review Food Science Nutrition*, Boca Raton, v. 33, n. 2, p. 167-187, 1993.**

**KINDSTEDT, P. S. Funcional properties of mozzarella cheese on pizza: a review. *Cultured Dairy Products Journal*, Washington, v. 26, n. 3, p. 27-31, Mar. 1991.**

**KINDSTEDT, P. S. Mozzarella and Pizza Cheese. In: *Cheese: chemistry, physics and microbiology*. 2. ed. London: Elsevier Applied Science AVI, 1994. v. 2, cap. 12, p. 337-362.**

**KINDSTEDT, P. S. Seminário Internacional "Pizza Cheese". *Chr. Hansen ILCT*, Juiz de Fora. Set. 1997.**

**KINDSTEDT, P. S.; FOX, P. F. Modified Gerber Test for free oil melted Mozzarella cheese. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 56, n. 4, p. 1115-1116, July/Aug. 1991**

**KINDSTEDT, P. S.; GUO, M. R. In: *CHEESE SYMPOSIUM*, 5., 1997, Cork. *Anais...* Cork: The Faculty of Food Science University College Cork, 1997. 30 p.**

**KINDSTEDT, P. S.; KIELY, L. J.; GILMORE, J. A. Variation in composition and functional properties within brine-salted mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 75, n. 11, p. 2913-2921, Nov. 1992.**

KINDSTEDT, P. S.; RIPPE, J. K. Rapid quantitative test for free oil (Oiling Off) in Melted Mozzarella Cheese. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 73, n. 4, p. 867-873, Apr. 1990

KOSIKOWSKI, F. **The Manufacture of Mozzarella cheese from Pasteurized Milk**, 1978. p. 641-648.

LABMICRO. Laboratório de Microbiologia Industrial. Instituto de Biociências de Rio Claro, SP, 2004. Disponível em:  
<<http://ns.rc.unesp.br/ib/bioquimica/apre.html>> Acesso em 15 dez. 2004.

LAWRENCE, R. C.; CREAMER, L. K.; GILLES, J. Texture development during cheese ripening. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 70, n. 8, p. 1748-1760, Aug. 1987.

LEMIEUX, L.; SIMARD, R. E. Bitter flavor in dairy products: a review of the factors likely to influence its development, mainly in cheese manufactura. *Le Lait*, Paris, v. 71, n. 5, p. 599-636, 1991.

LORTON, A. Italian cheese. *Pizza Today*, v. 5, n. 9, p. 6, 1987.

MACEDO, M. P.; WECHSLER, F. S.; RAMOS, A. de A.; AMARAL, J. B. do; SOUZA, J. C. de; RESENDE, F. D. de; OLIVEIRA, J. V. de. Composição físico-química e produção do leite de búfala da raça Mediterrânea no oeste de Estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 30, n. 3, p. 1084-1088, maio/jun. 2001.

MARQUES, J. R. F.; CARDOSO, L. S A bubalinocultura no Brasil e no mundo. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE BUBALINOCULTURA, 1997, Cruz das Almas – BA. 236 p.

MARTENS, R.; NANDTS, M. Different types of rennets. *Annual Bulletin International Dairy Federation*, Brussels, v. 73, p. 1, 1973.

MATHESON, A. R. The immunochemical determination of chymosin activity in cheese. *New Zealand Journal Dairy Science Tecnology*, Palmerston, v. 16, p. 33-41, 1981.

**MATZDORF, F.; CUPPETT, S. L.; KEELER, L.; HUTKINS, R. W.** Browning of mozzarella cheese during high temperature pizza baking. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, n. 10, p. 2850-2853, Oct. 1994.

**McMAHON, D. J.; OBERG, O. J.; McMANUS, W.** Functionality of mozzarella cheese. **The Australian Journal of Dairy Technology**, Victoria, v. 48, n. 2, p. 99-104, 1993.

**McMAHON, D. J., ALLEYNE, M.C., FIFE, R.L., OBERG, C. J.:** Use of fat replacers in low fat mozzarella cheese. **Journal of Dairy Science**. v.79, p.1911-1921, 1996.

