

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE AGRONOMIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ANA CAROLINA BORGES DE URZEDO

**AVALIAÇÃO DO RENDIMENTO E MATURAÇÃO DE
QUEIJOS PECORINO PRODUZIDOS COM LEITE DE VACA
E LIPASES DE CABRITO E CORDEIRO**

ANA CAROLINA BORGES DE URZEDO

**AVALIAÇÃO DO RENDIMENTO E MATURAÇÃO DE
QUEIJOS PECORINO PRODUZIDOS COM LEITE DE VACA
E LIPASES DE CABRITO E CORDEIRO**

Dissertação apresentada à coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás, como exigência para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Celso José de Moura

Co-orientador: Ph.D. Múcio Mansur Furtado

ANA CAROLINA BORGES DE URZEDO

**AVALIAÇÃO DO RENDIMENTO E MATURAÇÃO DE
QUEIJOS PECORINO PRODUZIDOS COM LEITE DE VACA
E LIPASES DE CABRITO E CORDEIRO**

Dissertação defendida e aprovada em de de, pela
Banca Examinadora constituída pelos membros:

Prof. Dr. Celso José de Moura
(ORIENTADOR)

Prof. Dr. Edmar Soares Nicolau
(MEMBRO)

Prof^ª. Dr.^a. Maria Cláudia Dantas Porfírio Borges André
(MEMBRO)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho
a uma pessoa que merece muito mais do que um simples agradecimento,
pois apesar de não me ter dado a benção da vida, considero como mãe...
... a você madrinha “Toninha”
Que sempre me deu muito carinho e apoio em todas as fases da minha vida
e principalmente, por ter sido a pessoa que mais me incentivou
para a realização deste trabalho de grande significância
para o meu crescimento
profissional.

AGRADECIMENTOS

A Deus, em primeiro lugar, pois sem ele eu nada seria.

À minha família, que é a base de tudo.

Ao Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás e todos seus professores e funcionários pela ajuda e conhecimento repassado.

À Capes, pela bolsa concedida que possibilitou a realização deste trabalho.

Aos meus avós que sempre me apoiaram e incentivaram a crescer profissionalmente.

Ao Celso, que foi mais do que um orientador, um pai. Agradeço de uma forma muito especial, pela grande paciência e dedicação que teve comigo e principalmente por não ter desistido de mim e acreditado que pudéssemos realizar este trabalho.

Ao Múcio, meu co-orientador, que sempre me deu apoio quando precisei, mesmo estando tão distante.

Às minhas meninas que jamais poderia deixar de mencioná-las (Marinna Barros, Pabline Mello, Gardênia Martins, Ana Caroline de Oliveira, Letícia Dias, Érica Resende, Marcela Badim e Sarah Carneiro) pela amizade, companheirismo e inestimável ajuda em toda a realização deste árduo trabalho.

Ao Prof. Robson, que com muita dedicação ajudou-me com a estatística dos resultados.

À Danisco Brasil Ltda. pelas lipases e pelas culturas lácteas doadas.

Aos meus tios e tias pelo apoio e incentivo.

Aos meus colegas de mestrado pela amizade e companheirismo.

Ao Fausto pela ajuda com as análises sensoriais.

Ao Winder do CPA que gentilmente ensinou-me algumas análises.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente ajudaram-me para a realização desta dissertação.

Muito Obrigada!

Travessia

“Há um tempo em que é preciso
Abandonar as roupas usadas
Que já têm a forma do nosso corpo...
E esquecer os nossos caminhos
Que nos levam
Sempre aos mesmos lugares

É o tempo da travessia
E se não ousarmos fazê-la
Teremos ficado para sempre
À margem de nós mesmos.”

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar: a fabricação de queijos Pecorino com leite de vaca, o rendimento de fabricação dos queijos produzidos, a proteólise e lipólise ao longo da maturação, a preferência e aceitação dos queijos produzidos e caracterizar o queijo Pecorino com leite de vaca, após 45 dias de maturação. Foram produzidos queijos Pecorino em três tratamentos: sem lipase, com lipase de cabrito e com lipase de cabrito e cordeiro. Foi analisado o rendimento das fabricações em L/kg, coeficiente GL, L/kg ajustado e pelas cifras de transferência dos componentes do leite para o queijo. Foi verificado que a adição de lipase não influenciou o rendimento. O rendimento da fabricação dos queijos Pecorino encontrado foi de 8,05 L/kg, 8,22 L/kg ajustado, 61,25 gST/L e 76,34%, 93,00% e 50,57%, de cifras de transferência de proteína, de gordura e de extrato seco total, respectivamente. Foi verificado que a umidade diminuiu e o extrato seco aumentou, o pH aumentou no início e depois teve uma ligeira queda, o teor de sal na umidade, o nitrogênio solúvel a pH 4,6, o nitrogênio não-protéico e os índices de extensão e profundidade de maturação aumentaram ao longo dos 45 dias de maturação. A adição das lipases ao leite influenciou o aumento do índice de acidez de ácidos graxos livres nos queijos Pecorino. Ao quadragésimo quinto dia de maturação houve diferença significativa entre os índices de acidez de AGL dos queijos Pecorino de todos os tratamentos. O índice de acidez de AGL dos queijos Pecorino adicionados de lipase de cabrito e cordeiro foi maior do que o dos queijos Pecorino adicionados de lipase de cabrito, que por sua vez, foi maior do que o índice de acidez de AGL dos queijos Pecorino sem lipase. Os queijos com 45 dias de maturação, apresentaram a seguinte composição: 33,41%, de umidade, 66,59% de extrato seco total, 33,26%, de extrato seco desengordurado, 25,51% de proteína, 33,33% de gordura, 50,05% de gordura no extrato seco, 2,20% de cloreto de sódio, 6,17% de sal na umidade, pH 5,49, atividade de água de 0,850. A preferência e aceitação dos queijos foram avaliadas, aos 45 dias de maturação. Os queijos sem lipase e adicionados de lipase de cabrito foram mais preferidos ($p < 0,05$) pelos provadores em relação ao queijo adicionado de lipase de cabrito e cordeiro. A adição da lipase de cabrito e cordeiro ao leite interferiu ($p < 0,05$) na aceitação e preferência do queijo Pecorino com leite de vaca, com 45 dias de maturação, tornando-o com sabor forte. O queijo Pecorino sem lipase foi mais aceito ($p < 0,05$) do que os outros dois tratamentos adicionados de lipase, mas os queijos Pecorino de todos os tratamentos foram bem aceitos.

Palavras chaves: ácido graxo livre, lipólise, proteólise, preferência, fabricação.

ABSTRACT

This study aimed to assess: the manufacture of Pecorino cheese from cow's milk, income from manufacturing of cheeses, lipolysis and proteolysis during the maturation, preference and acceptance of cheeses and characterize the Pecorino cheese, milk, cow, after 45 days of maturation. Pecorino cheeses were produced by three treatments: no lipase, with lipase of kid and with lipase of kid and lamb. It was examined the income of manufacturing in L/ kg, the coefficient GL, L / kg adjusted and the figures the transfer of components of milk to the cheese. It was found that the addition of lipase didn't influence in income. The income from the manufacture of Pecorino cheese found was 8.05 L / kg, 8.22 L / kg adjusted, 61.25 gST / L e 76.34%, 93.00% and 50.57%, the figures for transfer of protein, fat and total dry extract, respectively. It was found that the humidity decreased and dry extract increased, the pH increased at the start and then had a slight decline, the salt content in moisture, nitrogen soluble at pH 4.6, the non-protein nitrogen in the rates of extension and depth of maturity increased over the 45 days of maturity. Adding the milk lipases influenced the increase in the rate of acid free fatty acids in Pecorino cheese. At the fortieth fifth day of maturation there was significant difference between the rates of acidity of the AGL Pecorino cheeses of all treatments. The index of acidity of AGL of Pecorino cheese containing lipase of kid and lamb was higher than that of Pecorino cheese containing lipase of kid, which in turn was higher than the rate of acidity of AGL of Pecorino cheese without lipase. The cheeses with 45 days of ripening, presented the following composition: 33.41% of moisture, 66.59% of total dry extract, 33.26% of dry extract defatted, 25.51% of protein, 33.33 % of fat, 50.05% of fat in the dry extract, 2.20% of sodium chloride, 6.17% of salt in moisture, pH 5.49, the water activity of 0.850. The preference and acceptance of the cheeses were evaluated at the 45 days of maturity. Cheese without lipase and added lipase of kid were more preferred ($p < 0.05$) by the judges in relation to the cheese added of lipase of kid and lamb. The addition of lipase from kid and lamb in the milk interfered ($p < 0.05$) in the acceptance and preference of Pecorino cheese from cow's milk, with 45 days of ripening, making it with strong flavor. The Pecorino cheese without lipase was more accepted ($p < 0.05$) than the other two treatments containing lipase, but the Pecorino cheese of all treatments were well accepted.

Key Words: Free fatty acid, lipolysis, proteolysis, preferably, manufacturing.

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Composição média* do leite de vaca cru padronizado utilizado na fabricação de queijos Pecorino	47
2	Composição média* do soro coletado no tanque de fabricação antes da enformagem dos queijos Pecorino com leite de vaca adicionados ou não de lipase	48
3	Resultados médios* de rendimentos da fabricação de queijos Pecorino com leite de vaca com lipases de diferentes origens	49
4	Composição média* dos Queijos Pecorino sem lipase, adicionado de lipase de cabrito e de lipase de cabrito e cordeiro, após 45 dias de maturação	59
5	Notas atribuídas por 50 provadores de acordo com a preferência a queijos Pecorino fabricados com leite de vaca e adicionados de lipase de cabrito e lipase de cabrito e cordeiro e sem adição de lipases	60

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Esquema geral de proteólise decorrente da ação microbiana durante a maturação de queijos	23
2	Fluxograma do desenvolvimento experimental	36
3	Fluxograma de produção de queijo Pecorino produzido com leite de vaca adaptado de Furtado (2005b)	37
4	Ficha de avaliação de ordenação-preferência	45
5	Ficha de avaliação de aceitação com escala hedônica estruturada de nove pontos	46
6	Extrato Seco Total e Umidade de queijos Pecorino fabricado com leite de vaca, ao longo de 45 dias de maturação	50
7	pH de queijos Pecorino fabricado com leite de vaca, ao longo de 45 dias de maturação	51
8	Teor de sal na umidade de queijos Pecorino fabricado com leite de vaca, ao longo de 45 dias de maturação	52
9	Teor de Nitrogênio Solúvel a pH 4,6 e Índice de extensão de maturação na base seca de queijos Pecorino fabricado com leite de vaca, ao longo de 45 dias de maturação	53
10	Teor de Nitrogênio não-protéico e Índice de profundidade de maturação na base seca de queijo Pecorino fabricado com leite de vaca, ao longo de 45 dias de maturação	54
11	Evolução dos índices de acidez de AGL em queijos Pecorino fabricados com leite de vaca com ou sem adição de lipases	57
12	Queijo Pecorino produzido com leite de vaca com 45 dias de maturação	59
13	Média de afetividade da aceitação atribuída por 200 provadores para queijos Pecorinos fabricados com lipase de cabrito e cordeiro, na cidade de Goiânia em 2007	61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGL: Ácido graxo livre

AOAC: Association of Official Analytical Chemists

BAL: Bactérias ácido lácticas

CCS: Contagem de células somáticas

CPA: Centro de Pesquisa de Alimentos

DCU: Um DCU da cultura representa uma população de pelo menos 1×10^{10} células

DIPOA: Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal

DOC: Denominação de Origem Controlada

ESD: Extrato seco desengordurado

EST: Extrato seco total

LPL: Lipoproteína lipase

MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

NNP: Nitrogênio não protéico

NS 4,6: Nitrogênio solúvel a pH 4,6

QLC: Queijo Pecorino com lipase de cabrito

QLCC: Queijo Pecorino com lipase de cabrito e cordeiro

QSL: Queijo Pecorino sem lipase

TCA: Ácido tricloroacético

UFG: Universidade Federal de Goiás

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1 QUEIJOS NO BRASIL	15
2.2 QUEIJO PARMESÃO	16
2.3 QUEIJO PECORINO	16
2.3.1 Processo básico de elaboração do queijo Pecorino venezuelano	18
2.4 MATURAÇÃO EM QUEIJOS	20
2.4.1 Proteólise em queijos	20
2.4.1.1 Índice de extensão e profundidade de maturação	23
2.4.2 Lipólise em queijos	25
2.4.2.1 Lipases	27
2.4.3 Fatores que influenciam na maturação de queijos	28
2.5 RENDIMENTO DE FABRICAÇÃO DE QUEIJOS	30
2.5.1 Fatores que afetam o rendimento de queijos	30
2.5.2 Rendimento econômico e técnico de queijos	31
2.5.3 Determinação do rendimento técnico de queijos	31
2.5.3.1 Cifras de transferência dos componentes do leite para o queijo	32
2.5.3.2 Coeficiente GL	32
2.5.3.3 Rendimento litros por quilo ajustado	33
3 OBJETIVOS	35
3.1 OBJETIVO GERAL	35
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	35
4 MATERIAL E MÉTODOS	36
4.1 DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL	36
4.2 ELABORAÇÃO DOS QUEIJOS PECORINOS PRODUZIDOS COM LEITE DE VACA	37
4.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	40
4.3.1 Análises físico-químicas realizadas no leite	40
4.3.1.1 Análises físico-químicas realizadas no leite cru padronizado	40
4.3.1.2 Análise físico-química realizadas no leite pasteurizado padronizado	41
4.3.2 Análises físico-químicas realizadas no soro	41
4.3.3 Análises físico-químicas realizadas nos queijos Pecorino	41
4.4 RENDIMENTO TÉCNICO DE FABRICAÇÃO DE QUEIJOS	43
4.5 CIFRAS DE TRANSFERÊNCIA DOS COMPONENTES DO LEITE PARA O QUEIJO	44
4.6 TESTE DE PREFERÊNCIA	44
4.7 TESTE DE ACEITAÇÃO AO NÍVEL DE CONSUMIDOR	45
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA	46
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	47
5.1 COMPOSIÇÃO DO LEITE	47
5.2 COMPOSIÇÃO DO SORO	48

5.3	RENDIMENTO DE QUEIJOS PECORINO PRODUZIDOS COM LEITE DE VACA	48
5.4	AVALIAÇÃO DE MATURAÇÃO DE QUEIJOS PECORINO FABRICADOS COM LEITE DE VACA, AO LONGO DE 45 DIAS	50
5.4.1	Extrato seco e Umidade dos queijos Pecorino	50
5.4.2	pH dos queijos Pecorino	51
5.4.3	Sal na umidade dos queijos Pecorino	52
5.4.4	Nitrogênio solúvel em pH 4,6 (NS 4,6) e Índice de extensão de maturação dos queijos Pecorino	53
5.4.5	Nitrogênio não-protéico (NNP) e Índice de profundidade de maturação dos queijos Pecorino	54
5.4.6	Índice de acidez de AGL dos queijos Pecorinos	56
5.5	CARACTERIZAÇÃO DOS QUEIJOS PECORINO PRODUZIDOS COM LEITE DE VACA, AOS 45 DIAS DE MATURAÇÃO	58
5.6	TESTE DE PREFERÊNCIA	60
5.7	TESTE DE ACEITAÇÃO AO NÍVEL DE CONSUMIDOR	61
5.8	CONSIDERAÇÕES SOBRE A FABRICAÇÃO DO QUEIJO PECORINO..	62
6	CONCLUSÃO	63
	REFERÊNCIAS	64

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, são fabricadas mais de mil variedades de queijos no mundo, que se diferem quanto à origem do leite, ao processo tecnológico, ao teor de umidade e ao período de maturação, dentre outros fatores. No Brasil, a maioria dos queijos tem origem em outros países, mas foram adaptados às condições locais, às preferências do consumidor brasileiro e à oferta de leite nas diferentes bacias leiteiras do país. O Brasil conta com indústrias de laticínios modernas que produzem uma grande variedade de queijos. Em paralelo a estas, encontram-se inúmeras fábricas de pequeno porte. Estas, geralmente, não possuem capital para investir no desenvolvimento de produtos de maior valor agregado, a ser oferecido ao consumidor. Por isso estas pequenas fábricas processam queijos que quase sempre, não conseguem mercado e como alternativa, são destinados à ralação e não ao consumo de mesa, que é o mercado de maior valor.

O queijo Parmesão é muito apreciado ralado para usos diversos na culinária, como também para o consumo de mesa. Para atingir a qualidade de um queijo para mesa são necessários investimentos de altas montas para o processamento e sua maturação, o que pequenas indústrias nem sempre dispõem. Já o queijo para ralar é fabricado com um custo menor, mas agrega menos valor ao produto. A produção de um queijo que apresente características semelhantes ao queijo Parmesão de mesa, porém com um rendimento de fabricação maior e custos de produção menores pode ser uma alternativa de aumento de rentabilidade para esses pequenos industriais.

O queijo Pecorino, originalmente produzido na Itália com leite de ovelha, atualmente, é produzido na Venezuela com leite de vaca, onde é muito consumido como substituto ao queijo Parmesão por apresentar sabor, aroma e características gerais semelhantes. Sua fabricação apresenta alto rendimento industrial e exige pouco investimento, principalmente na maturação, que é de 45 dias.

O tempo de maturação de um queijo varia de acordo com o tipo e suas características específicas. A maturação é um processo caro, pois demanda, em geral, câmaras especiais com temperatura e umidade controladas; além disso, é um processo lento, principalmente para queijos de baixa umidade, como o Parmesão, o que diminui o capital de giro do produtor por retardar a comercialização do produto. Em alguns casos, pressões financeiras e comerciais têm levado produtores brasileiros a vender seus queijos antes do tempo adequado de maturação, descaracterizando o produto.

O queijo Pecorino venezuelano exige um período de maturação menor em relação ao queijo Parmesão, que é de 180 dias, devido ao seu processo de fabricação peculiar e à utilização de lipases de cabrito ou cordeiro ou a mistura destas duas, que proporcionam o sabor e o aroma característicos do queijo Pecorino com 45 dias de maturação. Portanto, sua produção pode-se tornar economicamente mais viável do que a do Parmesão, tornando-se uma alternativa a este, principalmente, para pequenos fabricantes que necessitam de um retorno rápido de capital.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 QUEIJOS NO BRASIL

Segundo a Portaria nº 146 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, entende-se por “queijo o produto fresco ou maturado que se obtêm por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, de enzimas específicas, de bactérias específicas, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e, ou especiarias e, ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes” (BRASIL, 1996).

Conforme dados do DIPOA, em 2005, os queijos foram os terceiros produtos lácteos mais produzidos no Brasil, atingindo 661 mil toneladas. Estes dados ilustram bem a importância social e econômica do produto (BOURROUL, 2006). No Brasil, em 2005, o consumo de queijos foi de 2,6 kg *per capita* (EMBRAPA GADO DE LEITE, 2008).

A grande variedade de queijos produzidos no Brasil reflete a formação cultural do país. Há queijos tipicamente brasileiros e outros inspirados nos conhecimentos queijeiros trazidos por franceses, dinamarqueses, italianos e, mais recentemente, os introduzidos por hábitos alimentares ingleses e americanos (ABIQ, 2006b).

