

Efeito da acidificação direta e microbiana sobre as propriedades químicas, físicas e microbiológicas do queijo de manteiga
Effect of direct and microbial acidification on the chemical, physical and microbiological properties of “queijo de manteiga”
Efecto de la acidificación directa y microbiana sobre las propiedades químicas, físicas y microbiológicas del “queijo de manteiga”

Recebido: 25/06/2020 | Revisado: 05/07/2020 | Aceito: 09/07/2020 | Publicado: 24/07/2020

Allana Patrícia Santos Alexandre

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6654-1991>

Universidade Federal de Sergipe, Brasil

E-mail: allana.santosalexandre@gmail.com

Fabiana Oliveira dos Santos Camatari

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7230-0446>

Universidade de Pernambuco Campus Petrolina, Brasil

E-mail: fabiana.camatari@upe.br

Luciana Cristina Lins de Aquino Santana

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7231-2199>

Universidade Federal de Sergipe, Brasil

E-mail: aquinoluciana@hotmail.com

Maria Aparecida Azevedo Pereira da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2066-5619>

Universidade Federal de Sergipe, Brasil

E-mail: cidamarias@yahoo.com.br

Resumo

O Queijo de Manteiga é um produto de grande consumo e valor socioeconômico para o Nordeste brasileiro. Para a sua elaboração, a Legislação estabelece que a coagulação do leite seja realizada com ácidos orgânicos; no entanto, pequenos produtores realizam essa etapa pela ação da microbiota natural do leite. O objetivo deste trabalho foi avaliar o uso da acidificação microbiana com cultura iniciante tipo “LD”, comparativamente à acidificação direta com o uso de emulsificante, sobre as características químicas, físicas e microbiológicas do produto final. O experimento foi realizado em triplicata, representando processamentos independentes.

Os tratamentos não apresentaram impacto sobre o teor de gordura dos queijos, mas o pH, a umidade e o teor de cinzas do queijo elaborado por acidificação direta foram superiores ($p \leq 0,05$) ao do queijo elaborado por acidificação microbiana. O queijo elaborado por acidificação direta se mostrou menos firme e com menor mastigabilidade ($p \leq 0,05$). Todos os queijos atenderam ao estabelecido pela IN n° 60/2019, com contagem de coliformes fecais $< 3,0$ NMP/g, ausência de *Salmonella sp* e *Staphylococcus spp* $< 10,0$ UFC/g. No entanto, a contagem de bactérias lácticas foi maior no queijo elaborado por acidificação microbiana. Por apresentar menor pH e maior contagem de bactérias lácteas, é possível que o queijo de manteiga obtido por acidificação microbiana apresente maior segurança alimentar que o queijo elaborado por acidificação direta, dado que bactérias lácticas, por estarem associadas à produção de bacteriocinas, apresentam efeito inibitório sobre o crescimento de bactérias patogênicas. Estudos futuros devem explorar esta hipótese.

Palavras-chave: Requeijão do Norte; Perfil de textura; Fermentação microbiana; Acidificação.

Abstract

“Queijo de Manteiga” is a product of great consumption and socioeconomic value for the Brazilian Northeast. For its elaboration, the Legislation demands that the milk coagulation be done with organic acids; however, small producers perform the acidification with the natural milk microbiota. The objective of this work was to evaluate the use of microbial acidification with "LD" type starter culture, compared to direct acidification with the use of emulsifiers, on the chemical, physical and microbiological characteristics of the final product. The experiment was carried out in triplicate, representing independent processing. The treatments had no impact on the fat content of the cheeses, but the pH, moisture and ash content of the cheese made by direct acidification were higher ($p \leq 0.05$) than the cheese made by microbial acidification. The cheese made by direct acidification was less firm and less chewiness ($p \leq 0.05$). All cheeses complied with the established by IN number 60/2019, with fecal coliform count < 3.0 MPN/g, absence of *Salmonella sp* and *Staphylococcus spp* < 10.0 CFU/g. However, the lactic bacteria count was higher in the cheese made by microbial acidification. As it has a lower pH and a higher lactic acid bacteria count, it is possible that the “queijo de manteiga” obtained by microbial acidification has greater food security than the cheese made by direct acidification, since due to the milk bacteria, association with the production of bacteriocins, they have an inhibitory effect on the growth of pathogenic bacteria. Future studies should explore this hypothesis.