**MICELA DE CASEÍNA.** Disponível em:  
<[www.ufv.br/dbg/trab2002/outros/DUS002.htm](http://www.ufv.br/dbg/trab2002/outros/DUS002.htm)>. Acesso em: 15 dez. 2004

**MINUSSI, R. C.** Avaliação de métodos para aceleração da maturação do queijo Prato. 1994. 84 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

**MONTEIRO, M. de L. G.** Característica funcionais do queijo elaborado com dois tipos de agentes coagulantes e temperaturas de filagem. Lavras: UFLA/FAEPE, 1999.

**MONTEIRO, M. de L. G.; GUILIANO, P.; GABY, P.; TERAN-ORTIZ; ABREU, L. R. de.** Aparelho para testar a propriedade funcional de elasticidade do queijo mussarela para pizza (Pizza Cheese). **Revista do Instituto Cândido Tostes, Juiz de Fora**, v. 54, n. 312, p. 3-5, 2000.

**MUKHERJEE, K. K.; HUTKINS, R. W.** Isolation of galactose-fermenting thermophilic cultures and their use in the manufacture of low browning Mozzarella cheese. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, n. 10, p. 2839-2849, Oct. 1994.

**NASCIMENTO; CARVALHO, L. O. M.** Criação de búfalos: alimentação, manejo, melhoramento e instalações. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento/Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1993.

NC-IUBMB. Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology. In: **consultation with the IUPAC-IUBMB**. London: Joint Commission on Biochemical Nomenclature (JCBN) Department of Chemistry, Queen Mary University of London, Mile End Road, 2004.

NEVES, N. L. B. Contribuição de bubalinocultura para a produção leiteira. In: PEIXOTO, A. M.; FARIA, V. P. de **Caracterização e implementação de uma política para o leite**. Piracicaba, FEALQ, 1985. p. 37-45.

BERG, C. J.; MERRILL, R. K.; BROWN, R. J.; RICHARDSON, G. H. Effects of freezing, thawing, and shredding on low moisture, part-skim mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 75, n. 5, p. 1161-1166, Maio 1992.

OLIVEIRA, A. J.; CARUSO, J. G. B. Leite: Obtenção e qualidade do produto líquido e Derivados. FEALQ Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz, v. 2, p. 47-51, 1996.

OLIVEIRA, A. N.; FERREIRA, D. N.; GROSSO, C. R. F.; VIOTTO, W. H. Influência da qualidade de coagulante nas propriedades funcionais do queijo mussarela fabricado por acidificação direta. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 16., Juiz de Fora. Anais... Juiz de Fora: Central Formulários, 1999. p. 109-115.

OLIVIERI, D. de A. Avaliação da qualidade microbiológica de amostras de queijo mussarela, elaborado a partir de leite (*Bubalus bubalis*). 2004. 61 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

PEREZ, P. F.; De ANTONI, G. L.; AÑON, M. C. Formate production by *Streptococcus thermophilus* cultures. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 74, n. 9, p. 2850-2854, Sept. 1991.

PILCHER, S. W.; KINDSTEDT, P. S. Survey of mozzarella cheese quality at restaurant end use. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 73, n. 6, p. 1644-1647, June 1990.



PRASAD, R.; PANDITA, N. N. Cholesterol content of milk and its fractionation during processing. **Indian Journal of Dairy Science**, Bangalore, v. 43, n. 2, p. 190-193, 1990. In: DAIRY SCIENCE ABSTRACTS, Wallingford, v. 53, n. 6, p. 512, June 1991.

RAJORHIA, G. S. **Buffalo mil products**. Karmal: National Dairy Research Institute, 1987.

RETTL, C.; SGUEDONI, A.; JULIANO, A. M. M. Coalhos e coagulantes. **Leite e Derivados**, São Paulo, n. 7, p. 27-33, 1992

ROSA, C. C. B. **Avaliação dos efeitos de temperatura de filagem e de agente coagulantes sobre as características físicas química e funcionais do queijo mussarela**. 1998. 95 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

RUEGG, M.; EBERHARD, P.; POPPLEWELL, L. M.; PELEG, M. Melting properties of cheese. **IDF Bulletin**, Guyancourt, v. 268, p. 36-43, 1991.