A maior produção brasileira de queijos se encontra no Estado de Minas Gerais, com cerca de 200.000 t/ano, e responde pela metade do consumo nacional. A maior parte dessa produção é oriunda de pequenas e médias queijarias. Em algumas regiões do Estado, o setor queijeiro emprega cerca de trinta mil famílias de pequenos proprietários rurais e movimenta mensalmente algo em torno de dez milhões de reais (PERRY, 2004).

O Estado de Goiás possui a quarta maior bacia leiteira do país (MILKPOINT, 2008). A produção goiana de lácteos em 2006, segundo dados do Sindicato das Indústrias de Laticínios do Estado de Goiás foi de aproximadamente 2,8 milhões de t/ano (ABIQ, 2006b). Os laticínios goianos processam desde produtos simples como leite tipo C até o *butter oil*, um dos mais finos derivados lácteos. Em 2005, Goiás produziu 36.851.957 queijos, desde os mais simples como o tipo Mussarela, até os mais finos como o Parmesão de mesa (SEPLAN, 2008).

2.2 QUEIJO PARMESÃO

Segundo a Portaria nº 353 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento “entende-se por queijo Parmesão, Parmesano, Sbrinz, Reggiano e Reggianito os queijos maturados que se obtêm por coagulação do leite por meio do coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada pela ação de bactérias lácticas específicas” (BRASIL, 1997).

Dentre os quatro queijos mais produzidos no Brasil (Mussarela, Prato, Minas Frescal e Parmesão), o Parmesão destaca-se como um dos mais importantes, sendo o quarto mais fabricado. É um queijo muito apreciado, especialmente quando ralado, como ingrediente para diversas aplicações culinárias; quando filetado, em saladas e *carpaccio*, mas também se destina ao consumo de mesa sob a forma de fatias ou queijo inteiro (ABIQ, 2006b; MOURA, 2001).

O Parmesão é um queijo de origem italiana, mas bastante popular no Brasil, fabricado com leite de vaca cru ou pasteurizado e, ou reconstituído, padronizado, geralmente pela remoção de creme, o que reduz o rendimento do queijo (GOVINDASAMY-LUCEY et al., 2004; PERRY, 2004). Caracteriza-se por ser um queijo de baixo teor de umidade (até 35,9%), semi-gordo (25-44,9% de gordura no extrato seco), de massa cozida, pré-prensada, prensada, moldada, salgada e maturada. Apresenta consistência dura e textura compacta e granulosa, sem olhaduras, com crosta grossa (4-8 mm), bem formada, firme, lisa e não pegajosa; cor ligeiramente amarelada; sabor levemente picante e salgado; odor suave e característico; formato cilíndrico, devendo pesar entre 5-10 kg. Deve ser armazenado em temperatura não superior a 18 °C (BRASIL, 1997; PERRY, 2004). O período de maturação é de, no mínimo, seis meses, podendo ultrapassar dois anos (PERRY, 2004).

2.3 QUEIJO PECORINO

O queijo Pecorino original, fabricado há séculos na Itália, é tradicionalmente elaborado com leite cru de ovelha, e possui maturação longa. A maioria dos Pecorinos apresenta massa fechada e a coloração interna é sempre esbranquiçada, devido à ausência de β -caroteno no leite de ovelha (FURTADO, 2005b). Sua produção pode ser considerada como um sistema pastoril típico da região do mediterrâneo, extremamente valorizada no mercado local da região Apúlia na Itália. Geralmente, é produzido na estação de maior produção de

leite, sendo assim um produto sazonal (SANTILLO et al., 2007). Na Itália existem diversos tipos de Pecorino, de acordo com a região de fabricação, sendo os mais famosos o Pecorino Romano e o Sardo. O primeiro é da região do Lazio e da Sardenha, pesa cerca de 23 kg, é maturado por um ano, possui massa muito branca, sabor acentuado e é fabricado com leite cru de ovelha inoculado com uma cultura natural de bactérias ácido lácticas termofílicas, tais como *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis* and *Lb. helveticus* (FURTADO, 2005b; DI CAGNO et al., 2003). O Pecorino Romano é coagulado a 37-39 °C com uma pasta de coagulante de cordeiro, a massa da coalhada é cozida a 45-46 °C, e prensada manualmente. O queijo é cilíndrico, com 25-32 cm de altura e 25-30 cm de diâmetro (DI CAGNO et al., 2003). Este queijo possui um *flavor* particular (picante), que tem sido atribuído à pasta de coagulante de cordeiro, a qual contém várias lipases que liberam ácidos graxos livres durante a maturação do queijo. Estes ácidos graxos livres influenciam direta e indiretamente no sabor e aroma desses queijos (ADDIS et al., 2005).

O Pecorino Sardo, tradicional da região da Sardenha, é elaborado de forma caseira em fazendas, com leite cru de ovelha e maturado por até 12 meses, porém de menor porte (de 1-4 kg) e de massa semi-cozida (41-42 °C) (FURTADO, 2005b). Nas fábricas de queijos, é elaborado com leite de ovelha pasteurizado inoculado com soro fermento proveniente da incubação a 42-45 °C do soro resíduo da fabricação da ricota por 18-20 horas (MANNU, et al., 2002). É um queijo cilíndrico, de faces planas (MADRAU et al., 2006). Apresenta intensa grana e sabor picante típico (FURTADO, 2005b). Há dois tipos de Pecorino Sardo: o “doce”, quando o tempo de maturação é curto (20-60 dias) e o maturado, quando o período de maturação é maior do que dois meses (MADRAU et al., 2006). Tanto o Pecorino Romano como o Sardo possuem proteção do nome de origem na Itália, portanto, são queijos de Denominação de Origem Controlada – DOC (FURTADO, 2005b).

Supõe-se que, por influência de imigrantes italianos que vieram viver nos países latino-americanos, o Pecorino, assim como o Parmesão e o Mussarela foram introduzidos nos hábitos alimentícios de toda população, adaptando-se as tecnologias de produção às condições locais, tanto no referente ao leite, ao clima e aos hábitos de consumo. O queijo que se elabora com este nome na Venezuela, país onde os imigrantes italianos tiveram forte influência na indústria leiteira, é um dos queijos maturados venezuelanos mais conhecidos e consumidos no país, principalmente para acompanhar macarrão (ralado) e também como aperitivo, em substituição ao Parmesão por possuir um custo mais baixo. O Pecorino venezuelano não apresenta as mesmas características do original italiano, sendo elaborado com leite de vaca pasteurizado. O queijo apresenta formato cilíndrico, de faces planas, tem um diâmetro de

cerca de 13 cm e pesa aproximadamente 1 kg. É um queijo de alto teor de gordura, elaborado com leite de vaca integral, de consistência firme (para ralar), não oleosa, sem olhaduras gasosas e de cor amarelo palha no interior. Ao corte, a massa apresenta pequenos olhos mecânicos, já que não é prensada (FURTADO, 2005b).

Tradicionalmente, a coalhada do Pecorino tem sido moldada em dois tipos de cestas plásticas especiais e por esta razão a casca do queijo apresenta riscos típicos das tranças das formas. Antigamente essas cestas eram feitas de fibra vegetal, conhecidas na Venezuela como Bejuco. O queijo Pecorino venezuelano é maturado por 6 a 7 semanas, período suficiente para que adquira um sabor acentuado característico, resultado também da adição de lipases de cabrito ou ovelha ao leite. Tradicionalmente este queijo apresenta-se coberto com resina plástica, transparente ou de cor negra. Tem uma modalidade de Pecorino venezuelano, no qual se incorpora grãos inteiros de pimenta do reino na massa (FURTADO, 2005b).

Sua composição média esperada, após cura de 4- 6 meses, é de: 33-34% de umidade, 66 - 67% de sólidos totais, 36 - 40% de gordura, 54 - 60% de gordura no extrato seco, 2,4 - 3,0 % de cloreto de sódio e com pH de 5,1 - 5,2. De acordo com esta composição e segundo a classificação de queijos de Brasil (1996), o queijo Pecorino classifica-se como um queijo gordo (45 - 59,9 %) e de baixa umidade (até 35,9 %).

2.3.1 Processo básico de elaboração do queijo Pecorino venezuelano

Segundo Furtado (2005b), o processo de elaboração do queijo Pecorino produzido na Venezuela tem as seguintes características:

- **Leite:** pasteurizado integral (71-72 °C) ou padronizado para 3,6-3,7% de gordura.
- **Temperatura de coagulação:** 33-34 °C.
- **Cloreto de cálcio:** 10 a 20 g para cada 100 litros de leite.
- **Nitrato de sódio ou potássio (opcional):** o máximo permitido pela legislação é de 20g para cada 100 litros de leite.
- **Lipase:** é adicionada ao leite de acordo com as recomendações do fornecedor.
- **Cultivos:** em geral trata-se de uma mistura de bacilos selecionados (*Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*) e cocos termofílicos (*Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*) com alto poder acidificante no tanque e boa capacidade proteolítica durante a maturação do Pecorino. Eventualmente um cultivo puro de *Lactobacillus helveticus* pode ser usado (direto ou cultivado em leite ou soro). Na

Venezuela, o Pecorino também é elaborado com soro fermento preparado por acidificação natural do soro do dia anterior durante 24 horas a 45 °C.

- **Coalho:** recomenda-se o uso de coalho com alto teor de quimosina. A quantidade deve ser suficiente para obter uma floculação do leite em 10 a 13 minutos e o endurecimento da coalhada em mais 3 a 5 minutos.
- **Corte da coalhada:** uma vez que a coalhada tenha adquirido a consistência desejada (bem branda), é cortada lentamente com liras por 8 a 10 minutos, até obter cubos médios do tamanho de um grão de milho. A acidez do soro estará entre 12-13 °D.
- **Agitação e aquecimento:** uma vez que os grãos estejam no tamanho adequado, o aquecimento se inicia de forma indireta (na camisa do tanque) a uma velocidade de aproximadamente 1 °C por minuto (cerca de 15 minutos), até a temperatura final de cozimento, entre 47-48 °C.
- **Agitação final:** é feita até que o grão apresente a consistência ideal, em cerca de 5 minutos, sempre à temperatura final de cozimento.
- **Descarga total da massa e soro:** não é realizado nenhum tipo de pré-prensagem.
- **Enformagem:** é feita com massa e soro misturados, o mais rápido possível. São utilizadas formas plásticas de dois tamanhos: a maior recebe o soro com a massa no momento da enformagem e a menor recebe a massa já bem dessorada quando for fazer a primeira viragem.
- **Prensagem:** não há nenhuma prensagem dos queijos.
- **Fechamento da face superior do queijo:** ao final do período de enformagem (em torno de 30 a 40 minutos para um tanque de 5.000 litros de leite), os queijos, dentro das formas, são colocados invertidos sobre um tanque raso de aço inox. Em seguida, adiciona-se água quente (em torno de 60-65 °C), suficiente para cobrir dois terços da forma. Os queijos permanecem cerca de 10 minutos sob esse processo térmico.
- **Viragens:** os queijos são retirados da água quente e virados regularmente por um período de uma a duas horas. Em seguida, os queijos são retirados das formas e conduzidos à salmoura.
- **Salga:** os queijos são salgados por dois dias em salmoura com 20% de sal, a 10-12 °C. Recomenda-se cobrir a face exposta dos queijos com sal e virá-los 2 vezes ao dia na salmoura.
- **Secagem:** quando retirados da salmoura, os queijos são deixados secar por 24 horas, a temperatura de 15-20 °C.

- **Formação da “pele”:** os queijos são mantidos por mais 24 horas a 24-26 °C, para eventual exudação da gordura, que formaria uma “pele” sobre a casca.
- **Maturação:** o tempo mínimo de maturação é de 45 dias, em câmaras a 14-16 °C, com umidade relativa do ar de 80 a 85%. Com 3 a 4 dias de maturação os queijos são pintados com uma resina especial (transparente ou negra). Os queijos devem ser virados periodicamente (na primeira semana a cada 3 dias e a seguir a cada 7 dias).
- **Rotulagem e venda dos queijos:** tipicamente, rótulos de papel são colocados sobre o queijo e depois resinados para sua impermeabilização.

2.4 MATURAÇÃO EM QUEIJOS

A Maturação é uma etapa da produção de queijos, em que estes são mantidos, por um período, em câmaras especiais com temperatura e umidade controladas. Neste período, ocorre uma série de processos bioquímicos (glicólise, proteólise e lipólise) e microbiológicos, que caracterizarão o *flavor* e a textura específicos e individuais de cada variedade de queijo (FOX, 1993; FOX; LAW, 1991; McSWEENEY, 2004; PERRY, 2004). As mudanças microbiológicas, as quais podem ocorrer nos queijos durante a maturação incluem a morte e lises da cultura lática inicial, o crescimento de uma microbiota extrínseca e, em muitas variedades, o desenvolvimento de uma microbiota secundária (McSWEENEY, 2004).

Os três processos bioquímicos (a glicólise, a proteólise e a lipólise) que ocorrem durante a maturação dos queijos transformam seus principais constituintes (lactose, proteínas e lipídeos) em produtos primários e depois, secundários. As proteínas são transformadas em peptídeos, aminoácidos, aminas, ácidos, tiols e tioésteres; os lipídeos em ácidos graxos livres, metil-cetonas, lactonas e ésters; a lactose em ácidos orgânicos (ácido láctico, acético e propiônico), dióxido de carbono, ésters e álcoois, os quais, em concentrações e combinações adequadas, conferem aos queijos sabor, aroma, textura e aparência características (FOX, 1993; FOX; LAW, 1991; McSWEENEY, 2004; PERRY, 2004).

2.4.1 Proteólise em queijos

A proteólise é a degradação das proteínas, passando pelos peptídeos de tamanho intermediário até os de cadeia curta e aminoácidos, que pode ocorrer no leite, na sua coagulação induzida enzimaticamente e na maturação do queijo (BELITZ; GROSCH, 1997;

FOX, 1993; FOX; LAW, 1991; McSWEENEY, 2004). É, provavelmente, o mais complexo e principal evento bioquímico primário que ocorre durante a maturação da maioria dos tipos de queijos para o desenvolvimento de *flavor* e mudança de textura (BENEVIDES, et al., 2000; FOX, 1993; FOX; LAW, 1991; GARCIA-PALMER et al., 1997; McSWEENEY, 2004; McSWEENEY; SOUSA, 2000).

A mudança da textura deve-se, principalmente, à hidrólise da micela de caseína pela proteólise, pela mudança do pH (que geralmente aumenta devido à formação de NH_3 e pode causar outras mudanças como a migração e a precipitação do fosfato de cálcio) e à diminuição da atividade de água da massa do queijo devido às mudanças na água ligada por novos ácidos carboxílicos e grupos aminos formados na hidrólise, ao crescimento microbiano, à perda de umidade e a difusão do sal (CERVANTES; LUND; OLSON, 1983; FOX, 1993; McSWEENEY, 2004; McSWEENEY; SOUSA, 2000). Em queijos macios extra-maturados os processos proteolíticos podem chegar a liquefazer toda a massa (BELITZ; GROSCH, 1997).

Quanto ao desenvolvimento de *flavor* e *off-flavor*, a proteólise contribui diretamente com a produção de peptídeos de cadeia curta e aminoácidos, podendo conferir até um sabor indesejável - o amargor, ou indiretamente, pois facilita a liberação de compostos sápidos, quando os aminoácidos livres são catabolizados em aminas, ácidos, aldeídos, álcoois, tióis, tioésteres e amônia, durante a mastigação (FOX, 1993; McSWEENEY, 2004; McSWEENEY; SOUSA, 2000; PERRY, 2004). O gosto amargo é resultado da formação e, sobretudo, do acúmulo de peptídeos hidrofóbicos de baixo peso molecular, durante o processo de maturação do queijo (FOX, 1993). Augusto (2003), trabalhando com queijo Prato, afirma que a intensidade do gosto amargo é dependente do tipo de coagulante e do tempo de maturação.

A atividade proteolítica em queijos é principalmente determinada pelo tipo e níveis presentes de coalho residual na massa do queijo, enzimas nativas do leite (como a plasmina), proteinases e peptidases do fermento láctico e, ou microbiota natural do leite, proteinases exógenas ou peptidases adicionadas ao leite para acelerar a maturação, pela relação sal na umidade, pela temperatura de maturação e mudanças no pH durante a maturação (FOX; LAW, 1991; LAWRENCE; CREAMER; GILLES, 1987; McSWEENEY, 2004).

A maior fonte de enzimas proteolíticas é o coagulante residual, que na maioria das vezes é a quimosina (McSWEENEY, 2004). A atividade proteolítica do coagulante ativo remanescente na massa é dependente da quantidade do coagulante utilizado na fabricação, do pH do queijo e da temperatura de cozimento da coalhada durante o processamento. Em pH baixo, mais quimosina se encontra associada com a paracaseína. Entretanto, quando o

cozimento da massa ocorrer em temperaturas elevadas menor será o teor de coalho residual (WALSTRA; NOOMEN; GEURTS, 1999).

A quimosina, em solução, age preferencialmente sobre a α_{S1} -caseína, resultando em peptídeos menores que são rapidamente hidrolisados pelas proteinases da cultura inicial. Quando age sobre a β -caseína, pode degradá-la em peptídeos hidrofóbicos de cadeia curta, que proporcionam sabor amargo aos queijos. A α_{S2} -caseína é mais resistente à hidrólise da quimosina do que a α_{S1} -caseína. A quimosina restringe a hidrólise da α_{S2} -caseína às regiões hidrofóbicas da molécula. A para- κ -caseína parece não ser hidrolisada (McSWEENEY, 2004).

Em queijos cuja massa é cozida em altas temperaturas, por exemplo, o Gruyère e o Parmesão, a plasmina é a principal enzima proteolítica, pois além de ocorrer ativação do plasminogênio à plasmina nestas temperaturas, ela resiste às altas temperaturas enquanto que a atividade da quimosina é perdida (McSWEENEY, 2004; PERRY, 2004). Esta enzima possui um pH ótimo ao redor de 7,5 (FERREIRA, 2004). A especificidade da plasmina se dá na ordem: β -caseína e α_{S2} -caseína > α_{S1} -caseína; a κ -caseína parece ser resistente à ação desta proteinase (McSWEENEY, 2004).

Além da plasmina, o leite possui outras proteinases nativas do leite, como as catepsinas B e D, as quais têm origem nos leucócitos das células somáticas. Ambas possuem especificidade sobre as caseínas, mas a catepsina D possui especificidade similar a da quimosina. Embora haja similaridade, essa enzima não contribui muito para a maturação da maioria dos queijos, principalmente aqueles feitos com leite pasteurizado, pois a catepsina D perde sua atividade, cerca de 92%, com a pasteurização e também, por se encontrar na fase sérica do leite, é perdida em grandes quantidades durante a drenagem do soro (McSWEENEY, 2004).

As proteinases e peptidases das BAL (Bactérias ácido lácticas) são essenciais para a maturação de queijos. Dentre as BAL mais estudadas, os *Lactococcus* se destacam por possuir a enzima proteolítica “lactocepina”. Esta degrada os peptídeos de tamanho intermediário, provenientes da degradação da caseína pela ação da quimosina ou da plasmina. As peptidases são importantes para a fase final da proteólise, durante a maturação dos queijos, por liberar os aminoácidos livres. As bactérias propiônicas, por exemplo, são fracamente proteolíticas, mas são altamente peptidolíticas (McSWEENEY, 2004).