Keywords: “Requeijão do Norte”; Texture profile; Microbial fermentation; Acidification.

Resumen

“Queijo de Manteiga” es un producto de gran consumo y valor socioeconómico para el noreste de Brasil. Para su elaboración, la Legislación establece que la coagulación de la leche se realiza con ácidos orgánicos; sin embargo, los pequeños productores realizan este paso a través de la acción de la microbiota de leche natural. El objetivo de este trabajo fue evaluar el uso de la acidificación microbiana con cultivo iniciador tipo "LD", en comparación con la acidificación directa con el uso de emulsionantes, sobre las características químicas, físicas y microbiológicas del producto final. El experimento se realizó por triplicado, lo que representa un procesamiento independiente. Los tratamientos no tuvieron impacto en el contenido de grasa de los quesos, pero el pH, la humedad y el contenido de cenizas del queso hecho por acidificación directa fueron más altas ($p \leq 0.05$) que el queso hecho por acidificación microbiana. El queso elaborado por acidificación directa demostró ser menos firme y menos masticable ($p \leq 0.05$). Todos los quesos cumplieron con lo establecido por IN número 60/2019, con recuento de coliformes fecales < 3.0 NMP/g, ausencia de *Salmonella* sp y *Staphylococcus* spp < 10.0 UFC/g. Sin embargo, el recuento de bacterias lácticas fue mayor en el queso elaborado por acidificación microbiana. Debido a que tiene un pH más bajo y un mayor recuento de bacterias lechosas, es posible que el queso de mantequilla obtenido por acidificación microbiana tenga mayor seguridad alimentaria que el queso elaborado por acidificación directa, ya que las bacterias de la leche, debido a que están asociadas con la producción de bacteriocinas, tienen un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de bacterias patógenas. Los estudios futuros deberían explorar esta hipótesis.

Palabras clave: “Requeijão do Norte”; Perfil de textura; Fermentación microbiana; Acidificación.

1 Introdução

Queijo de Manteiga, também conhecido como Requeijão do Norte, é um produto típico do Nordeste Brasileiro (Cruz, et al., 2009), e de grande valor social, cultural e econômico para a região (Viana, et al., 2009).

O produto é classificado na categoria de “queijo fundido” (Van Dender, 2006), e para a sua elaboração, a Legislação Brasileira estabelece que a coagulação do leite seja realizada com ácidos orgânicos, seguindo-se dessoragem, lavagem e fusão da massa, com a adição

exclusiva de manteiga de garrafa, também conhecida como manteiga da terra ou do sertão (Brasil, 2001), produto também típico da região Nordeste do Brasil. Apesar do que estabelece a Legislação Nacional, diversificações são observadas na fabricação do queijo de manteiga (Cavalcante & Costa, 2005; Nassu, et al., 2003).

Por ter se originado como uma forma de aproveitamento do leite coagulado espontaneamente pela ação da microbiota láctica natural (Van Dender, 2006) ainda hoje, em pequenas unidades produtoras do Nordeste brasileiro, a fabricação do queijo de manteiga envolve coagulação espontânea do leite pela ação de sua microbiota láctica natural (Van Dender, 2006; Viana, et al., 2009). A prática aumenta o tempo de coagulação do leite para algo entre 15 e 20 horas (Ventura, 1987), ocasionando na falta de padronização do queijo. Adicionalmente, variações entre as microbiotas de diferentes produtores levam a variações na composição centesimal (Jassen-Escudero & Rodriguez-Amaya, 1981; Nassu, et al., 2003), na qualidade microbiológica (Alexandre, et al., 2016; Feitosa, et al., 2003; Viana, et al., 2009), no prazo de validade (Guerra & Guerra, 2003) e na composição e características sensoriais do produto final (Nassu, et al., 2003; Nassu, et al., 2009), prejudicando a definição de uma identidade para o queijo de manteiga.