SIGSGAARD, P. Defined cultures for pizza cheese. **Scandinavian Dairy Information**, Belgrade, v. 8, n. 3, p. 36-38, 1994.

SILVEIRA, N. V. V.; SAKUMA, H.; DUARTE, M.; RODAS, M. A. B.; SARUWTARI, J. H.; CHICOUREL, E. L. Avaliação das condições físico-química e microbiológica do leite pasteurizado consumido na cidade de São Paulo. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 49, n. 1, p. 19-25, jun. 1989.

SOUZA, J. O. **Agrimensura**. São Paulo: Nobel, 1978. 142 p.

TANEZINE, C. A. ; D' ALESSANDRO, W. T.; CERQUEIRA , M. B. S.; ROCHA, J. M.; LABOISSIERI, A. C.; PONTES, C. E. Valores padrões e variação do pH do leite cru na bacia leiteira de Goiânia. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 10, n. 2, p.156-173, jul./dez. 1990.

TEUBER, M. Production of chimosin (EC 3. 4. 23. 4) by microorganisms and its use for cheesemaking. **IDF – Annual Bulletin**, Guyancourt, v. 251, p. 3-15, 1990.

TUNIK, 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 cheeses prepared from homogenized milk. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.76, n.2, p. 3621-3628, 1993.

VALLE, J. L. E. do. Queijo de massa filada. In: VAN DENDER, A. G. F. *Utilização artesanal do leite de búfala*. Campinas: ITAL, 1989. p. 57-60. (Manual Técnico, 3).

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.

VENEMA, D. P.; HERSTEL, H.; ELENBAAS, H. L. Determination of the ripening time of Edam and Gouda cheese by chemical analysis. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, Wageningen, v. 41, n. 2, p. 215-226, 1987.

VERRUMA, M. R. *Avaliação química, nutricional e sensorial do leite de búfala e derivados em comparação àqueles de leite de vaca*. 1993. 107 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

VIOTTO, W. H.; YUN, J. J.; BARBANO, D. M.; KINDSTEDT, P. S. Efeito da velocidade de filagem e tempo de residência sobre o rendimento, composição, proteólise e propriedade funcionais do queijo mussarela. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 14., 1997, Juiz de Fora. *Anais... Juiz Fora*, 1997. p. 43-53.

VISSER, J. Factors affecting the rheological and fracture properties of hard and semihard cheese. *IDF – Annual Bulletin*, Guyancourt, v. 268, p. 49-61, 1991.

VISSER, S. Proteolytic enzymes and their action on milk proteins: a review. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, Wageningen, v. 35, n. 1, p. 65-88, 1981.

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

WOLFSHOON-POMBO, A. F. Índices de proteólise em alguns queijos brasileiros. *Boletim do Leite*, Rio de Janeiro, v. 51, n. 661, p. 1-8, nov. 1983.

YUN, J. J.; BARBANO, D. M.; KIELY, L. J.; KINDSTEDT, P. S. Mozzarella Cheese: Impact of Rod: Coccuc Ratio on Composition, Proteolysis, and Functional Properties. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 78, n. 4, p. 751-760, Apr. 1995.

YUN, J. J.; BARBANO, D. M.; KINDSTEDT, P. S. Mozzarella cheese: impact of milling pH on chemical composition and proteolysis. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 76, n. 12, p. 3629-3638, Dec. 1993b

YUN, J. J.; KIELY, L. J.; KINDSTED, P. S.; BARBANO, D. M. Mozzarella cheese: impact of milling pH on functional properties. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 76, n. 12, p. 3639-3647, Dec. 1993a.

YUNES, V. M.; BENEDET, H. D. Desenvolvimento experimental de queijo fresco de leite de espécie bubalina. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 20, n. 3, p. 285-290, dez. 2000.

YUSSEF, M. M.; KHATTAB, R. M. Prospettive dell'allevamento bufalino in Egitto. *Bubalus bubalis*, Salerno, v. 3, n. 1, p. 7-26, 1997.