Em queijos semi-duros, ocorrem dois processos simultâneos de maturação: um, o usual, ocorre no interior da massa, onde as ligações peptídicas das proteínas são quebradas, liberando peptídeos pequenos e aminoácidos; o outro ocorre na casca onde as proteínas

podem ser degradadas até a formação de amônia (PERRY, 2004). A amônia produzida por desaminação contribui ao *flavor* de certas variedades de queijo. Se produzida em quantidade suficiente pode contribuir para a elevação do pH, durante a maturação (McSWEENEY, 2004).

Os peptídeos, produtos da ação do coagulante, são sem gosto ou amargos e não contribuem diretamente ao sabor e aroma típicos dos queijos, entretanto sua produção, principalmente nas primeiras semanas de maturação, é essencial para suavizar a textura borrachenta e elástica do queijo. Os peptídeos menores estão mais relacionados com o sabor e o *flavor* dos queijos; proporcionam um sabor característico (“umami”), que varia de amargo, passando pelo ácido e doce a salgado e picante (LAW, 2001). A Figura 1 apresenta um esquema geral de proteólise em queijos.

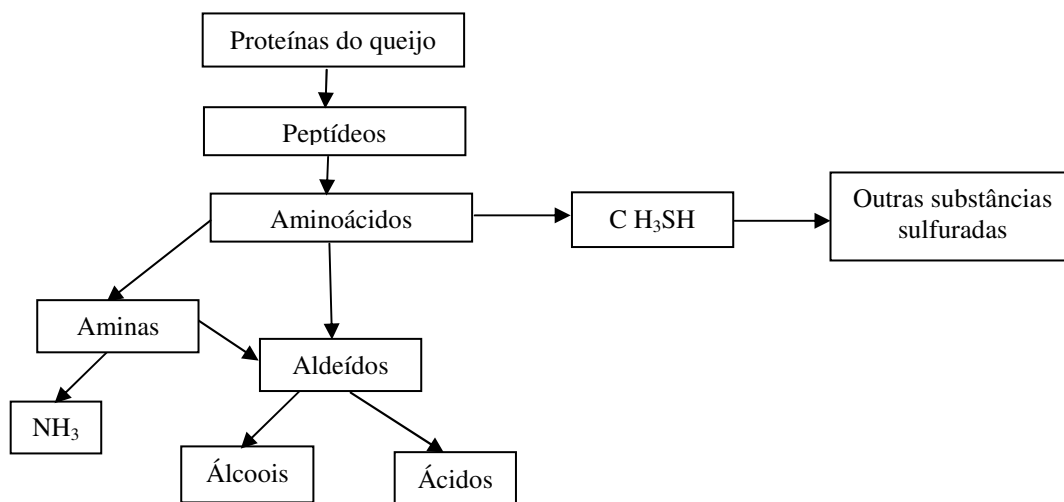


Figura 1. Esquema geral de proteólise durante a maturação de queijos.

Fonte: Perry (2004) adaptada.

Algumas tentativas têm sido realizadas para relacionar a proteólise dos queijos com o tempo de maturação e a intensidade do *flavor*, em particular, se os aminoácidos livres refletem o grau de maturação do queijo (GARCIA-PALMER et al., 1997). Os aminoácidos livres, tais como cisteína, metionina, isoleucina, valina e fenilalanina são intermediários na produção do *flavor* dos queijos; e outros aminoácidos como a prolina e o ácido glutâmico influenciam o perfil do *flavor* diretamente (McSWEENEY, 2004).

2.4.1.1 Índice de extensão e profundidade de maturação

A proteólise, sendo o parâmetro mais utilizado como indicador de maturação, pode ser expressa por meio de índices de extensão e profundidade de maturação. No entanto, não há uma divisão precisa onde começa um índice e termina o outro (NARIMATSU et al., 2003).

Estes índices aumentam com o avanço da maturação e são estimados pela proteólise da caseína em peptídeos e aminoácidos solúveis em filtrados ácidos preparados de queijo, através da avaliação da proporção entre nitrogênio total e nitrogênio solúvel, assim denominado o nitrogênio oriundo de matéria orgânica (PERRY, 2004).

A determinação analítica do índice de extensão de maturação é baseada na precipitação isoeletrica da caseína a pH 4,6 em uma amostra diluída de queijo e na quantificação das substâncias solúveis através do método de Kjeldahl. O índice de extensão de maturação é determinado pela seguinte fórmula (WOLFSCHOON-POMBO; LIMA, 1989):

$$\text{Índice de extensão} = \frac{\text{NS} \times 100}{\text{NT}}$$

Onde NS = nitrogênio solúvel a pH 4,6

NT = nitrogênio total

O índice de extensão, que mede o desdobramento do nitrogênio total em nitrogênio solúvel a pH 4,6, está fundamentalmente relacionado com as proteinases naturais do leite como a plasmina e do agente coagulante, as quais degradam a proteína em peptídeos de alto e médio peso molecular (proteólise primária) (FERREIRA, 2004; NARIMATSU et al., 2003; MORENO et al., 2002). As diferenças no conteúdo de nitrogênio solúvel a pH 4,6 nos queijos devem-se à temperatura de cozimento da massa do queijo, ao pH do soro drenado, ao conteúdo de umidade e pH do queijo, e ao tempo e temperatura de maturação (McSWEENEY, 2004). Di Cagno et al. (2003) em suas pesquisas, determinaram um índice de extensão de $20,2 \pm 1,8\%$ para o Pecorino Romano maturado por 12 meses. Madrau et al. (2006) obtiveram um valor mais alto, $32,4 \pm 3,7\%$ para Pecorino Sardo, após 7 meses de maturação. Öner, Karahan e Aloglu (2006) obtiveram um índice de extensão de maturação de 16,74%, para o queijo Branco Turco maturado em 105 dias. Estes autores afirmam que dependendo do tipo de queijo, o índice de extensão pode estar na faixa de 10-60%.

O índice de profundidade de proteólise está relacionado principalmente com a atividade das endo e exoenzimas da cultura láctica empregada na fabricação do queijo e de possíveis contaminantes, que degradam os peptídeos de alto e médio peso molecular, oriundos da degradação da caseína, em peptídeos de baixo peso molecular, os quais em excesso, conferem o sabor amargo aos queijos e em substâncias nitrogenadas de baixo peso molecular, como aminoácidos, oligopeptídeos, aminas, uréia e amônio (CANDIOTI et al., 2002; FERREIRA, 2004; MORENO et al., 2002; NARIMATSU et al., 2003; OLIVEIRA, 2001; PEROTTI et al., 2004). A quantificação do índice de profundidade pode ser obtida pelo teor

de nitrogênio não protéico (NNP), os quais são solúveis em ácido tricloroacético (TCA) a 12%, ou pela determinação direta do aminoácido produzido e expresso como percentual de proteína solúvel total (OLIVEIRA, 2001; WOLFSCHOON-POMBO; LIMA, 1989).

$$\text{Índice de profundidade} = \frac{\text{NNP} \times 100}{\text{NT}}$$

Os índices proteolíticos podem ser avaliados através da utilização de técnicas objetivas, como precipitação fracionada com ácidos ou solventes, eletroforese, cromatografia, espectrofotometria, e métodos subjetivos como provas sensoriais (VENEMA; HERSTEL; ELENBAAS, 1987).

2.4.2 Lipólise em queijos

Durante a maturação, ocorre a lipólise, que é uma reação de hidrólise dos triglicerídeos do queijo em ácidos graxos, devido à ação de lipases nativas, endógenas e/ ou exógenas (McSWEENEY, 2004; McSWEENEY; SOUSA, 2000; PERRY, 2004). O índice de lipólise varia em diferentes tipos de queijo, dependendo da qualidade do leite e principalmente da tecnologia de fabricação (CABONI; ZANNONI; LERCKER, 1990).

As reações de lipólise ocorrem por ação dos agentes lipolíticos que são os microrganismos presentes no leite ou no queijo, enzimas nativas do leite, como a lipoproteína lipase (LPL) no caso de queijos produzidos com leite cru, coagulante (no caso de pasta de renina, que é uma mistura de quimosina com esterases pré-gástricas), ou através de enzimas (lipases) adicionadas especificamente para esse fim (McSWEENEY, 2004; PERRY, 2004). As enzimas de *Propionibacterium freudenreichii* são mais lipolíticas do que as BAL, entretanto, os microrganismos mais lipolíticos em queijos são os *Penicillium* spp., que se desenvolvem sobre ou dentro de queijos maturados com fungos (McSWEENEY, 2004).

Os níveis de LPL do leite, sob condições ótimas para a atuação da enzima, são suficientes para causar rancidez perceptível no leite em aproximadamente 10 segundos. Isso não acontece em um leite não-processado, porque a gordura do leite está protegida da ação da LPL por uma membrana lipoprotéica e cerca de 90% da LPL está associada com as micelas de caseína, entretanto se esta membrana sofre qualquer injúria mecânica, seja por homogeneização, agitação ou formação de espuma no leite, a lipólise pode ocorrer rapidamente, resultando no desenvolvimento de *off-flavor*. A LPL age preferencialmente sobre triglicerídeos contendo ácidos graxos de cadeia média (HA; LINDSAY, 1991; McSWEENEY, 2004).

Os triglicerídeos da gordura do leite de ruminantes são ricos em ácidos graxos de cadeia curta, que quando liberados contribuem direta e significativamente ao *flavor* de muitas variedades de queijos, principalmente em queijos italianos de massa dura e queijos azuis, e indiretamente como importantes precursores para a produção de compostos de *flavor* voláteis (HA; LINDSAY, 1991; McSWEENEY, 2004; McSWEENEY; SOUSA, 2000). Os ácidos graxos solúveis de cadeia curta (C4, C6 e C8) possuem um papel mais importante do que os de cadeia longa, na determinação do sabor (CABONI; ZANNONI; LERCKER, 1990).

Na maioria das variedades de queijos, a lipólise que ocorre é considerada indesejável, pois dependendo do nível e do tamanho da cadeia de ácidos graxos livres produzidos, o queijo passa a ter sabor de ranço e sabão. Quando a lipase tem pouca especificidade, ela atua em qualquer ponto do glicerol, liberando, na maioria das vezes, ácidos graxos de cadeias longas que permanecem na massa do queijo e dão origem a compostos com sabores e aromas de ranço (HA; LINDSAY, 1991). Já para os queijos extra-maturados, a lipólise contribui positivamente ao *flavor* como, por exemplo, o que ocorre no Roquefort, Gorgonzola e Stilton (BELITZ; GROSCH, 1997; FOX; LAW, 1991; McSWEENEY, 2004).

Os principais ácidos formados durante a lipólise são o butírico, o caprótico, o caprílico, o cáprico e o láurico; sua proporção relativa varia de acordo com o agente lipolítico utilizado, o qual, por sua vez, é escolhido de acordo com o queijo. Por exemplo, ácido butírico é fundamental para o sabor e aroma do queijo Provolone (McSWEENEY, 2004). Madrau et al. (2006), verificaram que os ácidos mirísticos (C14), palmítico (C16) e oléico (C18:1) foram os principais ácidos graxos livres encontrados no Pecorino Sardo. Os ácidos linoléico (C18:2) e linolênico (C18:3) foram encontrados ao final do estágio de maturação, porque as enzimas lipolíticas das bactérias ácido lácticas hidrolisam, preferencialmente, ácidos graxos de cadeia curta primeiro, depois de cadeia média e por último ácidos de cadeia longa. Di Cagno et al. (2003) encontraram em seu experimento com Pecorino Romano altas concentrações do ácido graxo livre decanóico, 15% (m/m) de ésteres (propil, butil e etil) e 19% (m/m) de cetonas, 23% (m/m) de álcoois (1-butanol, 3-metil-1-butanol, 1-hexanol, 2-heptanol e 1-octanol) e 9% (m/m) de aldeídos.

Os ésteres são compostos formados na maioria dos queijos pela reação entre um ácido graxo livre e um álcool. O metil, propil e butil éster são encontrados em queijos, mas o dominante é o etil éster (McSWEENEY, 2004). Muitos ésteres de ácidos graxos são essenciais aos *flavors* característicos, como por exemplo, o éster caprótico em queijos com leite de cabra, e tioéster em Camembert e os derivados do ácido linoléico para o aroma de cogumelo característico de queijos com mofos brancos na superfície (LAW, 2001). Há os

ésteres indesejáveis, principalmente aqueles contendo poucos átomos de carbono, que contribuem de forma sinérgica para o aroma de frutas em queijos, como o etil hexanoato, que tem odor de maçã verde e já foi encontrado em Pecorino Romano, Fiore Sardo e Canestrato Pugliese. Baixos níveis de aldeídos em queijos, comparados aos outros compostos voláteis, indicam uma ótima maturação, já se em altas concentrações podem causar *off-flavor* (DI CAGNO et al., 2003).

2.4.2.1 Lipases

As lipases são amplamente utilizadas na produção de produtos lácteos para a hidrólise da gordura do leite, com o objetivo de realçar o *flavor* em queijos e produtos derivados, como substituto para a pasta de renina em Pecorino Romano e Provolone, para imitar os queijos produzidos com leite de ovelha e cabra e os queijos feitos com leite cru. Como exemplo tem-se sua utilização na produção de queijo tipo italiano como Provolone e Romano, outras variedades de queijo como o Feta, gordura lipolizada, manteiga e creme lipolizado (BIRSCHBACH, 1994; HARBOE, 1994).

A função das lipases é catalisar a conversão de triglicerídeos a diglicerídeos, monoglicerídeos e ácidos graxos livres mais polares (BIRSCHBACH, 1994). Certas enzimas lipolíticas podem demonstrar tiposeletividade, isto é, elas são específicas a um ácido graxo particular, ou a um grupo de ácidos graxos (VILLENEUVE; PINA; GRAILLE, 1996).

Os ácidos graxos livres liberados pela ação das lipases sobre a gordura do leite proporcionam a muitos produtos lácteos suas características de *flavor* típicas (BIRSCHBACH, 1994). A característica de *flavor* picante de alguns queijos italianos deve-se primariamente aos ácidos graxos voláteis de cadeia curta resultantes da ação de lipases (FOX, 1993; HA; LINDSAY, 1993).

As lipases têm sido divididas em duas principais categorias: lipase animal e microbiana. As lipases de origem animal são preparações de enzimas lipolíticas derivadas de tecidos de animais. As fontes mais significantes de lipases de origem animal são os tecidos pancreáticos de bovinos e suínos e os tecidos pré-gástricos de cabrito, cordeiro e bezerro (BIRSCHBACH, 1994). As lipases de cabrito e cordeiro são usadas para queijos como Romano, Provolone, e Feta, para os quais um agudo e picante *flavor* é desejado. Os principais ácidos graxos liberados pela lipase de cabrito são o ácido butírico e o palmítico. A lipase de cordeiro libera em maior quantidade o ácido palmítico e tem tiposeletividade a ácidos graxos de cadeia curta, porém menor do que a tiposeletividade da lipase de cabrito (VILLENEUVE;

PINA; GRAILLE, 1996). Já a lipase de bezerro, que proporciona um *flavor* lipolítico moderado é usada para produção de queijo Mussarela, queijos azuis e Feta suave (HARBOE, 1994).

As lipases pré-gástricas, enzimas produzidas por glândulas na base da língua, podem ser obtidas líquidas, em pasta e em pó. Essas últimas são, geralmente, produzidas pela desidratação de tecidos pré-gástricos (BIRSCHBACH, 1994; McSWEENEY, 2004).

A dosagem de lipases em pó varia de 2 a 15 g de lipase por 100 litros de leite, dependendo do tipo de queijo e da intensidade de *flavor* desejada. O uso excessivo de lipase resulta em *flavor* de rancidez ou de sabão (HARBOE, 1994). As lipases pré-gástricas esterase são aquelas que são ativas apenas em substratos solúveis, dependendo da espécie de origem são ativas a 32-42 °C, pH 4,8-5,5 na presença de 0,5 M de NaCl (McSWEENEY, 2004).

2.4.3 Fatores que influenciam na maturação de queijos

Durante o período de maturação, é de grande importância considerar a temperatura da câmara fria (SPADOTI; DORNELLAS; ROIG, 2005), o teor de umidade, pH e o sal do queijo, pois são fatores que influenciam de forma decisiva na maturação deste (SBAMPATO; ABREU; FURTADO, 2000; SPADOTI; DORNELLAS; ROIG, 2005).

A **temperatura de maturação** influencia no metabolismo da lactose residual a lactato, durante os primeiros estágios da maturação (FOX; LAW, 1991). Além disto, tem influência na atividade enzimática da cultura, consequentemente na proteólise e na lipólise (FURTADO, 1991).

O **teor de umidade do queijo**, além de afetar sua consistência, tem grande influência sobre as modificações físico-químicas que ocorrem durante a maturação (SBAMPATO; ABREU; FURTADO, 2000). Queijos com elevados teores de água favorecem as reações enzimáticas, entre elas a reação hidrolítica da quimosina, que é o principal responsável pela proteólise primária (CUNHA et al., 2002). Em queijos com baixa umidade, o processo de maturação é mais lento (PERRY, 2004).

O **pH dos queijos** afeta diretamente a textura do queijo por influenciar a solubilidade das caseínas; queijos com pH alto são mais macios do que os queijos ácidos (McSWEENEY, 2004). O pH afeta indiretamente a textura e o *flavor* dos queijos maturados por influenciar a retenção de coalho na coalhada durante o processo de produção do queijo e por afetar a atividade de enzimas importantes na maturação, como as lipases e as proteinases. As lipases aumentam a atividade com pH alcalino e as proteinases atuam melhor em uma determinada

faixa de pH (CABONI; ZANNONI; LERCKER, 1990; McSWEENEY, 2004; SBAMPATO; ABREU; FURTADO, 2000).

Em queijos com alto teor de umidade há uma maior presença de soro no queijo no início da maturação, o que possibilita a produção de grande quantidade de ácido láctico, conseqüentemente o pH do queijo diminui. Com o desenvolvimento da maturação, a cultura inoculada aumenta o pH devido à descarboxilação dos aminoácidos e, às vezes, à produção de amônia (NH_3) (BELITZ; GROSCH, 1997). Com o aumento do pH, o fosfato de cálcio precipita e migra do centro da massa do queijo para a superfície. Essa migração do fosfato de cálcio, o aumento do pH e a proteólise tornam o interior destes queijos bem macio (McSWEENEY, 2004).

O pH de queijo prato não varia muito durante a maturação, permanecendo na faixa de 5,3-5,5 (SPADOTI; DORNELLAS; ROIG, 2005), enquanto Madrau et al. (2006), trabalhando com queijo Pecorino Sardo, obtiveram um pH de 5,54, após 7 meses de maturação.

O teor de sal dos queijos exerce um papel importante realçando o sabor do queijo (queijos com menos de 0,8% de sal são insípidos) e é capaz de retardar o aparecimento de sabor amargo no queijo (FOX, 1987; VISSER et al., 1983). Isto se deve pelo fato do sal promover a agregação de peptídeos maiores das regiões hidrofóbicas da caseína, que poderiam ser degradados em peptídeos amargos (SOUSA; ARDÖ; McSWEENEY, 2001).

Queijos com altos teores de umidade e maiores retenções de gordura estimulam uma melhor incorporação e difusão de sal na massa (SBAMPATO; ABREU; FURTADO, 2000; SILVEIRA; ABREU, 2003), o que, dependendo da quantidade de sal, afeta os processos físico-químicos e bioquímicos que ocorrem durante a maturação. Um queijo salgado em excesso possui maturação muito lenta (FURTADO, 1991). No caso da relação sal na umidade, quanto maior este valor, menor é a proteólise (McSWEENEY, 2004).