Uma alternativa para padronizar e melhorar os atributos de qualidade do queijo de manteiga, e ao mesmo tempo aproximar o seu processo de fabricação àquele que o originou, consiste no uso de culturas lácteas iniciadoras para acidificar o leite, e produzir o coágulo a ser fundido. O uso de bactérias lácticas iniciadoras pode ser vantajoso na elaboração do queijo de manteiga porque além delas converterem a lactose a ácido láctico necessário para reduzir o pH do leite (Goktepe, 2006; Walstra, et al., 2006), elas também produzem compostos aromáticos desejáveis, tais como diacetil, acetoína, e acetaldeído (Hladíková, et al., 2012), e uma ampla variedade de metabólitos antimicrobianos (Gálvez, et al., 2007).

Uma das etapas mais importantes na fabricação do queijo de manteiga é a fusão da massa, onde ocorre uma “cremificação” da caseína e demais proteínas, através da emulsificação da manteiga de garrafa na massa. Um gel obtido por coagulação ácida encontra-se desmineralizado, frágil e quebradiço (Almeida, 2008); nesse caso, o uso de um emulsificante promove uma maior interação da rede proteica com a água e a gordura, produzindo uma emulsão mais homogênea (Caric, et al., 1985; Ellinger, 1972; Guinee, et al., 2004; Meyer, 1973; Mizuno, et al., 2005), mais suave e cremosa (Van Dender, et al., 2006). A função básica desses aditivos é “sequestrar” o cálcio do leite, auxiliando no rompimento da rede proteica de fosfato de cálcio presente no leite, e regular o pH da massa, promovendo uma

maior interação da rede proteica (Caric, et al., 1985; Ellinger, 1972; Meyer, 1973; Mizuno & Lucey, 2005; O'Callaghan & Guinee, 2004).

Na fabricação do queijo de manteiga, tanto a acidificação direta, como a acidificação realizada por culturas iniciantes podem trazer vantagens aos pequenos e médios laticínios da região Nordeste do Brasil, notadamente no que se refere à redução do tempo de coagulação e à melhoria da qualidade sensorial e identidade do produto. Mas, para que a prática seja absorvida tanto pelos pequenos empresários locais, como pela Legislação Brasileira, são necessários estudos que explorem o efeito dessas duas opções de acidificação sobre a qualidade do produto final.

Assim, o objetivo deste trabalho foi identificar, no processamento do queijo de manteiga, o impacto da acidificação com cultura iniciante comparativamente à acidificação direta sobre qualidade químicas, físicas e microbiológicas do produto final.

2 Metodologia

A presente pesquisa é de natureza laboratorial de método quantitativo (Pereira, et al., 2018).

2.1 Materiais

Para a elaboração dos queijos, foi utilizado leite cru integral, adquirido de produtores da área rural do município de São Cristóvão, Sergipe, Brasil, e a manteiga de garrafa no Mercado Municipal de Aracaju, Sergipe, Brasil. A cultura láctea correspondeu ao tipo “LD”, código CNH-22, adquirida da empresa Christian Hansen[®], Valinhos, São Paulo, e composta pelas bactérias *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis cremoris*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* e *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *Diacetylactis*. O cloreto de sódio utilizado foi de grau alimentício (Miramar[®], Rio Grande do Norte, Brasil) adquirido em estabelecimento comercial em Aracaju, Sergipe. Foram utilizados ácido láctico e emulsificante polifosfato de sódio de grau alimentício, ambos da empresa Docina Nutrição Ltda, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil.

2.2 Delineamento experimental

Queijos de manteiga foram produzidos utilizando-se dois tipos distintos de processamento: O um deles realizado por acidificação direta com ácido láctico, conforme determina a IN n° 30/2001 (Brasil, 2001) e o outro envolvendo a acidificação do leite por meio de fermentação microbiana, a fim de se testar uma alternativa à acidificação direta.

Para o queijo elaborado por acidificação direta foi adicionado emulsificante polifosfato de sódio a 2,5% (m/m), em concentração otimizada em estudos prévios. Os experimentos foram conduzidos em três repetições, independentes, representando processamentos realizados em dias distintos, no Laboratório de Produtos de Origem Animal do Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA) da Universidade Federal de Sergipe (UFS).