## ANEXOS

| ANEXO A  | Pág. |
|--|------|
| <b>TABELA 1A.</b> Análise de variância para os valores de cloretos no queijo mussarela de leite de búfala para pizza processado com coagulante fúngico e coalho bovino submetido a temperaturas de filagem de 75°C, 85°C e 95°C e armazenados a 9°C ± 1 por um período de 7, 17, 27 e 35 dias após a filagem dos queijos .....   | 90   |
| <b>TABELA 2A.</b> Análise de variância de acidez titulável e pH em queijo mussarela de leite de búfala para pizza, processado com coagulante fúngico e coalho bovino submetido a temperaturas de filagem de 75°C, 85°C e 95°C e armazenados a 9°C ± 1 por um período de 7, 17, 27 e 35 dias após a filagem dos queijos .....   | 90   |
| <b>TABELA 3A.</b> Análise de variância de derretimento, <i>Oiling off</i> e elasticidade em queijo mussarela de leite de búfala para pizza, processado com coagulante fúngico e coalho bovino, submetido a temperaturas de filagem de 75°C, 85°C e 95°C e armazenados a 9°C ± 1 por um período de 7, 17, 27 e 35 dias após a filagem dos queijos .....   | 91   |
| <b>TABELA 4A.</b> Análise de variância para as variáveis relacionadas com o índice de cor (L*, a*, b*) em queijo mussarela de leite de búfala para pizza (antes de assar), processado com coagulante fúngico e coalho bovino submetido a temperaturas de filagem de 75°C, 85°C e 95°C e armazenados a 9°C ± 1 por um período de 7, 17, 27 e 35 dias após a filagem dos queijos, (análise realizada antes do aquecimento do queijo) ..... | 92   |

**TABELA 5A.** Análise de variância para as variáveis relacionadas com o índice de cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b$ ) em queijo mussarela de leite de búfala para pizza (assado), processado com coagulante fúngico e coalho bovino, submetido a temperaturas de filagem de 75°C, 85°C e 95°C e armazenados a 9°C  $\pm$  1 por um período de 7, 17, 27 e 35 dias após a filagem dos queijos, (análise realizada após o aquecimento do queijo) ..... 93

**TABELA 6A.** Análise de variância para a variável relacionada com o intensidade de cor  $\Delta E^*$  em queijo mussarela de leite de búfala para pizza, processado com coagulante fúngico e coalho bovino submetido a temperaturas de filagem de 75°C, 85°C e 95°C e armazenados a 9°C  $\pm$  1 por um período de 7, 17, 27 e 35 dias após a filagem dos queijos ..... 94

**TABELA 7A.** Resultados médios das propriedades funcionais dos queijos mussarela de leite de búfala fabricados com os coalhos bovinos e coagulante fúngico, submetido à temperaturas de filagem de 75°, 85° e 95°C e armazenados a 9°C  $\pm$  1 por um período de 7, 17, 27 e 35 dias após a filagem dos queijos ..... 95

**TABELA 1A.** Análise de variância para os valores de cloretos (NaCl) no queijo mussarela de leite de búfala para pizza processado com coagulante fúngico e coalho bovino submetido a temperaturas de filagem de 75°C, 85°C e 95°C e armazenados a 9°C ± 1, por 3 dias após a filagem dos queijos.

| Fonte de variação | Gl | Quadrados médios       |
|-------------------|----|------------------------|
| Coalho (C)        | 1  | 0,041185 <sup>ns</sup> |
| Temperatura (T)   | 2  | 0,007380 <sup>ns</sup> |
| C x T             | 2  | 0,006362 <sup>ns</sup> |
| Erro              | 12 | 0,011083               |

<sup>ns</sup> (P>0,05)

**TABELA 2A.** Análise de variância de acidez titulável e pH em queijo mussarela de leite de búfala para pizza, processado com coagulante fúngico e coalho bovino submetido a temperaturas de filagem de 75°C, 85°C e 95°C, armazenados a 9°C ± 1, por um período de 7, 17, 27 e 35 dias após a filagem dos queijos.