O sal deve ser desde o início da maturação, compatível com as características dos microrganismos responsáveis por esta, pois ao mesmo tempo em que atua como agente seletivo, ou seja, evita o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis, se estiver em concentrações muito elevadas, pode inibir a cultura láctica. A lipólise e a proteólise são reguladas por enzimas ativadas em teores normais de sal no queijo e inibidas por teores excessivamente elevados (SBAMPATO; ABREU; FURTADO, 2000). O sal regula a atividade do agente coagulante, tornando a β -caseína menos susceptível ao ataque pela quimosina, efeito que é aumentado com o aumento da relação sal/umidade (LAWRENCE; CREAMER; GILLES, 1987). Durante a maturação, o sal também promove a sinérese do queijo, controla o teor de umidade e reduz a atividade de água (FOX, 1987). Di Cagno et al.

(2003) em seu experimento, determinaram 8,7% (m/m) de NaCl em Pecorino Romano maturado por 12 meses.

2.5 RENDIMENTO DA FABRICAÇÃO DE QUEIJOS

O rendimento e a redução das perdas são dois importantes parâmetros que influenciam decisivamente a viabilidade econômica da fabricação de queijos. O rendimento refere-se à quantidade máxima de queijos que se pode fabricar com um volume determinado de leite e a redução das perdas, à obtenção de produtos de qualidade e com boa durabilidade (FURTADO, 2005a). Do ponto de vista econômico, o rendimento é uma das variáveis mais importantes, já que um aproveitamento ineficiente de proteína e gordura durante a produção do queijo pode ocasionar grandes perdas econômicas para o fabricante (BUFFA, 2003).

2.5.1 Fatores que afetam o rendimento de queijos

Os fatores que afetam o rendimento têm um efeito pequeno quando analisados individualmente, porém, extrapolado para uma grande produção, o efeito custo/benefício é bastante significativo (LAWRENCE, 1993). Estes fatores podem ser divididos em dois grupos: fatores diretos e fatores indiretos. Como fatores diretos têm-se: a composição do leite (principalmente gordura e proteína e a relação entre estas), a composição do queijo (umidade e sal), as características dos géis obtidos pela coagulação enzimática, como a firmeza e a capacidade de retenção de água, as perdas no corte, a pressão e tempo de prensagem (BUFFA, 2003; FURTADO, 2005a). Altas perdas de gordura podem ocorrer se a coalhada for cortada muito firme ou cortada muito branda seguida de uma mexedura rápida (GOVINDASAMY-LUCEY et al., 2004).

E os fatores indiretos são: estocagem do leite a frio, contagem de microrganismos psicrotróficos, contagem de células somáticas (CCS), atividade da plasmina, pasteurização do leite, o uso de cloreto de cálcio e o tipo e concentração de coalho usado, pois as enzimas do agente coagulante influenciam na degradação protéica e podem ser umas mais proteolíticas que outras (FURTADO, 2005a; OLIVEIRA, 2001). As enzimas mais proteolíticas podem hidrolisar excessivamente as caseínas, contribuindo com a diminuição do rendimento e promovendo o aparecimento de sabor amargo ao produto, além de causar redução na vida-útil do queijo (NEVES-SOUZA; SILVA, 2005). Outros fatores também podem influenciar no

rendimento de queijos, como por exemplo, os tratamentos térmicos e mecânicos que o leite é submetido. Estes tratamentos tecnológicos provocam pequenas alterações no equilíbrio mineral e ocasionam importantes efeitos na estabilidade micelar da caseína e nas propriedades de agregação, coagulação e estrutura da coalhada (BUFFA, 2003; FOLEGATTI, 1994).

2.5.2 Rendimento econômico e técnico de queijos

O rendimento mais utilizado pela indústria queijeira, por ser um método prático, é o denominado “litros por kg”, uma relação de litros de leite necessários para elaborar um quilo de queijo. O rendimento econômico está dentro deste conceito, sendo aquele, através do qual, calcula-se o custo final da produção dos queijos, levando-se em consideração o preço pago por 1 litro de leite e o volume deste necessário para produzir 1 kg de queijo (FOLEGATTI, 1994; FURTADO, 2005a; OLIVEIRA, 2001).

Rendimento técnico, por outro lado, é aquele no qual de posse de dados físico-químicos referentes à composição do leite, do soro resultante e do queijo obtido, determina-se o aproveitamento dos constituintes do leite que podem ser transferidos para o queijo. Além disso, permite ainda estabelecer comparações válidas entre diferentes fabricações de um mesmo tipo de queijo, mesmo que estes apresentem composições físico-químicas diferentes (FURTADO, 2005a).

2.5.3 Determinação do rendimento técnico de queijos

Para a determinação do rendimento técnico de queijos, é importante conhecer a composição do soro, pois esta fornece uma boa indicação das perdas ocorridas durante a fabricação, uma vez que, os sólidos do leite serão repartidos entre os grãos da coalhada, que irão formar o queijo, e o soro. Dessa forma, quanto menos sólidos totais o soro tiver, maior será o rendimento de fabricação (SILVEIRA; ABREU, 2003).

Conforme Furtado (2005a), várias maneiras existem para se calcular o rendimento técnico através da determinação do aproveitamento de elementos do leite na coalhada, como a gordura, proteínas totais (ou somente caseína), extrato seco total ou desengordurado etc. Os métodos mais simples para calcular rendimento de queijos são as cifras de transferência, o coeficiente GL e o rendimento L/kg ajustado.

2.5.3.1 Cifras de transferência dos componentes do leite para o queijo

De acordo com Furtado (2005a), as cifras de transferência fornecem uma idéia de retenção dos componentes do leite no queijo e informam as perdas que ocorreram no soro, permitindo assim, prever o rendimento de fabricação, independente de haver diferenças na composição do leite utilizado, uma vez que expressam o que acontece com cada elemento do leite. Para se calcular a perda de um elemento do leite no soro ou transferência para a coalhada (perda ou cifra de transferência) pode-se utilizar do método técnico, pela seguinte fórmula, utilizando a gordura como exemplo:

$$\% \text{ Perda Gordura no Soro} = \frac{(\text{kgI}-\text{P}) \text{ Gs}}{(\text{kgI}/\text{Dl}) \text{ Gl} \times \text{Ds}} \times 100$$

Onde:

Ds = densidade do soro a 15°C

Dl = densidade do leite a 15°C

kgI = quilos de leite (vol. Leite x Dl)

Gl = % gordura do leite

Gs = % gordura no soro

P = produção de queijos (kg)

Este método pode ser também utilizado para cálculos de perdas no soro e transferências para a coalhada de proteínas, caseína, extrato seco total e desengordurado, bastando para tal substituir o índice com o qual se deseja trabalhar (FURTADO, 2005a).

2.5.3.2 Coeficiente GL

Outro método utilizado para calcular rendimento de queijos é o aproveitamento final de sólidos no queijo em relação a cada litro de leite trabalhado (coeficiente GL). O princípio básico é determinar quanto de sólidos existe realmente num queijo já pronto (antes de salgar) e estabelecer uma relação com o volume de leite utilizado para aquela fabricação. Para se calcular gramas de sólidos totais por litro de leite trabalhado (gST/L) ou coeficiente GL, a seguinte fórmula deve ser aplicada (FURTADO, 2005a; SABOYA; OLIVEIRA; FURTADO, 1998):

$$R (\text{gST} / \text{L}) = \frac{\text{ST} \times \text{P} \times 10}{V}$$

Onde:

R(gST/L) = rendimento em gramas de sólidos totais por litro de leite trabalhado

ST = sólidos totais do queijo (ou seja, 100 menos o teor de umidade)

P = produção de queijos (em quilos)

V = volume de leite (em litros)

Na indústria queijeira, o rendimento quase sempre é calculado de forma inexata, expressa como a quantidade de quilos de queijo obtido a partir de um dado volume de leite, o que possui pouco significado para efeito de comparação de rendimento entre diversos lotes produzidos (OLIVEIRA, 2001). A avaliação do rendimento de queijos apenas pelo rendimento L/kg pode, eventualmente, apresentar uma situação enganosa. Um queijo poderia apresentar um excelente índice de rendimento L/kg e, no entanto, se verificado que o coeficiente GL fosse demasiadamente baixo (excesso de perdas), teria apresentado um baixo desempenho considerando-se o rendimento técnico. Neste caso, uma fabricação de queijos que aparenta dar lucros para a empresa, estaria de fato lhe causando prejuízos. Isto ocorre, geralmente, em queijos em que o baixo coeficiente GL (perda excessiva de sólidos durante a fabricação) é compensado por um aumento considerável de umidade no queijo, permitindo assim, um alto rendimento L/kg. Isto nunca deveria ocorrer, pois o aumento indiscriminado do teor de umidade de um queijo pode provocar alterações na composição físico-química, o que compromete seriamente a durabilidade (proteólise mais intensa), há riscos de alteração de sabor (amargor) e problemas de consistência (queijo mole, fatiabilidade comprometida) (FURTADO, 2005a).

2.5.3.3 Rendimento litros por quilo ajustado

Segundo Furtado (2005a), no dia a dia de uma fábrica de queijos, por melhor que seja o controle da qualidade da matéria-prima e do processo de fabricação, é muito difícil obter queijos de diferentes lotes de produção com a mesma composição físico-química, principalmente, tratando-se do teor de umidade. Tal fenômeno pode dificultar a análise comparativa do índice de rendimento de cada fabricação. O rendimento L/kg ajustado padroniza uma mesma umidade para os queijos ou lotes em comparação, permitindo afirmar qual deles, realmente, teve maior rendimento, retirando o possível erro de um alto rendimento em consequência de um alto teor de umidade. Para comparar corretamente os índices de rendimento de queijos com diferentes teores de umidade faz-se um ajuste pela seguinte fórmula:

$$L / kg A = \frac{V (100 - U_p)}{P \times ST}$$

Onde:

$L / \text{kg A}$ = Rendimento em litros /kg ajustado

V = volume do leite (em litros)

U_p = % umidade comum pretendida

P = produção de queijos (kg)

ST = teor (%) de sólidos totais do queijo

As diversas formas de expressão e ajuste do rendimento permitem visualizar rapidamente variações ocorridas no dia a dia da produção de uma indústria. Por exemplo, qualquer anormalidade observada na média esperada do índice L/kgA pode ser explicada analisando-se, naquele mesmo dia e para aquele determinado lote, os índices de perda dos componentes do leite e o coeficiente GL . Desta forma, identificando o problema, pequenas correções poderiam, então, ser realizadas no processo de fabricação visando manter sua eficiência (FURTADO, 2005a).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Produzir e avaliar o processo de fabricação de queijos Pecorino elaborados com leite de vaca sem lipase, com lipase de cabrito, e com lipase de cabrito e cordeiro combinadas.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar o rendimento técnico e as cifras de transferência dos componentes do leite para os queijos fabricados;
- Avaliar a proteólise pelos índices de extensão e profundidade de maturação;
- Avaliar o efeito da lipase de cabrito e lipase de cabrito combinada com lipase de cordeiro nos queijos Pecorino, ao longo de 45 dias de maturação;
- Caracterizar o queijo Pecorino com leite de vaca, após 45 dias de maturação;
- Avaliar a preferência e a aceitação dos queijos Pecorino produzidos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL

No laboratório de laticínios da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás, foram produzidos queijos Pecorino de 2 kg aproximadamente, com leite de vaca pasteurizado e padronizado a 3,2% de gordura, de acordo com metodologia proposta por Furtado (2005b) adaptada.

O experimento constituiu-se de três produções de queijos Pecorino (repetições), com intervalo de tempo de uma semana entre uma e outra. Em cada produção, foram utilizados 300 litros de leite que foram divididos em três tanques de fabricação, sendo 100 litros para cada tanque. Cada tanque recebeu um tratamento: sem lipase (QSL), com lipase de cabrito (QLC) e com lipase de cabrito e cordeiro (QLCC). O rendimento das fabricações e as cifras de transferência dos componentes do leite para os queijos Pecorino foram avaliados no dia das produções e a avaliação da maturação, ao longo de 45 dias, como apresentado na Figura 2.

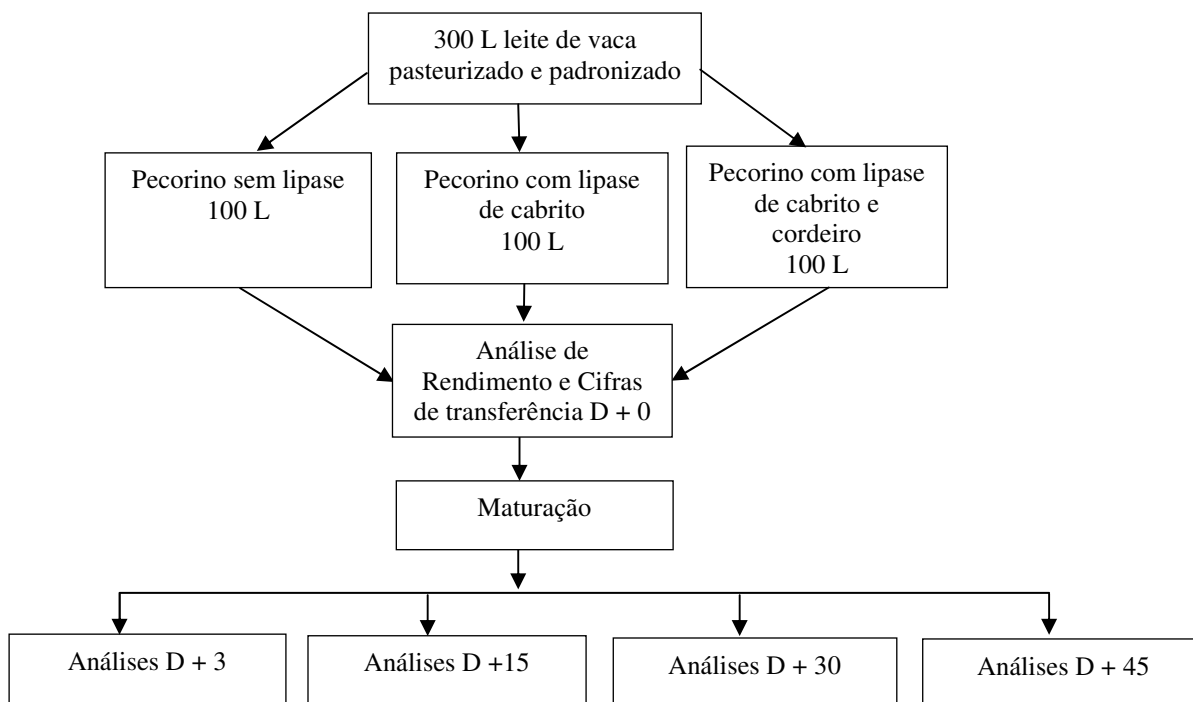


Figura 2. Fluxograma do desenvolvimento experimental.

D + x: Dia de fabricação mais x dias.

4.2 ELABORAÇÃO DOS QUEIJOS PECORINO PRODUZIDOS COM LEITE DE VACA

Os queijos Pecorinos foram produzidos de acordo com metodologia proposta por Furtado (2005b) adaptada. Na Figura 3, é apresentado o fluxograma da produção dos queijos Pecorino, com destaque (negrito) nas etapas adaptadas:

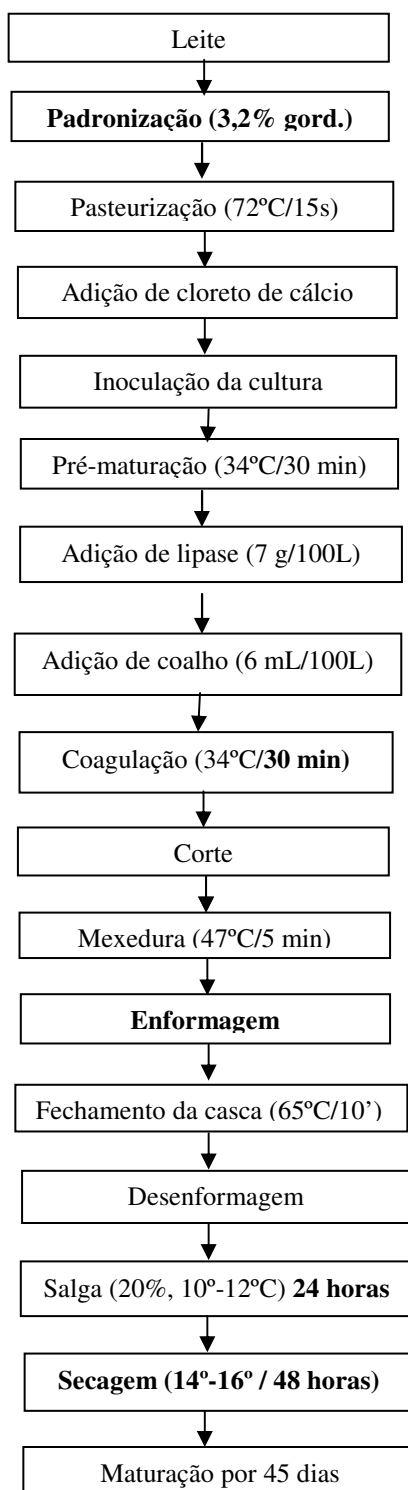


Figura 3. Fluxograma de produção de queijo Pecorino produzido com leite de vaca adaptado de Furtado (2005b).

Leite: O leite utilizado foi adquirido da Fazenda Escola da UFG. Ao chegar ao laboratório de laticínios da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás, o leite cru integral foi analisado quanto à estabilidade térmica através da análise de alizarol, e quanto ao teor de gordura para ser posteriormente padronizado.

Padronização: A padronização do leite foi feita por meio do desnate de uma parte do leite em uma desnatadeira Westfalia separator, com capacidade de 3000 L/h, de forma que ao misturar com o restante do leite integral obtivesse um teor de 3,2% de gordura. A mistura do leite integral ao desnatado foi feita em um tanque com agitação e refrigeração, de forma a manter a qualidade do leite.

Pasteurização (72°C/15s): Após a coleta do leite cru padronizado, para amostragem, o leite foi pasteurizado a 72°C por 15 segundos em um pasteurizador a placas Equilat, com termógrafo, controle automático e válvula de desvio de fluxo, com capacidade 500 L/h. O leite após ser pasteurizado e resfriado a 34 °C seguia por uma tubulação até os tanques de fabricação, sendo colocados 100 litros em cada tanque. Dos tanques de fabricação, foi retirado uma amostra de 500 mL de leite pasteurizado.

Adição do cloreto de cálcio: Foi adicionado 30 mL de uma solução de cloreto de cálcio 50% para cada 100 litros de leite.

Inoculação da cultura: Foi inoculado 2,5 DCU de uma cultura láctea termofílica, para cada 100 litros de leite, segundo recomendação do fabricante. A cultura utilizada foi composta por *Lactobacillus helveticus* (CHOOZIT LH 100 da Danisco Brasil Ltda), *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* (CHOOZIT TM 82 da Danisco Brasil Ltda).

Pré-maturação: Após a adição da cultura manteve-se o leite por 30 minutos em repouso e em temperatura de 34 °C.