2.3 Processamento

Inicialmente, o leite integral (pH 6,53; acidez titulável 0,15 % ácido láctico; densidade 1,030 g/mL; gordura 3,5% e cinzas 0,66%) foi submetido a pasteurização lenta (63-65°C/30min) e na sequência os queijos foram produzidos seguindo-se procedimentos gerais descritos por Nassu et al. (2003). Para o queijo elaborado por acidificação direta, o leite pasteurizado foi aquecido a 80°C, adicionando-se em seguida 0,3% de ácido láctico a 85% e elevando-se a temperatura do mesmo a 90°C até formação do coágulo e liberação de soro com coloração esverdeada.

Para o queijo acidificado pela ação de micro-organismos, o leite pasteurizado foi resfriado a 30°C e inoculado com 1,5% da cultura láctea anteriormente descrita, sendo mantido a 35°C por 18 h até a obtenção da coalhada. A inoculação da cultura seguiu-se o recomendado pelo fabricante, onde os grânulos liofilizados foram adicionados diretamente no leite pasteurizado, seguindo-se agitação lenta por entre 10 e 15 minutos, e posterior incubação.

A massa coagulada por acidificação direta e microbiana foi cortada e deixada em repouso para decantação; posteriormente foi aquecida a 60°C e agitada gentilmente por aproximadamente 20 min, para facilitar a expulsão do soro. Após a retirada do soro, tanto o coágulo obtido por acidificação direta como aquele gerado por acidificação microbiana foram submetidos à lavagem. Inicialmente foram realizadas três lavagens sucessivas com água, e na

sequência, a massa foi lavada com leite pasteurizado aquecido entre 55 e 60°C, até que seu pH atingisse aproximadamente 5,5.

A massa lavada sofreu adição de sal refinado na proporção de 1% m/m. Para o queijo elaborado por acidificação direta houve também a adição do emulsificante polifosfato de sódio na proporção de 2,5% (m/m) (de acordo com testes realizados). Iniciou-se a fusão da massa mantendo-a por cinco minutos à temperatura entre 85 e 90°C; decorrido esse tempo, a manteiga de garrafa foi adicionada lentamente (~25% m/m) sob agitação constante durante aproximadamente 25 minutos até a completa fusão e homogeneização da manteiga na da massa proteica e incorporação da manteiga ao sistema. Após a fusão da massa, os queijos foram moldados a quente em formas de policloreto de vinila (PVC) previamente higienizadas, levados à câmara de refrigeração para resfriarem até a temperatura de 10°C, e na sequência, embalados (cloreto de polivinila) e armazenados a 10°C até o momento das análises.

2.4 Composição e caracterização físico-química

A composição dos queijos (proteína, lipídios, cálcio, cinzas e umidade) e caracterização físico-química (pH, acidez titulável e atividade de água) foram determinadas no 5º dia de armazenamento refrigerado a 10°C. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Para a determinação do pH, inicialmente 10g de queijo foram triturados em 100mL de água destilada com auxílio de um bastão até que as partículas ficassem uniformemente dispersas na água. Na sequência, o pH foi determinado pela imersão direta do eletrodo (Hanna Instruments, modelo HI 221, EUA) previamente calibrado (Instituto Adolfo Lutz, 2008). A acidez foi determinada por titulometria para determinar a concentração de ácido láctico com titulação direta com solução padrão de hidróxido de sódio e indicador de fenolftaleína, sendo os resultados expressos em percentagem de ácido láctico (Instituto Adolfo Lutz, 2008). O teor de sólidos foi obtido pela determinação do teor de umidade, através do método gravimétrico de secagem a 105°C. Inicialmente as amostras foram colocadas em estufa a 105°C por 3 horas, e após esse período, elas foram resfriadas em dessecador à temperatura ambiente e pesadas. Na sequência o material retornou à estufa aquecida sob as mesmas condições por 1 hora, e novamente resfriado em dessecador e pesado. Essa operação foi repetida até que a diferença entre pesagens sucessivas não excedesse 1mg (Instituto Adolfo Lutz, 2008). O teor de proteína foi determinado pelo método de Kjeldahl, multiplicando o fator de 6,38 (AOAC, 1997), e o teor de lipídios pelo método de Gerber (Brasil, 2006). A gordura foi corrigida para

o teor de extrato seco (GES) visando avaliar a classificação do queijo quanto teor de gordura, expresso em porcentagem na base seca. O teor de cinzas foi determinado pelo método gravimétrico, incinerando 5 g de amostra em mufla a 550°C (Instituto Adolfo Lutz, 2008), o teor de cálcio foi determinado por titulação complexométrica com EDTA (ácido etilenodiamino tetraacético). A atividade de água (aw) foi determinada no Aqualab® (modelo CX-2, Decagon Devices Inc., EUA).