| Fonte de variação | Gl | Quadrados médios       |                        |
|-------------------|----|------------------------|------------------------|
|                   |    | Acidez                 | PH                     |
| Coalho (C)        | 1  | 0,005633 <sup>ns</sup> | 0,000004 <sup>ns</sup> |
| Temperatura (T)   | 2  | 0,002062 <sup>ns</sup> | 0,002470 <sup>ns</sup> |
| C x T             | 2  | 0,001367 <sup>ns</sup> | 0,000914 <sup>ns</sup> |
| Erro a            | 12 | 0,004988               | 0,004736               |
| Dias (D)          | 4  | 0,037734 <sup>**</sup> | 0,092081 <sup>**</sup> |
| D x C             | 4  | 0,001427 <sup>*</sup>  | 0,002279 <sup>*</sup>  |
| D x T             | 8  | 0,000255 <sup>ns</sup> | 0,001038 <sup>ns</sup> |
| D x C x T         | 8  | 0,000439 <sup>ns</sup> | 0,000519 <sup>ns</sup> |
| Erro b            | 48 | 0,000558               | 0,000673               |

<sup>\*\*</sup> (P<0,01); <sup>\*</sup>(P<0,05); <sup>ns</sup> (P>0,05)

**TABELA 3A.** Análise de variância de derretimento, *oiling off* e elasticidade em queijo mussarela de leite de búfala para pizza, processado com coagulante fúngico e coalho bovino, submetido a temperaturas de filagem de 75°C, 85°C e 95°C e armazenados a 9°C ± 1 por um período de 7, 17, 27 e 35 dias após a filagem dos queijos.

| Fonte de variação | GI | Quadrados médios          |                          |                           |
|-------------------|----|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
|                   |    | Derretimento              | <i>Oiling off</i>        | Elasticidade              |
| Coalho (C)        | 1  | 2749,482013 <sup>ns</sup> | 74,542050 <sup>ns</sup>  | 0,599513 <sup>ns</sup>    |
| Temperatura (T)   | 2  | 26,828517 <sup>ns</sup>   | 6,940850 <sup>ns</sup>   | 68,232779 <sup>ns</sup>   |
| C x T             | 2  | 66,468650 <sup>ns</sup>   | 16,072867 <sup>ns</sup>  | 52,880637 <sup>ns</sup>   |
| Erro a            | 12 | 1003,603814               | 63,623843                | 176,432306                |
| Dias (D)          | 3  | 3825,417964 <sup>**</sup> | 422,877324 <sup>**</sup> | 2026,357598 <sup>**</sup> |
| D x C             | 3  | 206,884268 <sup>ns</sup>  | 1,247176 <sup>ns</sup>   | 15,158716 <sup>ns</sup>   |
| D x T             | 6  | 214,977646 <sup>ns</sup>  | 3,532607 <sup>ns</sup>   | 19,370914 <sup>ns</sup>   |
| D x C x T         | 6  | 403,892628 <sup>ns</sup>  | 3,248743 <sup>ns</sup>   | 29,744602 <sup>ns</sup>   |
| Erro b            | 36 | 762,481306                | 11,191215                | 70,450037                 |

\*\* (P<0,01); <sup>ns</sup> (P>0,05)

**TABELA 4A.** Análise de variância para as variáveis relacionadas com o índice de cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b$ ) em queijo mussarela de leite de búfala para pizza processado com coagulante fúngico e coalho bovino, submetido a temperaturas de filagem de 75°C, 85°C e 95°C e armazenados a  $9^{\circ}\text{C} \pm 1$ , por um período de 7, 17, 27 e 35 dias após a filagem dos queijos, (análise realizada antes do processo de aquecimento do queijo).