Adição de lipase: Após a pré-maturação, nos tanques de fabricação dos queijos dos tratamentos QLC e QLCC foram adicionados 7g de lipase de cabrito em pó da empresa Bela Vista e de lipase de cabrito e cordeiro em pó (Lipase Powder 400 da Danisco), respectivamente. Para o tratamento QSL não foi adicionado lipase.

Adição do coalho: Após a adição das lipases nos queijos QLC e QLCC, todos os tratamentos foram adicionados de 6mL do coalho líquido CHY-MAX da Chr. Hansen, com poder coagulante de 1:40.000, para cada 100 litros de leite, seguindo as recomendações do fabricante.

Coagulação a 34°C: Após a adição do coalho a 34°C, aguardou-se um tempo de 30 minutos.

Corte: Após os 30 minutos de coagulação, certificou-se o ponto da coalhada verificando a formação de uma fenda retilínea com exsudação de soro. Em seguida, efetuou-se o corte da mesma utilizando-se de liras horizontal e vertical, em cubos médios de aproximadamente 1,5 cm³.

Mexedura com aquecimento: Aproximadamente 10 minutos após o corte, o soro subiu acima da massa, iniciou-se a mexedura com aquecimento indireto gradativo até atingir 47°C, utilizando-se de uma pá. Após atingir 47°C, desligou-se o aquecimento e continuou a mexedura por mais cinco minutos. Ao término desta etapa, retirou-se 1500 mL de soro para ser analisado.

Enformagem: A massa ainda quente foi posta, juntamente com soro, em formas especiais de plástico de 2 kg. As formas preenchidas foram colocadas em cima de uma mesa de aço inoxidável para escorrer o soro, por aproximadamente 15 minutos. Após este tempo, os queijos eram virados e levados para fechar a casca.

Fechamento da casca: As formas, contendo os queijos, foram colocadas sobre um tanque raso de aço inox contendo água a 60-65 °C, com um volume suficiente para cobrir dois terços da forma, durante 10 minutos. Ao retirar da água quente, os queijos foram virados e colocados novamente na mesa para escorrer o soro. De hora em hora, os queijos foram virados durante aproximadamente 3 horas.

Desenformagem: Após os queijos terem escorrido o excesso de soro (aproximadamente 3 horas após o fechamento da casca), foram desenformados, pesados para o cálculo de rendimento e levados para a salmoura.

Salga: Os queijos foram salgados em salmoura a 20% de sal, em câmara fria a uma temperatura entre 10-12°C, por 24 horas. A parte exposta dos queijos foi coberta por sal, como recomendado por Furtado (2005b) e virada após 15 horas de salga.

Secagem: Esta etapa ocorreu à temperatura de 14-16°C por 48 horas.

Maturação: Os queijos foram maturados em câmara fria a temperatura de 14-16°C com umidade relativa do ar de 80 a 85% por um período de 45 dias. Ao quarto dia após a produção, foi aplicado resina transparente (Mowilith DM 2 KL AR, fornecido pela Clariant S/A) nos queijos com objetivo de proteção à perda de umidade e aos fungos. Os queijos foram virados diariamente.

4.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As análises físico-químicas referentes à composição do leite e contagem de células somáticas foram realizadas no Centro de Pesquisa em Alimentos (CPA) da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás e as demais, no laboratório de Físico-química da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás. Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

4.3.1. Análises físico-químicas realizadas no leite

4.3.1.1 Análises físico-químicas realizadas no leite cru padronizado

Para a realização das análises físico-químicas, o leite cru padronizado foi misturado com agitadores para uma melhor homogeneidade das amostras. Foram coletados 500 mL de leite através de um recipiente coletor com alça. As análises físico-químicas realizadas no leite foram:

- **Alizarol a 72% (v/v):** foi realizada para verificar a estabilidade térmica do leite (BRASIL, 2006).
- **Contagem de Células somáticas (CCS):** foi realizada pelo aparelho Fossomatic 5000 Basic.
- **Densidade:** a 15 °C pelo termolactodensímetro, segundo metodologia preconizada por Instituto Adolfo Lutz (2005).
- **Extrato Seco Total e umidade:** o leite foi analisado pelo aparelho Milk Skan 4000.
- **Extrato Seco Desengordurado:** método indireto, subtraindo o teor de gordura da porcentagem do Extrato Seco Total.
- **Gordura:** pelo método de Gerber, segundo metodologia preconizada por Instituto Adolfo Lutz (2005).
- **Proteína:** o leite foi analisado pelo aparelho Milk Skan 4000.
- **Acidez titulável:** por titulação com hidróxido de sódio 0,111 mol/L, expressa em gramas de ácido láctico/ 100 mL segundo metodologia preconizada por Instituto Adolfo Lutz (1985).
- **pH:** pelo potenciômetro digital da marca Digimed, modelo DM20, previamente calibrado, segundo metodologia eletrométrica preconizada por Instituto Adolfo Lutz (2005).

4.3.1.2 Análise físico-química realizadas no leite pasteurizado padronizado

Após a pasteurização do leite, foi coletado 500 mL de leite pasteurizado. Para verificar a eficácia da pasteurização realizou-se a análise de fosfatase alcalina e peroxidase com tiras da marca Laborclin.

4.3.2 Análises físico-químicas realizadas no soro

Para a amostragem dos soros foram coletados 1500 mL de cada tanque de fabricação, antes da enformagem dos queijos. As análises físico-químicas realizadas no soro foram:

- **Densidade:** a 15 °C pelo termolactodensímetro, segundo metodologia preconizada por Instituto Adolfo Lutz (2005).
- **Extrato Seco Total e umidade:** pelo método gravimétrico, segundo metodologia descrita na seção 33.2.43 990.19 da AOAC (1995).
- **Extrato Seco Desengordurado:** método indireto, subtraindo o teor de gordura da porcentagem do Extrato Seco Total.
- **Gordura:** pelo método de Gerber, segundo metodologia preconizada por Instituto Adolfo Lutz (2005).
- **Proteína:** pelo método de Kjeldahl, segundo metodologia preconizada por Silva et al. (1997). Os valores de nitrogênio total foram multiplicados pelo fator 6,38 para obtenção dos valores equivalentes de proteína.
- **Acidez titulável:** por titulação com hidróxido de sódio 0,111 mol/L, expressa em gramas de ácido láctico/ 100 mL segundo metodologia preconizada por Instituto Adolfo Lutz (1985).
- **pH:** pelo potenciômetro digital da marca Digimed, modelo DM20, previamente calibrado, segundo metodologia eletrométrica preconizada por Instituto Adolfo Lutz (2005).

4.3.3 Análises físico-químicas realizadas nos queijos Pecorino

As análises físico-químicas nos queijos Pecorino foram realizadas em cada tempo de maturação (D+3, D+15, D+30 e D+45). Um queijo de cada tratamento foi retirado da câmara fria aleatoriamente e submetido à coleta amostral, com o emprego de uma sonda de aço inox, utilizando a técnica para coleta de queijo cilíndrico, preconizada por Silva et al. (1997).

Os queijos foram analisados físico-quimicamente quanto a:

- **Extrato seco total e umidade:** pelo método gravimétrico, baseado na técnica de secagem em estufa a 105 °C e pesagem até peso constante, segundo metodologia descrita na seção 925.23 da AOAC (1995).
- **Extrato seco desengordurado:** pelo método indireto (subtraindo a gordura do extrato seco total), segundo metodologia preconizada por Instituto Adolfo Lutz (2005).
- **Gordura:** pelo método butirométrico para queijo, segundo metodologia preconizada pelo MAPA (BRASIL, 2006).
- **Gordura no extrato seco:** foi calculada pelo método indireto, pela seguinte relação, segundo metodologia descrita por Silva et al. (1997):

$$\text{GES} = \frac{\% \text{ de gordura}}{\% \text{ EST}} \times 100$$

- **pH:** pelo potenciômetro digital com eletrodo de penetração da marca Digimed, modelo DM20, previamente calibrado, conforme descrita na seção 935.17. da AOAC (1995).
- **Cloreto de sódio:** método argentométrico, segundo metodologia preconizada pelo MAPA (BRASIL, 2006).
- **Cloreto de sódio na umidade:** método indireto, segundo metodologia descrita por Narimatsu et al (2003). Calculado pela seguinte fórmula:

$$\% \text{ sal na umidade do queijo} = \frac{\% \text{ sal}}{\% \text{ sal} + \% \text{ umidade}} \times 100$$

- **Atividade de água (aw):** pelo determinador eletrônico de atividade de água da marca Aqualab.
- **Compostos nitrogenados (nitrogênio total, nitrogênio solúvel a pH 4,6 e nitrogênio não-protéico):** método de Kjeldahl, segundo metodologia descrita por Silva et al. (1997). Os valores de nitrogênio total foram multiplicados pelo fator 6,38 para obtenção dos valores equivalentes de proteína.
- **Índice de extensão e profundidade de maturação:** método indireto descrito por Spadoti, Dornellas e Roig (2005), através do nitrogênio total, nitrogênio solúvel a pH 4,6 e nitrogênio não-protéico. Para calcular o índice de extensão utilizou-se da seguinte fórmula:

$$\text{Índice de Extensão} = \frac{\text{Nitrogênio solúvel a pH 4,6} \times 100}{\text{Nitrogênio Total}}$$

E para o cálculo do índice de profundidade utilizou-se da seguinte fórmula:

$$\text{Índice de Profundidade} = \frac{\text{Nitrogênio solúvel a TCA 12\%}}{\text{Nitrogênio Total}} \times 100$$

- **Índice de acidez de ácidos graxos livres (AGL):** segundo método titrimétrico, determinando-se o índice de acidez, expresso em mg de KOH para neutralizar um grama de gordura, conforme Caboni, Zannoni e Lercker (1990).

4.4 RENDIMENTO TÉCNICO DE FABRICAÇÃO DE QUEIJOS

Nos dias das produções, as três fabricações dos queijos Pecorino (os três tratamentos) foram avaliadas quanto ao seu rendimento e às cifras de transferência. Para o cálculo de rendimento e as cifras de transferência foram analisados: peso dos queijos de cada fabricação, densidade, proteína, gordura e extrato seco total (EST) do leite e do soro (retirado antes da etapa de enformagem), contagem de células somáticas (CCS) do leite e EST de um queijo aleatório de cada tratamento, antes da salga.

O rendimento foi calculado de três formas diferentes. O rendimento L/kg foi realizado por meio da divisão do volume de leite empregado na fabricação (100 litros) pela soma da massa dos queijos (em kg), obtida antes da salga.

O coeficiente GL, expresso em gramas de sólidos totais de queijo por litro de leite (g ST/l), foi calculado através da fórmula de Furtado (2005a):

$$R \text{ (gST/L)} = \frac{P \times ST \times 10}{V}$$

Onde:

R = rendimento

P = quilos de queijos obtidos

ST = porcentagem de extrato seco dos queijos

V = volume de leite utilizado

O rendimento l/kg ajustado foi calculado pela fórmula de Furtado (2005a):

$$L / \text{kg A} = \frac{V (100 - U_p)}{P \times ST}$$

Onde:

V = volume do leite (em litros)

Up = % umidade comum pretendida, que no caso, foi de 50%

L/ kg A = Rendimento em litros /kg ajustado

P = produção de queijos (kg)

ST = teor (%) de sólidos totais do queijo

4.5 CIFRAS DE TRANSFERÊNCIA DOS COMPONENTES DO LEITE PARA O QUEIJO

As cifras de transferência de gordura, proteína e extrato seco total do leite para a coalhada foram calculadas pela seguinte fórmula (FURTADO, 2005a):

$$\% \text{ Perda EST. Soro} = \frac{(\text{kgI}-P) \text{ ESTs}}{(\text{kgI/DI}) \text{ ESTI} \times Ds} \times 100$$

Onde:

Ds = densidade do soro a 15 °C

DI = densidade do leite a 15 °C

kgI = quilos de leite (vol. Leite x DI)

ESTI = % extrato seco total do leite

ESTs = % extrato seco total no soro

P = produção de queijos (kg)

Por meio desta mesma fórmula, calculou-se as perdas no soro e as transferências de proteínas e gordura para o queijo, substituindo o teor de EST pelo teor que se desejou trabalhar.

4.6 TESTE DE PREFERÊNCIA

O Teste de preferência dos queijos Pecorino produzidos com leite de vaca foi realizado com 50 provadores não treinados, recrutados entre alunos e funcionários da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da UFG. Cada provador recebeu três amostras codificadas com três dígitos e com a seqüência de provação distribuída ao acaso. As amostras foram coletadas de um queijo de cada tratamento, ao final dos 45 dias de maturação e servidas

na forma de cubos de 1cm³, em pratos rasos e descartáveis com diâmetro de 180 mm, em temperatura ambiente. Foi solicitado aos provadores que respondesse em ordem crescente sua preferência pelo queijo, em relação a sabor, textura e aparência global do queijo atribuindo notas de 1 à 3 e que justificasse o menos preferido, conforme a Figura 4 (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

TESTE ORDENAÇÃO-PREFERÊNCIA		
Nome: _____ Data: ____/____/____		
1. Você está recebendo três amostras de queijo Pecorino codificadas. Avalie cada uma na ordem crescente de sua preferência em relação a sabor, textura e aparência global. Justifique a menos preferida.		
----- (1) (menos preferida)	----- (2)	----- (3) (mais preferida)
Comentários: _____		

Figura 4. Ficha de avaliação de ordenação-preferência.

4.7 TESTE DE ACEITAÇÃO AO NÍVEL DE CONSUMIDOR

O Teste de aceitação dos queijos Pecorino produzidos com leite de vaca foi realizado utilizando uma peça de queijo de cada tratamento (sem lipase, com lipase de cabrito e lipase de cabrito e cordeiro), após 45 dias de maturação. As amostras dos queijos foram servidas na forma de cubos de 1 cm³, a temperatura ambiente, de forma monádica, a 200 provadores não-treinados, de diferentes faixas etárias e poder aquisitivo. O teste foi realizado em dois hipermercados da cidade de Goiânia. Foi solicitado ao provador que expressasse a afetividade com o produto respondendo a escala hedônica, estruturada de nove pontos, que variaram dos critérios “gostei muitíssimo” a “desgostei muitíssimo”, conforme a Figura 5 (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

TESTE DE ACEITAÇÃO	
Nome: _____	Data: ____/____/____
Prove a amostra codificada de queijo Pecorino e avalie o quanto você gostou ou desgostou das mesmas utilizando a escala abaixo. ☐ Gostei muitíssimo ☐ Gostei muito ☐ Gostei moderadamente ☐ Gostei levemente ☐ Indiferente ☐ Desgostei levemente ☐ Desgostei moderadamente ☐ Desgostei muito ☐ Desgostei muitíssimo	
Número da amostra: _____	Valor: _____
Comentários: _____	

Figura 5. Ficha de avaliação de aceitação com escala hedônica estruturada de nove pontos.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento experimental adotado para a avaliação de maturação dos queijos foi em blocos ao acaso, com três tratamentos, quatro tempos de maturação e 3 repetições. Os dias de cada produção constituíram os blocos, devido à diferença na composição do leite. Os dados foram avaliados pelo programa Statistic, em parcelas subdivididas; sendo os tratamentos as parcelas e o tempo de maturação as sub-parcelas. Os cálculos de rendimento e cifras de transferência seguiram um delineamento inteiramente casualizado. Para a análise de preferência e aceitabilidade, foi feita análise de Variância e a comparação das médias dos resultados pelo Teste de Tukey e t de Student, respectivamente, adotando o nível de 5 % de probabilidade. Para tal, empregou-se o programa estatístico Excel for Windows 2003.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 COMPOSIÇÃO DO LEITE

É importante ter conhecimento da composição do leite a ser utilizado na fabricação de queijos, pois ele influencia diretamente na qualidade e no rendimento desta. A composição média do leite padronizado utilizado na fabricação de queijos Pecorino com leite de vaca, apresentada na Tabela 1, mostra que o leite utilizado neste experimento atendia as exigências legais. O teor de proteína, de gordura e extrato seco desengordurado estavam acima do mínimo preconizado pela legislação, isso possibilita bom rendimento e boas características no queijo obtido. A prova de fosfatase alcalina foi negativa enquanto a de peroxidase foi positiva, isso além de atender à legislação, Instrução Normativa nº51, mostra que o leite foi pasteurizado atendendo aos requisitos tecnológicos para a produção de queijos (BRASIL, 2002; BRASIL, 1996).

Segundo a Instrução Normativa nº51, o leite para fabricação de queijos deve ser de boa qualidade, com Contagem de Células Somáticas no máximo de $1,0 \times 10^6$ CS/mL, com acidez titulável entre 0,14-0,18 g ácido láctico/100mL de leite, com densidade relativa à 15°C de 1,028-1,034 g/mL, com mínimo de 8,4% de sólidos não-gordurosos, com mínimo de proteína de 2,9% e gordura padronizada de acordo com o tipo de queijo (BRASIL, 2002). A Portaria nº146 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento complementa que o leite a ser utilizado deverá ser submetido à pasteurização ou tratamento térmico equivalente para assegurar a fosfatase residual negativa (BRASIL, 1996).

Tabela 1. Composição média* do leite de vaca cru padronizado utilizado na fabricação de queijos Pecorino.

Parâmetros avaliados	Leite padronizado
Teste do Alizarol 72%	estável
Acidez titulável (g ác. láctico/100mL)	0,18
pH	6,80
Densidade a 15°C (g/mL)	1,033
Contagem de Células Somáticas (x1000/mL)	109
Proteína Total (%)	3,15
Gordura (%)	3,2
Extrato Seco Total (%)	11,82
Extrato Seco Desengordurado (%)	8,62
Umidade (%)	88,18

*Média de 3 repetições.

5.2 COMPOSIÇÃO DO SORO

Pela composição média do soro coletado antes da enformagem dos queijos, apresentada na Tabela 2, verifica-se que as perdas de gordura, proteína e extrato seco no soro foram bem menores que as normalmente encontradas na fabricação industrial de queijos. Na Tabela 2 verifica-se que a perda de gordura foi baixa, 0,25% , considerando que é normal uma perda de gordura no soro na ordem de 0,8%. A baixa perda de componentes, como a gordura, é indicativa de que o rendimento da fabricação será bom, além de que o processamento do queijo seguiu todos os padrões técnicos exigidos para o queijo em estudo.

Tabela 2. Composição média* do soro coletado no tanque de fabricação antes da enformagem dos queijos Pecorino com leite de vaca adicionados ou não de lipase.

Parâmetros avaliados	Soro (QSL)	Soro (QLC)	Soro (QLCC)
Gordura (%)	0,25	0,25	0,26
Proteína Total (%)	0,85	0,83	0,85
EST (%)	6,60	6,61	6,63
ESD (%)	6,35	6,36	6,37
Umidade (%)	93,40	93,39	93,37
pH	6,63	6,63	6,65
Acidez titulável (g ác. láctico/100mL)	0,13	0,12	0,13
Densidade a 15°C (g/mL)	1,028	1,028	1,029

QSL: Queijo Pecorino Sem lipase; QLC: Queijo Pecorino com Lipase de Cabrito; QLCC: Queijo Pecorino com Lipase de Cabrito e Cordeiro; EST: Extrato Seco Total; ESD: Extrato Seco Desengordurado.

*Média de 3 repetições.