2.5 Perfil de textura

O perfil de textura dos queijos foi determinado em um texturômetro CT3 (Brookfield Middleboro, EUA) em amostras com 20 mm de diâmetro e 20 mm de altura. Para a análise, utilizou-se uma probe TA4/100, formato cilíndrico de acrílico com 35 mm de diâmetro.

Condições de teste: (1) velocidade de pré-teste = 1,0 mm/s; (2) velocidade de teste = 1,0 mm/s; (3) velocidade pós-teste = 1,0 mm/s; (4) distância de compressão = 10 mm, equivalente a 50% de compressão; (5) força de contato = 10 g.

Os parâmetros de interesse gerados pelo perfil de textura foram dureza, coesividade, elasticidade, adesividade e mastigabilidade (Kramer & Szczesniak, 1973). As análises do perfil de textura foram realizadas em triplicata.

2.6 Análises microbiológicas

Os queijos de manteiga elaborados através dos dois tratamentos (acidificação direta e acidificação microbiana) foram armazenados a 10°C e nos tempos 5, 20 e 30 dias a fim de monitorar a qualidade dos queijos ao longo do armazenamento, foram realizadas análises microbiológicas de coliformes a 35°C e 45°C, *Staphylococcus* spp. e *Salmonella* sp., descritas a seguir.

Inicialmente, preparou-se diluições a partir de 25 g do queijo adicionadas à 225 mL de água peptonada a 0,1%, obtendo-se a diluição 10⁻¹. A partir desta, preparou-se diluições seriadas 10⁻² e 10⁻³ com o mesmo diluente. Todas as análises foram realizadas de acordo com as metodologias descritas em APHA (2001) e Silva et al. (2010).

Os coliformes fecais foram analisados pela técnica do Número Mais Provável (NMP) com tubos múltiplos utilizando série de 3 tubos (três tubos para cada diluição). Inicialmente para o teste presuntivo, as amostras diluídas foram inoculadas em caldo lauril sulfato triptose e incubadas a 35°C por 48 h. Dos tubos positivos (que apresentaram turbidez e formação de

gás), alçadas foram transferidas para tubos contendo caldo EC que foram incubados em banho-maria entre 44,5 e 45,5°C por 48 h, os tubos com produção de gás foi considerado confirmativo para a presença de coliformes a 45°C. Os resultados foram obtidos utilizando-se uma tabela (Silva, et al., 2010) de NMP com combinações de tubos positivos, sendo o resultado expresso em NMP de coliformes a 45°C por grama de queijo.

Para contagem de *Staphylococcus* spp., as amostras foram inoculadas em ágar Baird-Parker com adição de telurito de potássio 1% e gema de ovo e incubadas à 36°C durante 24 h. Após este tempo, realizou-se a contagem das colônias típicas (preto a cinza escuro, convexo, contornos bem definidos, borda branca, com uma zona opaca e/ou um halo transparente se estendendo para além da zona opaca). Os resultados foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias (UFC/g) (APHA, 2001; Silva, et al., 2010).

A detecção de *Salmonella* sp. foi realizado em três etapas: i) pré-enriquecimento com caldo de lactose (36°C/24 h); ii) enriquecimento seletivo com Caldo Rappaport-Vassilidis (RV) (42°C/24 h) e Caldo Tetrionato (TT) (36°C/24 h); iii) plaqueamento diferencial. Foi estriada uma alçada do caldo TT em placas de Ágar Entérico de Hektoen (HE) e Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD), repetindo o procedimento com Caldo RV. As placas foram incubadas a 36°C por 24-48 h, onde foi verificado se houve desenvolvimento de colônias típicas de *Salmonella* sp. no meio HE (colônias verdes azuladas com ou sem centro negro, sendo que muitas culturas se apresentam totalmente negras) e no meio XLD (colônias cor de rosa, com ou sem centro preto ou mesmo inteiramente pretas) (Silva, et al., 2010).