| Fonte de variação | Gl | Quadrados médios       |                        |                          |
|-------------------|----|------------------------|------------------------|--------------------------|
|                   |    | $a^*$                  | $b^*$                  | $L^*$                    |
| Coalho (C)        | 1  | 0,337568 <sup>ns</sup> | 5,945501 <sup>ns</sup> | 0,154939 <sup>ns</sup>   |
| Temperatura (T)   | 2  | 0,682879 <sup>ns</sup> | 2,565988 <sup>ns</sup> | 1,970172 <sup>ns</sup>   |
| C x T             | 2  | 0,064776 <sup>ns</sup> | 0,297485 <sup>ns</sup> | 0,470672 <sup>ns</sup>   |
| Erro a            | 12 | 0,439415               | 1,759451               | 51,968026                |
| Dias (D)          | 3  | 0,667405 <sup>**</sup> | 1,732950 <sup>ns</sup> | 134,801069 <sup>**</sup> |
| D x C             | 3  | 0,004161 <sup>ns</sup> | 0,236687 <sup>ns</sup> | 0,864017 <sup>ns</sup>   |
| D x T             | 6  | 0,024500 <sup>ns</sup> | 0,313136 <sup>ns</sup> | 0,295657 <sup>ns</sup>   |
| D x C x T         | 6  | 0,002908 <sup>ns</sup> | 0,143992 <sup>ns</sup> | 0,305361 <sup>ns</sup>   |
| Erro b            | 36 | 0,047847               | 1,242385               | 1,901497                 |

\*\* ( $P < 0,01$ ); <sup>ns</sup> ( $P > 0,05$ )



**TABELA 5A.** Análise de variância para as variáveis relacionadas com o índice de cor (L\*, a\*, b) em queijo mussarela de leite de búfala para pizza processado com coagulante fúngico e coalho bovino, submetido a temperaturas de filagem de 75°C, 85°C e 95°C e armazenados a (9°C ± 1) por um período de 7, 17, 27 e 35 dias após a filagem dos queijos, (análise realizada após o processo de aquecimento do queijo).

| Fonte de variação | Gl | Quadrados médios       |                         |                         |
|-------------------|----|------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                   |    | a* (aa)                | b* (bb)                 | L* (LL)                 |
| Coalho (C)        | 1  | 4,697113 <sup>ns</sup> | 15,605422 <sup>ns</sup> | 8,659735 <sup>ns</sup>  |
| Temperatura (T)   | 2  | 0,140960 <sup>ns</sup> | 1,137672 <sup>ns</sup>  | 0,408668 <sup>ns</sup>  |
| C x T             | 2  | 0,270504 <sup>ns</sup> | 2,911489 <sup>ns</sup>  | 1,530418 <sup>ns</sup>  |
| Erro a            | 12 | 2,327521               | 5,645888                | 12,658228               |
| Dias (D)          | 3  | 4,847872 <sup>**</sup> | 37,304337 <sup>**</sup> | 20,047605 <sup>**</sup> |
| D x C             | 3  | 2,086787 <sup>ns</sup> | 0,503700 <sup>ns</sup>  | 2,970257 <sup>ns</sup>  |
| D x T             | 6  | 0,313708 <sup>ns</sup> | 1,773243 <sup>ns</sup>  | 2,563622 <sup>ns</sup>  |
| D x C x T         | 6  | 0,519378 <sup>ns</sup> | 0,878122 <sup>ns</sup>  | 2,675757 <sup>ns</sup>  |
| Erro b            | 36 | 1,084602               | 2,493271                | 4,466124                |

\*\* (P<0,01); <sup>ns</sup> (P>0,05)

**TABELA 6A.** Análise de variância para as variáveis relacionadas com o índice de cor ( $\Delta E$ ) em queijo mussarela de leite de búfala para pizza processado com agente coagulante fúngico e coalho bovino submetido a temperaturas de filagem de 75°C, 85°C e 95°C e armazenados a 9°C  $\pm$  1 por um período de 7, 17, 27 e 35 dias após a filagem dos queijos.

| Fonte de variação | Gl | Quadrados médios           |
|-------------------|----|----------------------------|
| Coalho (C)        | 1  | 913,420761 <sup>ns</sup>   |
| Temperatura (T)   | 2  | 69,252846 <sup>ns</sup>    |
| C x T             | 2  | 507,033446 <sup>ns</sup>   |
| Erro a            | 12 | 618,601346                 |
| Dias (D)          | 3  | 10396,761047 <sup>**</sup> |
| D x C             | 3  | 294,877758 <sup>ns</sup>   |
| D x T             | 6  | 70,120915 <sup>ns</sup>    |
| D x C x T         | 6  | 443,028572 <sup>ns</sup>   |
| Erro b            | 36 | 541,758268                 |