5.3 RENDIMENTO DE QUEIJOS PECORINO PRODUZIDOS COM LEITE DE VACA

Os valores médios para rendimento (L/kg), rendimento L/kg ajustado para 50% de umidade, coeficiente GL e as cifras de transferência de gordura, proteína e extrato seco nos processos de fabricação do queijo Pecorino sem lipase, com lipase de cabrito e com lipases de cabrito e cordeiro estão apresentados na Tabela 3.

Como pode ser visto na Tabela 3, verifica-se que não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre os diferentes tratamentos para todos os parâmetros analisados, resultado este esperado, uma vez que a adição de lipase não afeta os componentes do leite ao ponto de alterar o seu rendimento.

A média do rendimento L/kg dos queijos Pecorino dos três tratamentos foi de 8,05 L/kg, valor próximo do rendimento final (8,29 L/kg) obtido por Ribeiro et al. (2007) após seis

meses de maturação, trabalhando com queijo Pecorino produzido com leite de ovelha. Esta similaridade de rendimento em tempos diferentes deve-se ao fato de que o leite de ovelha possui maior teor de extrato seco do que o de vaca.

Tabela 3. Resultados médios* de rendimentos da fabricação de queijos Pecorino com leite vaca com lipases de diferentes origens.

Parâmetros	QSL	QLC	QLCC	Média**
Rendimento em L/kg	8,00 ^a	8,02 ^a	8,14 ^a	8,05
Rendimento (L/kg) Ajustado	8,28 ^a	8,29 ^a	8,10 ^a	8,22
Rendimento em g de ST/L	60,49 ^a	61,49 ^a	61,77 ^a	61,25
Transferência das proteínas (%)	76,17 ^a	76,73 ^a	76,13 ^a	76,34
Transferência da gordura (%)	93,10 ^a	93,10 ^a	92,81 ^a	93,00
Transferência de Sólidos Totais (%)	50,70 ^a	50,61 ^a	50,39 ^a	50,57

ST = sólidos totais; QSL= Queijo Pecorino Sem lipase; QLC= Queijo Pecorino com Lipase de Cabrito;

QLCC= Queijo Pecorino com Lipase de Cabrito e Cordeiro

*Média de 3 repetições. Média**: média dos três tratamentos.

^a = Médias com o mesmo expoente na mesma linha, não diferem significativamente ($p>0,05$).

Os rendimentos L/kg dos queijos Pecorino de todos os tratamentos foram maiores do que os encontrados por Moura (1997) para o queijo Parmesão, feito também com leite de vaca, que obteve rendimento de 9,16 litros de leite/kg de queijo produzido. O maior rendimento do queijo Pecorino em relação ao queijo Parmesão é explicado pela diferença do processo de fabricação entre esses dois queijos, que se deve ao fato da coalhada do queijo Parmesão ser cortada em grãos menores e ser prensada, liberando maior quantidade de soro. Os grãos da coalhada do queijo Pecorino são maiores e o queijo não é prensado.

Analisando os rendimentos ajustado L/kg (Tabela 3), percebe-se que a umidade dos queijos dos três tratamentos foi relativamente próxima, uma vez que, a diferença não foi suficiente para alterar o rendimento de fabricação significativamente ($p>0,05$) a ponto de induzir a um rendimento enganoso em consequência de alto teor de umidade.

Segundo Pamplona e Silva (2005), quanto maior a eficiência do processo, ou seja, quanto maior o aproveitamento final de sólidos no queijo em relação a cada litro de leite trabalhado (coeficiente GL), maior o rendimento ajustado L/kg, implicando em variações em razão direta. Portanto, os resultados deste trabalho, dispostos na Tabela 3 para o coeficiente GL, embora não tenham sido diferentes significativamente ($p>0,05$), coincidem com a afirmação destes autores.

As médias das cifras de transferência de proteínas, de gordura e sólidos totais do leite obtidas para os queijos Pecorino evidenciam o bom aproveitamento dos constituintes do leite para o queijo, favorecendo o alto rendimento do Pecorino.

O percentual de transferência de gordura e sólidos totais encontrados nesta pesquisa (93,00 e 50,57%) foram superiores aos encontrados por Moura (1997) trabalhando com queijo Parmesão (89,59 e 47,59%). Estas diferenças devem-se, provavelmente, ao processo de fabricação do queijo Pecorino apresentar diferenças em relação ao processo de fabricação do queijo Parmesão fabricado por Moura (1997). Tais diferenças são: o tamanho dos grãos, em que os grãos do queijo Parmesão são menores; velocidade de mexedura, que enquanto no queijo Pecorino é lenta, no queijo Parmesão é muito rápida; a temperatura de cozimento, que a do queijo Parmesão é mais drástica (53°C) do que a do queijo Pecorino (47°C) e que o queijo Parmesão é prensado, o que não acontece com o queijo Pecorino.

5.4 AVALIAÇÃO DA MATURAÇÃO DE QUEIJOS PECORINO FABRICADOS COM LEITE DE VACA, AO LONGO DE 45 DIAS

5.4.1 Extrato seco e Umidade dos queijos Pecorino

Como pode ser visto na Figura 6A e B, a adição de lipases no leite de vaca utilizado para a fabricação de queijos Pecorino, não influenciou no teor de Extrato Seco Total (EST) e Umidade dos queijos. Entretanto, o tempo de maturação contribuiu para o aumento do EST e para a diminuição do teor de umidade dos queijos.

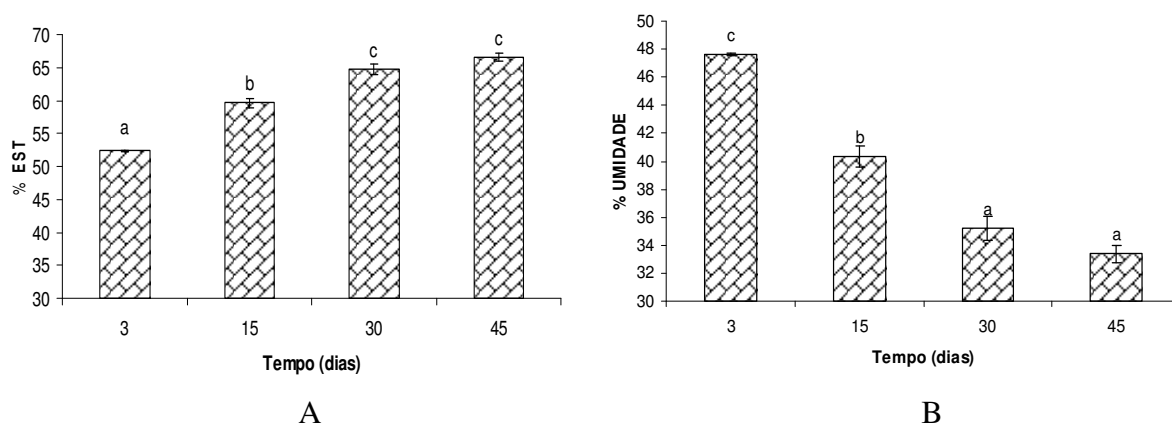


Figura 6. Extrato Seco Total e Umidade de queijos Pecorino fabricado com leite de vaca, ao longo de 45 dias de maturação.

Letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre os tempos de maturação ($p > 0,05$).

Na Figura 6A e B, percebe-se que até o trigésimo dia de maturação, o teor de umidade dos queijos Pecorinos diminuiu significativamente ($p < 0,05$) e consequentemente, aumentou o teor de extrato seco total. A partir do trigésimo dia de maturação ocorreu uma estabilização da perda de umidade (Figura 6B). Este fato pode ser explicado porque até este período, os queijos Pecorino possuíam alto teor de umidade e ainda não possuíam crosta, o que facilita a perda de água. Sendo que a partir do trigésimo dia de maturação, a remoção de água pode ter se tornado mais difícil em consequência do menor volume disponível, além de já se ter formado a crosta, que protege o queijo da perda de umidade.

5.4.2 pH dos queijos Pecorino

Ao comparar a média do pH dos soros dos queijos Pecorinos (6,64), apresentada na Tabela 2 e a média dos pH dos queijos Pecorino após três dias de fabricação (5,36) (Figura 7) percebe-se a ação da cultura inoculada sobre a lactose residual, abaixando o pH. Em queijos de alto teor de umidade, como o Pecorino no início da maturação, há uma maior presença de soro, o que possibilita a produção de grande quantidade de ácido láctico, que consequentemente abaixa o pH do queijo (BELITZ; GROSCH, 1997). Ao décimo quinto dia, o pH aumentou para 5,49 significativamente ($p < 0,05$) em relação ao terceiro dia de maturação, pois possivelmente com o desenvolvimento da maturação, a cultura inoculada aumentou o pH devido à descarboxilação dos aminoácidos e formação de NH_3 conforme afirmaram Belitz e Grosch (1997).

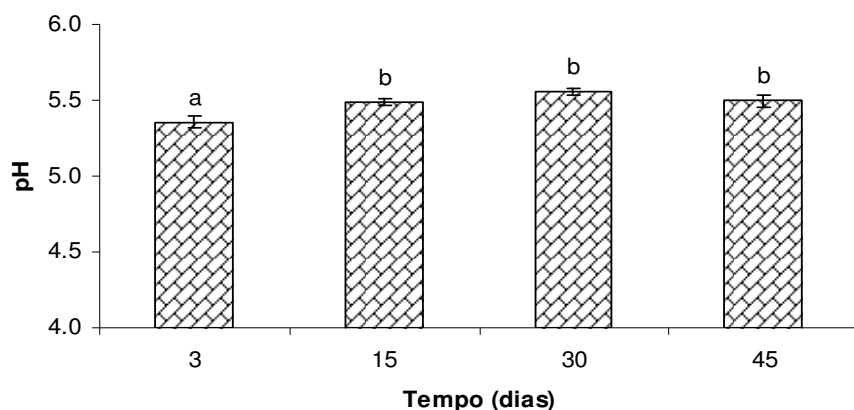


Figura 7. pH de queijos Pecorino fabricado com leite de vaca, ao longo de 45 dias de maturação.

Letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre os tempos de maturação ($p > 0,05$).

Do décimo quinto para o trigésimo dia de maturação o pH aumentou para 5,56, apesar de não ter sido significativo ($p>0,05$), possivelmente porque a proteólise secundária (% NNP), vista na Figura 10A, também não foi significativa.

A adição de lipases ao leite de vaca utilizado para a fabricação de queijos Pecorino não influenciou significativamente ($p>0,05$) o pH dos queijos, entretanto ao analisar a Figura 7, nota-se que houve uma ligeira queda do pH do trigésimo para o quadragésimo quinto dia de maturação. Possivelmente, essa queda deve-se a hidrólise da gordura do leite pelas lipases adicionadas, liberando ácidos graxos livres, que uma vez liberadas ao meio, mostram um efeito acidificante, diminuindo o pH, como observado por Moura (1997). Este fato também foi percebido por Govindasamy-Lucey et al. (2004) trabalhando com Parmesão, que perceberam que o pH do queijo aumentou durante os dois primeiros meses e depois disso houve um ligeiro decréscimo com o passar do tempo.

5.4.3 Sal na umidade dos queijos Pecorino

A adição de lipases ao leite de vaca utilizado para a fabricação de queijos Pecorino, não influenciou no teor de sal na umidade dos queijos, como visto na Figura 8, entretanto, o tempo de maturação contribuiu para o aumento deste teor. Esse aumento deve-se pelo fato do sal ser solúvel na fase aquosa do queijo, portanto se este perde umidade, como verificado na Figura 6B, a solução salina do queijo concentra-se.

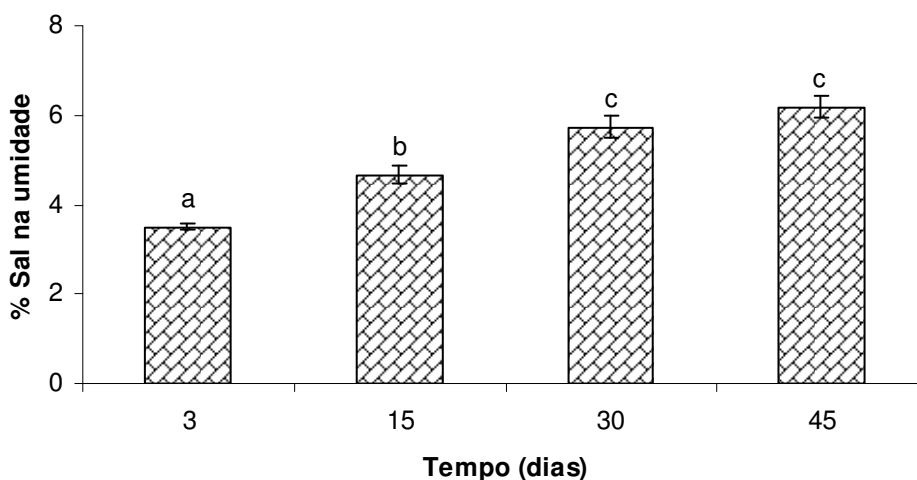


Figura 8. Teor de sal na umidade de queijos Pecorino fabricado com leite de vaca, ao longo de 45 dias de maturação.

Letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre os tempos de maturação ($p>0,05$).

5.4.4 Nitrogênio solúvel em pH 4,6 (NS 4,6) e Índice de extensão de maturação dos queijos Pecorino

O índice de extensão de maturação mede o desdobramento do nitrogênio total em nitrogênio solúvel a pH 4,6, portanto, está diretamente relacionado com o teor de nitrogênio solúvel a pH 4,6 como percebe-se na Figura 9A e B.

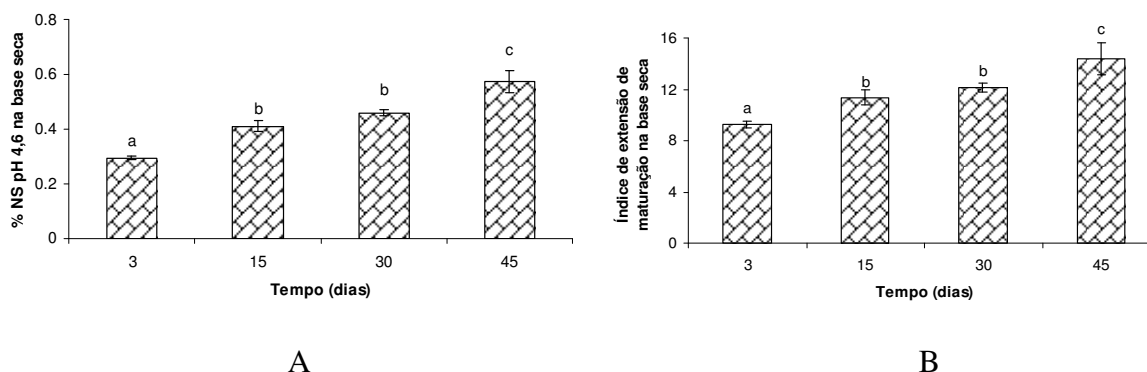


Figura 9. Teor de Nitrogênio Solúvel a pH 4,6 e Índice de extensão de maturação na base seca de queijos Pecorino fabricado com leite de vaca, ao longo de 45 dias de maturação.

Letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre os tempos de maturação ($p > 0,05$).

A adição de lipases no leite de vaca utilizado para a fabricação de queijos Pecorino, não influenciou no teor de nitrogênio solúvel a pH 4,6, bem como, no índice de extensão de maturação dos queijos Pecorino, como esperado porque lipases não interferem na proteólise.

Pela Figura 9A e B, percebe-se que o teor de nitrogênio solúvel a pH 4,6 e o índice de extensão de maturação dos queijos Pecorino aumentaram ao longo dos 45 dias de maturação, possivelmente, em função da ação proteolítica do coalho residual e da plasmina, que degradam as proteínas do queijo em peptídeos de alto e médio peso molecular (FERREIRA, 2004; NARIMATSU et al., 2003; MORENO et al., 2002).

O aumento do teor de nitrogênio solúvel a pH 4,6 e do índice de extensão de maturação dos queijos Pecorino do terceiro para o décimo quinto e quadragésimo quinto dia de maturação e do trigésimo para o quadragésimo quinto dia de maturação ocorreu em consequência do tempo de maturação.

O aumento do teor de nitrogênio solúvel a pH 4,6 e do índice de extensão de maturação dos queijos Pecorino do décimo quinto para o trigésimo dia de maturação não foi significativo ($p > 0,05$), provavelmente porque neste período de maturação, a relação sal na umidade aumentou significativamente ($p < 0,05$) para 5,74%, como pode ser visto na Figura 8

e o teor de umidade diminuiu, minimizando a atividade das enzimas proteolíticas. Fox e Law (1991) e McSweeney (2004) afirmam que a atividade proteolítica depende da relação sal na umidade.

O índice de extensão de maturação do queijo Pecorino fabricado com leite de vaca foi de 14,4%, aos 45 dias (Figura 9B). Este resultado está relativamente alto se levar em consideração o tempo de maturação, pois Di Cagno et al. (2003), que trabalhou com Pecorino Romano de 12 meses e Madrau et al. (2006) que trabalhou com Pecorino Sardo de 7 meses encontraram um índice de extensão de $20,2 \pm 1,8\%$, $32,4 \pm 3,7\%$, respectivamente. Esta aceleração de proteólise do queijo Pecorino deste trabalho deve-se provavelmente, à maior umidade e menor quantidade de sal do queijo Pecorino fabricado com leite de vaca, que possivelmente facilitaram a ação proteolítica. Já Öner, Karahan e Aloglu (2006) afirmam que dependendo do tipo de queijo, o índice de extensão pode estar na faixa de 10-60%. Portanto o valor encontrado neste trabalho está nesta faixa, caracterizando que o processo de maturação se desenvolveu dentro da normalidade.

5.4.5 Nitrogênio não-protéico (NNP) e Índice de profundidade de maturação dos queijos Pecorino

O índice de profundidade de maturação mede o desdobramento do nitrogênio total em nitrogênio não protéico, que é solúvel em ácido tricloroacético (TCA) 12%, portanto, está diretamente relacionado com o teor de NNP como se percebe na Figura 10.

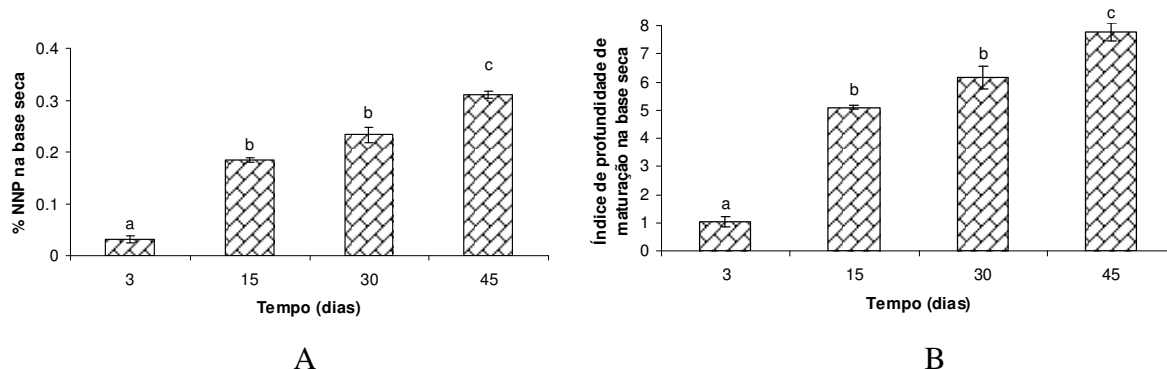


Figura 10. Teor de Nitrogênio não-protéico e Índice de profundidade de maturação na base seca de queijo Pecorino fabricado com leite de vaca, ao longo de 45 dias de maturação.

Letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre os tempos de maturação ($p > 0,05$).

A adição de lipases no leite de vaca utilizado para a fabricação de queijos Pecorino, não influenciou ($p>0,05$) no teor de nitrogênio não-protéico e consequentemente, no índice de profundidade de maturação dos queijos Pecorino, como esperado, porque lipases não interferem na proteólise.

Pela Figura 10A e B, percebe-se que o teor de nitrogênio não-protéico e o índice de profundidade de maturação dos queijos Pecorino aumentaram ao longo dos 45 dias de maturação. Este aumento ocorreu, provavelmente, em função da atividade proteolítica das endoenzimas e exoenzimas da cultura láctica empregada na fabricação do queijo (FERREIRA, 2004; NARIMATSU et al., 2003; PEROTTI et al., 2004).

Ao observar as Figura 10, percebe-se que no início da maturação, os teores de nitrogênio não-protéico e o índice de profundidade de maturação dos queijos Pecorino foram baixos, como esperado, porque estes parâmetros indicam a proteólise secundária, ou seja, a hidrólise dos peptídeos de alto e médio peso molecular, que é dependente da proteólise primária, que é a hidrólise das caseínas em peptídeos. No início da maturação dos queijos, a atividade das enzimas peptidolíticas, responsáveis pela proteólise secundária, é menor em função da pequena quantidade de peptídeos liberados (CANDIOTI et al., 2002; FERREIRA, 2004; MORENO et al., 2002; NARIMATSU et al., 2003; OLIVEIRA, 2001; PEROTTI et al., 2004).

Do terceiro para o décimo quinto dia houve um aumento significativo ($p<0,05$) do teor de nitrogênio não-protéico e o índice de profundidade de maturação dos queijos Pecorino em consequência do tempo de maturação e do alto teor de umidade neste período, que conforme Cunha et al. (2002), favorece as reações enzimáticas.

O aumento do teor de nitrogênio não-protéico e o índice de profundidade de maturação dos queijos Pecorino do décimo quinto ao trigésimo dia de maturação não foi significativo ($p>0,05$) provavelmente porque neste período de maturação, a relação sal na umidade aumentou significativamente ($p<0,05$) para 5,74%, como pode ser visto na Figura 8, e o teor de umidade abaixou, diminuindo a atividade das enzimas peptidolíticas.

Do trigésimo para o quadragésimo quinto dia de maturação houve um aumento significativo ($p<0,05$) do teor de nitrogênio não-protéico e do índice de profundidade de maturação dos queijos Pecorino (Figura 10 A e B), em consequência do tempo de maturação e do aumento significativo ($p<0,05$) do teor de nitrogênio solúvel a pH 4,6 (Figura 9A), que é substrato para as enzimas peptidolíticas.

5.4.6 Índice de acidez de AGL dos queijos Pecorinos

O tempo de maturação dos queijos Pecorino não influenciou significativamente ($p>0,05$) no índice de acidez de AGL dos queijos Pecorino sem lipase, como pode ser visto na Figura 11. Possivelmente, as condições físico-químicas dos queijos Pecorino não favoreceram a atividade das lipases atuantes nestes queijos, as advindas da cultura inoculada, ou a atividade destas lipases é mais lenta do que das lipases adicionadas.

O aumento do índice de acidez de AGL dos queijos Pecorino adicionados de lipase de cabrito não foi significativo ($p>0,05$) do terceiro para o décimo quinto dia, provavelmente porque o pH estava baixo e segundo Caboni, Zannoni e Lercker (1990), com pH mais alto a atividade de lipases aumenta. Do décimo quinto ao trigésimo dia de maturação, não houve um aumento significativo ($p>0,05$) do índice de acidez de AGL dos queijos Pecorino adicionados de lipase de cabrito, como verificado na Figura 7, possivelmente porque neste período houve um aumento significativo ($p<0,05$) da relação sal na umidade do queijo.

Do trigésimo para o quadragésimo quinto dia de maturação houve um aumento do índice de acidez de AGL dos queijos Pecorino adicionados de lipase de cabrito, embora não significativo ($p>0,05$) em decorrência da produção de ácidos graxos livres. Neste intervalo de tempo houve uma ligeira redução do pH, que desfavoreceu a atividade da lipase de cabrito adicionada.

Já com os queijos Pecorino adicionados de lipase de cabrito e cordeiro, o índice de acidez de AGL não aumentou significativamente ($p>0,05$) do terceiro para o décimo quinto dia e deste para o trigésimo dia de maturação, mas do trigésimo ao quadragésimo quinto dia de maturação, houve um aumento significativo ($p<0,05$) do índice de acidez de AGL. Este aumento pode ser devida às condições físico-químicas do queijo aproximarem-se das ideais para a atividade da lipase de cabrito e cordeiro, neste período da maturação. Um dos fatores que pode ter favorecido este aumento significativo ($p<0,05$) do índice de acidez de AGL dos queijos Pecorino adicionados de lipase de cabrito e cordeiro foi o pH, que aos 45 dias de maturação dos queijos, era de 5,5, pH ótimo para a atividade da lipase de cabrito e cordeiro (DANISCO, 2007).

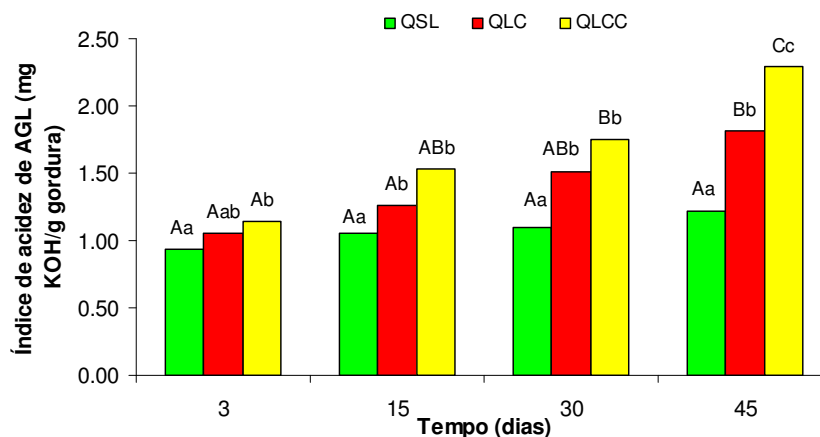


Figura 11. Evolução dos índices de acidez de AGL em queijos Pecorino fabricados com leite de vaca com ou sem adição de lipases.

Letras maiúsculas representam as diferenças, em cada tratamento, entre os tempos de maturação.

Letras minúsculas representam as diferenças, em cada tempo, entre os tratamentos.

QSL: Queijo Pecorino Sem Lipase; QLC: Queijo Pecorino com Lipase de Cabrito; QLCC: Queijo Pecorino com Lipase de Cabrito e Cordeiro

A adição de lipases no leite de vaca utilizado para a fabricação dos queijos Pecorino influenciou significativamente ($p < 0,05$) (Figura 11) no índice de acidez de ácidos graxos livres (AGL), como esperado, porque as lipases hidrolisam os triglicerídeos do queijo em ácidos graxos livres.

Ao avaliar a evolução dos índices de acidez em queijos Pecorino, apresentada na Figura 11, entre os tratamentos, verifica-se que ao terceiro dia de maturação não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre o índice de acidez de AGL dos queijos Pecorino sem lipase e queijos Pecorino adicionados de lipase de cabrito, que por sua vez não diferiu dos queijos Pecorino adicionados de lipase de cabrito e cordeiro, fato provavelmente justificado ao observar-se que o pH dos queijos ao terceiro dia de maturação, na Figura 7, estava baixo (5,36) e as lipases tem melhor atividade em pH mais alto. Entretanto, houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre o índice de acidez de AGL dos queijos Pecorino sem lipase e queijos Pecorino adicionados de lipase de cabrito e cordeiro, o que pode ser considerado como um indicativo da ação da lipase de cabrito e cordeiro.

Ao décimo quinto e trigésimo dia de maturação, os índices de acidez de AGL dos queijos Pecorino adicionados de lipase foram maior significativamente ($p < 0,05$) do que os índices dos queijos Pecorino sem lipase, possivelmente, em decorrência do aumento do pH para 5,49 e 5,56, respectivamente, como pode ser visto na Figura 8, que favoreceu a atividade das lipases pré-gástrica adicionadas.

Ao quadragésimo quinto dia de maturação houve diferença significativa entre os índices de acidez de AGL dos queijos Pecorino de todos os tratamentos. O índice de acidez de AGL dos queijos Pecorino adicionados de lipase de cabrito e cordeiro foi maior do que o dos queijos Pecorino adicionados de lipase de cabrito, que por sua vez, foi maior do que o índice de acidez de AGL dos queijos Pecorino sem lipase. Isto comprova que a adição de lipases ao leite para produzir queijo Pecorino acelerou a lipólise. Isso indica que o queijo pode adquirir sabor e aroma em um tempo menor de cura, possibilitando a venda dos queijos mais rapidamente. Outro fator a ser considerado é que pela Figura 11 nota-se que o uso de lipase de cabrito e cordeiro combinadas é mais efetivo na lipólise dos queijos do que o uso da lipase de cabrito individualmente.

A média do índice de acidez encontrada para os queijos Pecorino sem lipase (QSL) foi de 1,22 mg de KOH/ g gordura, após 45 dias de maturação. Moura (1997), ao trabalhar com queijo tipo Parmesão, após 120 dias de maturação, encontrou 1,825 mg de KOH/ g gordura. Caboni, Zannoni e Lercker (1990) encontraram índice de acidez de 6,3 mg de KOH/ g gordura para o queijo Parmigiano-Regiano (queijo também similar ao Pecorino) com 22 a 24 meses. Esta diferença de resultados deve-se ao tempo de maturação dos queijos, que no presente trabalho foi de apenas 45 dias.

A média do índice de acidez encontrada para os queijos Pecorino adicionado de lipase de cabrito foi de 1,81 mg de KOH/g gordura, e 2,29 para os queijos Pecorino adicionado de lipase de cabrito e cordeiro. Estes valores são muito próximos ou maiores, respectivamente, ao encontrado por Moura (1997) com queijo tipo Parmesão, após 120 dias de maturação, o que comprova a aceleração da lipólise nos queijos Pecorino pela adição de lipases.

5.5 CARACTERIZAÇÃO DOS QUEIJOS PECORINO PRODUZIDOS COM LEITE DE VACA, AOS 45 DIAS DE MATURAÇÃO

O queijo Pecorino produzido com leite de vaca com 45 dias de maturação caracterizou-se por apresentar formato cilíndrico abaulado nas laterais, faces planas, casca amarelada com sulcos típicos das formas, consistência firme, massa fechada com algumas olhaduras mecânicas, diâmetro de cerca de 13 cm e peso entre 1,3 e 1,5 kg. Os queijos Pecorino adicionados de lipases tiveram sabor e aroma levemente forte. A seguir, na Figura 12, são apresentadas fotos do queijo Pecorino produzido com leite de vaca com 45 dias de maturação.

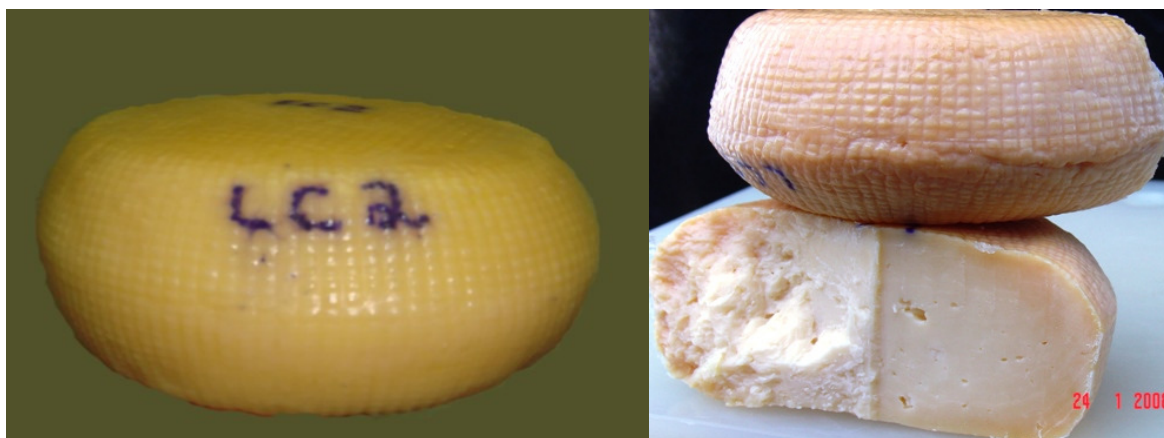


Figura 12. Queijo Pecorino produzido com leite de vaca com 45 dias de maturação.

A composição média dos queijos Pecorino, após 45 dias de maturação, pode ser verificada na Tabela 4. Os percentuais de umidade e sólidos totais, encontrados no presente trabalho, estão de acordo com o recomendado por Furtado (2005b) e atende ao estabelecido pela Portaria 146 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, para queijos de baixa umidade (até 35,9%). Sendo assim, o queijo Pecorino maturado por 45 dias poderá ser classificado como um queijo de baixa umidade (BRASIL, 1996).

O queijo Pecorino pode ser classificado como um queijo gordo, pois o teor médio de gordura no extrato seco dos três tratamentos, encontrado neste trabalho (50,05%) encontra-se dentro da classe de 45-59,9 % de matéria gorda no extrato seco (BRASIL, 1996). O teor de cloreto de sódio médio entre os três tratamentos foi de 2,20%, o pH de 5,49 e atividade de água de 0,850.

Tabela 4. Composição média* dos Queijos Pecorino sem lipase, adicionado de lipase de cabrito e de lipase de cabrito e cordeiro, após 45 dias de maturação.

Parâmetro avaliado	QSL	QLC	QLCC	Média
% Umidade	33,44	34,00	32,78	33,41
% Extrato Seco Total	66,56	66,00	67,22	66,59
% Extrato Seco Desengordurado	33,56	33,00	33,22	33,26
% Proteína	24,95	25,50	26,09	25,51
% Gordura	33,00	33,00	34,00	33,33
% Gordura no EST	49,58	50,00	50,58	50,05
% Cloreto de Sódio	2,18	2,15	2,26	2,20
% Sal/umidade	6,12	5,95	6,45	6,17
pH	5,54	5,48	5,45	5,49
Atividade de água (Aw)	0,855	0,821	0,873	0,850

QSL: Queijo Pecorino Sem lipase; QLC: Queijo Pecorino com Lipase de Cabrito; QLCC: Queijo Pecorino com Lipase de Cabrito e Cordeiro

*Média de 3 repetições.

5.6 TESTE DE PREFERÊNCIA

A Tabela 5 contém os resultados da avaliação de preferência de queijos Pecorino fabricados com leite de vaca. Como pode ser visto, os queijos Pecorino sem lipase e adicionados de lipase de cabrito foram os mais preferidos pelos provadores em relação ao queijo Pecorino adicionado de lipase de cabrito e cordeiro. Os provadores comentaram que a menor preferência ao queijo Pecorino adicionado de lipase de cabrito e cordeiro foi decorrente do seu sabor e aroma forte. O sabor e aroma mais acentuados deste queijo assemelha-se ao queijo Parmesão e outros queijos de longa maturação e devem-se, em grande parte, à maior concentração de ácidos graxos de cadeia curta, que apresentam odor forte.

O sabor mais suave dos queijos Pecorino sem lipase e adicionados de lipase de cabrito aproxima-se mais do sabor de queijos consumidos no dia a dia dos provadores, como o queijo Minas padrão ou, até mesmo, o queijo Minas curado fabricado artesanalmente. Essa proximidade de sabor leva a uma maior preferência.

Tabela 5. Notas atribuídas por 50 provadores de acordo com a preferência a queijos Pecorino fabricados com leite de vaca e adicionados de lipase de cabrito e lipase de cabrito e cordeiro e sem adição de lipases.

Queijo Pecorino	Notas*			Soma das ordens**
	1	2	3	
Sem lipase	12	17	21	109 ^a
Lipase de Cabrito	15	15	20	105 ^a
Lipase de Cabrito e Cordeiro	23	18	9	86 ^b

*3 = preferido; 2 = intermediário; 1 = menos preferido.

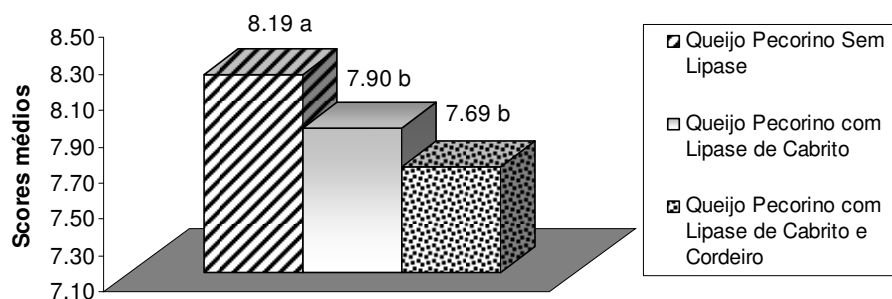
** Soma das ordens de cada amostra = (1 x nº de notas 1) + (2 x nº de notas 2) + (3 x nº de notas 3)

a, b- letras minúsculas sobrescritas indicam as diferenças significativas apresentada entre os queijos ($p < 0,05$).

Os queijos Pecorino sem lipase e os adicionado de lipase de cabrito foram igualmente preferidos ($p > 0,05$). Esse resultado mostra que a adição da lipase de cabrito ao leite, não influenciou significativamente ($p > 0,05$) na preferência dos queijos pelos consumidores. Já para os queijos Pecorino com lipase de cabrito e cordeiro, que foram menos preferidos, a adição da lipase de cabrito e cordeiro ao leite interferiu significativamente ($p < 0,05$) nas características sensoriais do queijo Pecorino com leite de vaca, com 45 dias de maturação, tornando-o com sabor forte.

5.7 TESTE DE ACEITAÇÃO AO NÍVEL DE CONSUMIDOR

O Resultado médio obtido no teste de aceitação para os queijos Pecorino (Figura 13) do tratamento sem lipase foi de $8,19 \pm 0,84$, estando entre os atributos gostei muito e gostei muitíssimo. Já os resultados médios obtidos para os queijos Pecorino adicionados de lipase de cabrito e dos queijos adicionados de lipase de cabrito e cordeiro obtiveram médias de aceitação de $7,90 \pm 1,08$ e $7,69 \pm 1,22$, respectivamente, estando entre os atributos gostei moderadamente e gostei muito. Curi e Bonassi (2007) avaliaram a aceitação pela escala hedônica de nove pontos, com dez provadores treinados de queijo análogo ao Pecorino Romano produzido com leite de cabra, após 2 meses da fabricação. Estes autores obtiveram uma boa aceitação também, apesar de uma média inferior ao encontrado neste trabalho (6,35), que talvez seja explicado pelo fato dos queijos Pecorino deste trabalho terem sido produzidos com leite de vaca, lembrando ao consumidor queijos que ele já tem o hábito de consumir.



*Médias seguidas de letras diferentes diferenciaram entre si pelo teste de Student ($p < 0,05$).