\*\* (P<0,01); <sup>ns</sup> (P>0,05)

**TABELA 7A.** Resultados médios das propriedades funcionais dos queijos mussarela de leite de búfala fabricados com os coalhos bovinos e coagulante fúngico, submetido à temperaturas de filagem de 75°, 85° e 95°C e armazenados a (9°C ± 1) por um período de 7, 17, 27 e 35 dias após a filagem dos queijos.

| Variáveis                 | Temperatura   |       |       |                    |       |       |
|---------------------------|---------------|-------|-------|--------------------|-------|-------|
|                           | Coalho bovino |       |       | Coagulante fúngico |       |       |
|                           | 75°C          | 85°C  | 95°C  | 75°C               | 85°C  | 95°C  |
| Gordura                   | 30,08         | 30,88 | 29,86 | 31,70              | 31,24 | 30,49 |
| Gordura (ES)              | 50,03         | 52,17 | 50,28 | 52,65              | 52,28 | 51,08 |
| Nitrogênio Total          | 23,70         | 23,83 | 24,12 | 24,38              | 24,36 | 24,54 |
| Nitrogênio solúvel pH 4,6 | 2,25          | 2,26  | 2,23  | 2,31               | 2,31  | 2,34  |
| NNP em TCA 12%            | 1,52          | 1,49  | 1,42  | 1,50               | 1,48  | 1,49  |
| Índice Maturação (IM)     | 9,60          | 9,58  | 9,39  | 9,61               | 9,59  | 9,65  |
| Índice de Proteólise (IP) | 6,44          | 6,28  | 5,99  | 6,25               | 6,14  | 6,15  |
| Umidade                   | 39,90         | 40,35 | 40,67 | 39,59              | 40,07 | 40,13 |
| Matéria seca (MS)         | 60,08         | 59,64 | 59,31 | 60,40              | 59,92 | 59,86 |
| Acidez titulável          | 0,45          | 0,45  | 0,44  | 0,48               | 0,46  | 0,46  |
| pH                        | 5,68          | 5,67  | 5,69  | 5,67               | 5,69  | 5,70  |
| Cloreto sódio - NaCl (%)  | 1,11          | 1,09  | 1,11  | 1,15               | 1,19  | 1,28  |
| Gordura água filagem (%)  | 0,63          | 0,96  | 1,36  | 1,27               | 1,57  | 2,13  |
| Derretimento (%)          | 66,95         | 62,22 | 66,77 | 77,75              | 78,41 | 76,87 |
| <i>Oiling off</i> (%)     | 14,73         | 14,78 | 15,32 | 18,40              | 16,83 | 15,72 |
| Elasticidade (Cm)         | 40,45         | 42,00 | 40,41 | 43,39              | 41,51 | 37,43 |
| Valor de $\Delta E^*$     | 35,72         | 45,22 | 38,94 | 33,73              | 27,49 | 37,30 |
| Valor de $a^*$ (padrão)   | -5,24         | -5,36 | -5,65 | -5,14              | -5,32 | -5,41 |
| Valor de $b^*$ (padrão)   | 14,33         | 13,89 | 13,45 | 13,55              | 13,30 | 13,12 |
| Valor de $L^*$ (padrão)   | 75,09         | 75,49 | 75,90 | 75,37              | 75,73 | 75,68 |
| Valor de $a^*$ (assado)   | -4,75         | -4,54 | -4,85 | -5,32              | -5,23 | -5,13 |
| Valor de $b^*$ (assado)   | 17,83         | 18,15 | 17,12 | 16,96              | 16,50 | 16,86 |
| Valor de $L^*$ (assado)   | 68,69         | 68,64 | 69,25 | 69,46              | 69,81 | 69,42 |

médias obtidas de três observações

<sup>a,b</sup> médias com o mesmo expoente, na mesma linha, não são significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