Figura 13. Média de afetividade da aceitação atribuída por 200 provadores para queijos Pecorino fabricados sem lipase, com lipase de cabrito e com lipase de cabrito e cordeiro, na cidade de Goiânia em 2007.

O queijo Pecorino sem lipase foi mais aceito significativamente ($p < 0,05$) do que os outros dois tratamentos adicionados de lipase. Isto, possivelmente, deve-se ao fato do queijo Pecorino sem lipase apresentar um sabor mais suave do que os queijos Pecorino adicionados de lipase, como pôde ser visto no Teste de preferência (Tabela 5). Este sabor mais suave aproxima-se mais do sabor de queijos consumidos rotineiramente pelos provadores.

A aceitação dos queijos Pecorino fabricados com adição de lipase de cabrito e com a mistura de lipase de cabrito e cordeiro não diferiu entre si ($p > 0,05$). Apesar de terem recebidos notas de aceitação inferiores em relação ao queijo Pecorino sem lipase obtiveram uma boa aceitação, 7,90 e 7,69, respectivamente. Esse resultado mostra o grande potencial de

consumo do queijo Pecorino adicionado de lipase. O uso da lipase de cabrito ou a de lipase de cabrito e cordeiro poderá ficar a critério do industrial avaliar o menor custo deste ingrediente, uma vez que a aceitação pelos consumidores não apresentou diferença significativa.

A porcentagem de provadores que indicaram os termos entre gostei moderadamente a gostei muitíssimo (escores de 7 a 9 pontos), foi de 96,5% para o queijo Pecorino sem lipase, 90,5% para o queijo Pecorino adicionado de lipase de cabrito e 85,5% para o queijo Pecorino adicionado de lipase de cabrito e cordeiro. Segundo Teixeira, Meinert e Barbetta (1987), um produto que atinge mais de 70% de aceitação pode ser lançado no mercado com baixo risco de insucesso, portanto, o queijo Pecorino produzido com leite de vaca é um produto de grande potencial de mercado.

5.8 CONSIDERAÇÕES SOBRE A FABRICAÇÃO DO QUEIJO PECORINO

A fabricação do queijo Pecorino revelou ser um processo relativamente simples, considerando o tempo e a tecnologia de fabricação em si e o período de maturação que este atinge sabor e aroma desejáveis. Produzir queijo Pecorino é relativamente fácil devido ao seu processo de fabricação peculiar, que não demanda etapas de alta complexidade. É um queijo de coagulação rápida, gastando aproximadamente uma hora entre a coagulação e a enformagem, que é feita de forma semelhante ao queijo Minas frescal, não demandando prensagem. Com aproximadamente 7 horas de produção, sendo que 3 horas são destinadas à dessoragem do queijo nas formas, já se tem queijos prontos para serem levados à salmoura. Na etapa da salga, os queijos permanecem por apenas 24 horas, devido ao alto teor de umidade inicial, que facilita uma melhor incorporação e difusão do sal. Além disso, com 45 dias de maturação já encontra-se com seu sabor característico. Este curto período de maturação diminui muito o tempo e os custos direcionados para a manutenção da qualidade dos queijos.

Como pontos críticos da fabricação do queijo Pecorino têm-se: a utilização de leite de boa qualidade, padronização do teor de gordura, utilização de lipases com alta ação lipolítica, a quantidade e o tipo de cultura inoculada, o corte dos grãos, o aquecimento no máximo até 47° C, a enformagem sem prensa, a temperatura e o tempo de maturação.

6 CONCLUSÕES

- A fabricação do queijo Pecorino é um processo simples, considerando o tempo e a tecnologia de fabricação em si e o curto período de maturação destes queijos.
- A adição de lipase ao leite destinado a produção dos queijos Pecorino não influenciou o rendimento de fabricação, o extrato seco, o teor de umidade, o pH, o teor de sal na umidade, o índice de extensão e profundidade de maturação dos queijos, ao longo de 45 dias de maturação, entretanto, influenciou o índice de acidez de AGL.
- O rendimento de fabricação do queijo Pecorino foi maior do que de outros queijos duros e semiduros fabricados com leite de vaca.
- O tempo de maturação influencia o teor de extrato seco total, o teor de umidade, o pH, o teor de sal na umidade, o índice de extensão e profundidade de maturação e o índice de acidez de AGL, apesar de não ter influenciado significativamente ($p > 0,05$) o índice de acidez de AGL dos queijos Pecorino sem lipase, ao longo dos 45 dias de maturação.
- O pH e o teor de sal na umidade influenciaram a atividade das lipases adicionadas ao leite para fabricação dos queijos Pecorino. O pH mais elevado aumentou a atividade das lipases. O teor de sal na umidade mais elevado diminuiu a atividade das lipases.
- A adição de lipases ao leite para produzir queijo Pecorino aumentou a lipólise.
- O uso de lipase de cabrito e cordeiro combinadas foi mais efetivo na lipólise dos queijos do que o uso da lipase de cabrito individualmente.
- O queijo Pecorino pode ser classificado como queijo gordo e de baixa umidade.
- Os queijos Pecorino sem lipase e adicionados de lipase de cabrito foram preferidos pelos provadores em relação ao tratamento adicionado de lipase de cabrito e cordeiro.
- O queijo Pecorino sem lipase obteve maior aceitação em relação aos queijos fabricados com leite de vaca adicionado de lipases, embora os queijos tratados com lipase de cabrito e com lipase de cabrito e cordeiro também tenham sido bem aceitos pelos consumidores.

REFERÊNCIAS

ADDIS, M.; PIREDDA, G.; PES, M.; DI SALVO, R.; SCINTO, M. F.; PIRISI A. Effect of the use of three different lamb paste rennets on lipolysis of the PDO Pecorino Romano Cheese. **International Dairy Journal**, Barking, v.12, p. 563-569, 2005.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJO (ABIQ). **Projeto de lei reduzirá alíquota de ICMS em Goiás**. Disponível em: <<http://www.abiq.com.br/imprensa>>. Acesso em: 07 dez. 2006a.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJO (ABIQ). **Queijos no Brasil**. Disponível em: <<http://www.abiq.com.br>>. Acesso em: 04 dez. 2006b.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis**. 15. ed. Washington, 1995. 109 p.

AUGUSTO, M. M. M. **Influência do tipo de coagulante e do aquecimento no cozimento da massa na composição, rendimento, proteólise e características sensoriais do queijo Prato**. 2003. 190f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos-FEA. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

BELITZ, H. D.; GROSH, W. Leche y productos lácteos. In: _____. **Química de los alimentos**. Zaragoza : Editorial Acribia, S. A., 1997. cap. 10, p. 537-586.

BENEVIDES, S. D.; TELLES, F. J. S.; GUIMARÃES, A. C. L.; RODRIGUES, M. C. P. Estudo bioquímico e sensorial do queijo de coalho produzido com leite cru e pasteurizado no estado do Ceará. **Boletim Ceppa**, Curitiba, v.18, n.02, p.193-208, 2000.

BIRSCHBACH, P. Origins of lipases and their characteristics. In: Bulletin of the International Dairy Federation. **The use of lipases in cheesemaking**. Brussels: International Dairy Federation, 1994. n. 294, cap. 2, p. 07-10.

BOURROUL, G. O. potencial da cadeia láctea brasileira. **Leite e Derivados**, São Paulo, n.95, p. 36-66, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51 de 18 de setembro de 2002. Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite tipo B, do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial da União**, Brasília, 20 set. 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146 de 07 de março de 1996. Regulamento Técnico de identidade e qualidade de produtos lácteos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 11 mar. 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 353 de 04 de setembro de 1997. Regulamento Técnico para fixação e identidade e qualidade de queijo Parmesão, Parmesano, Reggiano, Reggianito e Sbrinz. **Diário Oficial da União**, Brasília, 08 set. 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº68 de 12 de dezembro de 2006. Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos para controle de leite e produtos lácteos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 14 dez. 2006.

BUFFA, M. N. **Aplicación de las altas presiones hidrostáticas em la elaboración de queso de cabra**. 2003. 205f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos)- Facultat de Veterinària. Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, 2003.

CABONI, M. F.; ZANNONI, M.; LERCKER, G. Fat lipolysis in Parmigiano Reggiano Cheese. **Scienza e Técnica Lattero-Casearia**, Roma, v.41, p.288-297, 1990. Suplemento.

CANDIOTI, M. C.; HYNES, E.; QUIBERONI, A.; PALMA, S. B.; SABBAG, N.; ZALAZAR, C. A. Reggianito Argentino cheese: influence of *Lactobacillus helveticus* strains isolated from natural whey cultures on cheesemaking and ripening processes. **International Dairy Journal**, Barking, v.12, n. 11, p. 923-931, 2002.

CERVANTES, M. A.; LUND, D. B.; OLSON, N. F. Effects of salt concentration and freezing on Mozzarella cheese texture. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 66, p. 205-213, 1983.

CUNHA, C. R.; SPADOTI, L. M.; ZACARCHENCO, P. B.; VIOTTO, W. H. Efeito de concentração do retentado na composição e proteólise de queijo minas frescal de baixo teor de gordura fabricado por ultrafiltração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.22, n. 01, p. 82-87, 2002.

CURI, R. A.; BONASSI, I. A. Elaboração de um queijo análogo ao Pecorino Romano produzido com leite de cabra e coalhada congelados. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 31, n.1, p. 171-176, 2007.

DANISCO. **Lipase Powder 400**. Descrição do produto, n. 1218078, 2007. 1p.

DI CAGNO, R.; BANKS, J.; SHEEHAN, R.; FOX, P. F.; BRECHANY, E. Y.; CORSETTI, A.; GOBBETTI, M. Comparison of microbiological, compositional, biochemical, volatile profile and sensory characteristics of three Italian PDO ewes' milk cheese. **International Dairy Journal**, Barking, v.13, p. 961-972, 2003.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA GADO DE LEITE). **Estatísticas do leite**. Disponível em:< <http://www.cnpagl.embrapa.br> >. Acesso em: 06 jan. 2008.

FERREIRA, D. N. **Influência do uso de retentados de baixo fator de concentração no rendimento e na qualidade da mussarela de reduzido teor de gordura feita por acidificação direta**. 2004. 127f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos-FEA. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

FOLEGATTI, M. I. S. **Avaliação do uso de quimosina produzida por *Aspergillus niger* var. *awamori* na fabricação de queijo tipo prato**. 1994. 65f. Dissertação (Mestrado em

Tecnologia de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos-FEA, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1994.

FOX, P. F. Exogenous enzymes in dairy technology-a review. **Journal of Food Biochemistry**, Westport, v.17, p. 173-199, 1993.

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

FOX, P. F. Significance of salt in cheese ripening. **Dairy Industries International**, Londres, v.52, n.9, p. 19-21, 1987.

FURTADO, M. M. **A arte e a ciência do queijo**. São Paulo: Editora Globo; 1991. 297 p.

FURTADO, M. M. **Principais problemas dos queijos: causas e prevenção**. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora; 2005a. 200p.

FURTADO, M. M. **Quesos típicos de Latinoamérica**. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora; 2005b. 192 p.

GARCIA-PALMER, F. J.; SERRA, N.; PALOU, A.; GIANOTTI, M. Free amino acids as indices of Mahón Cheese ripening. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, n.9, p. 1908-1917, 1997.

GOVINDASAMY-LUCEY, S.; JAEGGI, J. J.; BOSTLEY, A. L.; JOHNSON M. E.; LUCEY, J. A. Standardization of milk using cold ultrafiltration retentates for the manufacture of Parmesan cheese. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.87, n.9, p.2789-2799, 2004.

HA, J. K.; LINDSAY, R. C. Volatile branched-chain fatty acids and phenolic compounds in aged Italian cheese flavor. **Journal of Food Science**, Chicago, v.56, n.5, p.1241-1247, 1991.

HA, J. K.; LINDSAY, R. C. Release of volatile branched-chain other fatty acids from ruminant milk fats by various lipases. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.76, n.3, p.677-690, 1993.

HARBOE, M. K. Use of lipases in cheesemaking. In: Bulletin of the International Dairy Federation. **The use of lipases in cheesemaking**. Brussels: International Dairy Federation, 1994. n.294, cap. 3, p. 11-16.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 4.ed. Brasília: Editora MS, 2005, 1018p.

LAW, B. A. Controlled and accelerated cheese ripening: the research base for new technologies. **International Dairy Journal**, Barking, v. 11, p.383-398, 2001.

LAWRENCE, R. C. Cheese yield potential of milk. In: Factors affecting the yield of cheese. **Bulletin of the International Dairy Federation Special Issue nº9301/ IDF**. International Dairy Federation. Brussels, Belgium. Cap.7. Cap 10. 1993.

LAWRENCE, R. C.; CREAMER, L. K.; GILLES, J. Symposium: Cheese Ripening Technology. Texture Development During Cheese Ripening. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 70, n.8, p. 1750-1760, 1987.

MADRAU, M. A.; MANGIA, M. P.; MURGIA, M. A.; SANNA, M. G.; GARAU, G.; LECCIS, L.; CAREDDA, M.; DEIANA, P. Employment of autochthonous microflora in Pecorino Sardo cheese manufacturing and evolution of physicochemical parameters during ripening. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v. 16, p. 876-885, 2006.

MANNU, L.; RIU, G.; COMUNIAN, R.; FOZZI, M. C.; SCINTU, M. F. A preliminary study of lactic acid bacteria in whey starter culture and industrial Pecorino Sardo ewes' milk cheese: PCR- Identification and evolution during ripening. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v. 12, p. 17-26, 2002.

McSWEENEY, P. L. H. Biochemistry of cheese ripening. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v.57, n.2/3, p. 127-144, 2004.

McSWEENEY, P. L. H.; SOUSA M. J. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: a review. **Lait**, Les Ulis, v. 80, p. 293-324, 2000.

MILKPOINT. **Produção brasileira de leite por estado**. Disponível em: <milkpoint.com.br> Acesso em: 15 jan. 2008.

MORENO, I.; VAN DENDER, A. G. F.; COSTA, G. A. N.; VIALTA, A.; LERAYER, A. L. S.; SILVA, A. T.; DESTRO, M. T. Propriedades físicas e composição química e bioquímica durante a maturação de queijo prato de diferentes origens. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.57, n.327, 2002.

MOURA, C. J. **Controle de bactérias propiônicas em queijo Parmesão**: utilização de nitrato de sódio e sal (NaCl) na massa. 2001. 57f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Área de concentração em Química, Físico-Química e Bioquímica de Alimentos. Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.

MOURA, C. J. **Efeito do resfriamento do leite sobre o rendimento e lipólise do queijo tipo Parmesão**. 1997. 77f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Área de concentração em Química, Físico-Química e Bioquímica de Alimentos. Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1997.

NARIMATSU, A.; DORNELLAS, J. R. F.; SPADOTI, L. M.; PIZAIA, P. D.; ROIG, S. M. Avaliação da proteólise e do derretimento do queijo prato obtido por ultrafiltração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.23, (supl), p. 177-182, 2003.

NEVES-SOUZA, R. D.; SILVA, R. S. S. F. Estudo de custo-rendimento do precessamento de queijos tipo minas frescal com derivado de soja e diferentes agentes coagulantes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 01, p. 170-174, 2005.

OLIVEIRA, A. N. **Influência da concentração de quimosina na composição, rendimento, proteólise e propriedades funcionais do queijo mussarela feito por acidificação direta**. 2001.85f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

ÖNER, Z.; KARAHAN, A. G.; ALOGLU, H. Changes in the microbiological and chemical characteristics of an artisanal Turkish white cheese during ripening. **LWT**, v. 39, p. 449–454, 2006.

PAMPLONA, E. O.; SILVA, W. F. Contribuição da Simulação de Monte Carlo na Projeção de Cenários para Gestão de Custos na Área de Laticínios. In: Congresso Internacional de Custos, IX, 2005, Florianópolis. **Anais**. 2005. p. 13.

PEROTTI, M. C.; BERNAL, S. M.; MEINARDI, C. A.; CANDIOTI, M. C.; ZALAZAR, C. A. Substitution of natural whey starter by mixed strains of *Lactobacillus helveticus* in the production of Reggianito Argentinian Cheese. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v.57, n.01, p. 45-51, 2004.

PERRY, K. S. P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 02, p. 293-300, 2004.

RIBEIRO, L. C.; PÉREZ, J. R. O.; CARVALHO, P. H. A.; SILVA, F. F.; MUNIZ, J. A.; OLIVEIRA JÚNIOR, G. M.; SOUZA, N. V. Produção, composição e rendimento em queijo do leite de ovelhas Santa Inês tratadas com ocitocina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.36, n.2, p.438-444, 2007.

SABOYA, L. V.; OLIVEIRA, A.J.; FURTADO, M.M. Efeitos físico-químicos da adição de leite reconstituído na fabricação de queijo Minas frescal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 4, p. 368-376, 1998.

SANTILLO, A.; CAROPRESE, M.; MARINO, R.; MUSCIO, A.; SEVI, A.; ALBENZIO, M. Influence of lamb rennet paste on composition and proteolysis during ripening of Pecorino foggiano cheese. **International Dairy Journal**, Barking, v.17, p.535-546, 2007.

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

SPADOTI, L. M.; DORNELLAS, J. R. F.; ROIG, S. M. Proteolysis of Prato type cheese produced using ultrafiltration. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, n. 3, p. 235- 239, 2005.

SECRETARIA DO PLANEJAMENTO E DESENVOLVIMENTO (SEPLAN). Superintendência de estatística, pesquisa e informação. **Goiás em Dados-2004**: Produção de leite. Disponível em: <<http://portalsepin.seplan.go.gov.br>>Acessado em: 08 de jan. 2008.

SILVA, P.H.F.; PEREIRA, D.B.C.; OLIVEIRA, L.L.; COSTA JÚNIOR, L.C. G. **Físico-química do leite e derivados**: métodos analíticos. Juiz de Fora: Editora Ltda; 1997. 190p.

SILVEIRA, P. R.; ABREU, L. R. Rendimento e composição físico-química do queijo prato elaborado com leite pasteurizado pelo sistema HTST e injeção direta de vapor. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 27, n. 06, p. 1340-1347, 2003.

SOUSA, M. J.; ARDÖ. Y.; McSWEENEY, P. L. H. Advances in study of proteolysis during cheese ripening. **International Dairy Journal**, Barking, v.11, p. 327- 345, 2001.

TEIXEIRA, E.; MEINERT, E.M.; BARBETTA, P. A. **Análise Sensorial de Alimentos**. Florianópolis: Ed. da USFC; 1987. 114p.

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

VILLENEUVE, P.; PINA, M. GRAILLE, J. Determination of pregastric lipase specificity in young ruminants. **Chemistry and Physics of Lipids**, Limerick, v. 83, p.161-168, 1996.

VISSER, S.; SLANGER, K. J.; HUP, G.; EXTERKATE, F. A.; STADHOUDERS, J. The bitter flavour defects in cheese: some chemical and microbiological aspects. **Netherlands Milk and Dairy Journal**, Amsterdam, v.37, p.250-251, 1983.

WALSTRA, P.; NOOMEN, A.; GEURTS, T. J. **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology**. 2^a ed. Maryland: Aspen Publishers Inc., 1999. p 39-82.

WOLFSCHOON-POMBO, A. F.; LIMA, A. Extensão e profundidade de proteólise no queijo Minas Frescal. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.44, n.261-266, p.50-54, 1989.