A contagem de bactérias lácticas foi determinada usando Ágar Man Rogosa & Sharpe (MRS) (36°C/24 h). As colônias foram identificadas ao microscópio em cocos ou bastonetes através do método de coloração de Gram e do teste de catalase. Os resultados foram expressos em UFC/g (Silva, et al., 2010).

2.7 Análise estatística

Todos os resultados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA), testes de comparações múltiplas de Tukey ao nível de significância de 5% (p). Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software estatístico SAS® versão 9.0.

3 Resultados e Discussão

3.1 Impacto do método de acidificação sobre a qualidade química e físico-química do queijo de manteiga

A Tabela 1 apresenta a composição centesimal e parâmetros físico-químicos dos queijos de manteiga produzidos por acidificação direta e acidificação por meio de microorganismos. Como esperado, a composição dos queijos diferiu em função do processo de fabricação.

Tabela 1 - Composição centesimal e parâmetros físico-químicos do queijo de manteiga produzidos por acidificação direta e microbiana.

| Parâmetros avaliados | Queijo de manteiga | |
|--------------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| | Acidificação direta | Acidificação microbiana |
| pH | 7,57 ^a ±0,08 | 5,42 ^b ±0,01 |
| Acidez titulável (% g ácido láctico) | 0,11 ^b ±0,005 | 0,15 ^a ±0,009 |
| Atividade de água | 0,97 ^a ±0,0017 | 0,97 ^a ±0,003 |
| Proteína (%) | 14,33 ^b ±1,09 | 20,13 ^a ±1,60 |
| Umidade (%) | 58,56 ^a ±0,43 | 49,38 ^b ±2,24 |
| Cinzas (%) | 4,96 ^a ±0,02 | 2,12 ^b ±0,04 |
| Gordura (%) | 20 ^a ±0,00 | 20 ^a ±0,00 |
| GES ¹ (%) | 48,26 ^a ±0,51 | 39,44 ^b ±1,75 |
| Teor de cálcio (mg/100g) | 412,51 ^a ±5,13 | 110,48 ^b ±14,83 |

Médias na mesma linha seguidas pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de 5% ($p \leq 0,05$)

¹Gordura no Extrato Seco (GES). Fonte: Elaborado pelos autores.

Como pode ser verificado na Tabela 1, o pH do queijo de manteiga elaborado por acidificação direta foi superior ao do queijo de manteiga elaborado por acidificação microbiana. Esses resultados não surpreendem dado que em coagulações ácidas realizadas a altas temperaturas (>70°C), a precipitação das caseínas se dá em pH superior ao ponto isoelétrico (pH = 4,6) observado a temperatura entre 20 e 30°C. Por isso, em queijos obtidos por precipitação ácida a quente, o pH usualmente varia entre 5,2 e 5,6 ao invés da faixa entre 4,4 e 4,8 observada em queijos coagulados primariamente pela ação de enzimas (Hill, 2016; Lucey, 2011). Ainda assim, o pH do queijo de manteiga por acidificação direta foi mais alto do que aqueles usualmente reportados na literatura científica. Parte dessa ocorrência pode ser atribuída à lavagem com leite da massa coagulada, prática que promove aumento do pH (Almeida, 2008), e parte ao uso do emulsificante (polifosfato de cálcio), que segundo alguns

autores (Fox, et al., 2017), pode promover aumento do pH. Já o queijo elaborado com acidificação microbiana, que não usou emulsificante, apresentou um pH mais compatível com aqueles reportados em queijos obtidos com acidificação direta e a quente, ou seja, entre 5,2 e 5,6 (Hill, 2016).

Nassu et al. (2009), avaliaram os valores de pH em seis amostras de queijo de manteiga produzidas no Estado do Rio Grande do Norte, sendo três de origem industrial com selos de inspeção governamental, e três de origem artesanal, apenas com a identificação do fabricante. Os valores de pH das amostras com selos governamentais variaram entre 5,69 e 6,19; enquanto aquelas de origem artesanal variaram entre 5,47 e 6,09. Em Sergipe, Santos et al. (2008), avaliando 27 amostras de queijo de manteiga produzidas em diferentes municípios do estado, reportando variações de pH entre 4,98 e 6,08; ou seja, variações comparáveis àquelas reportadas por Nassu et al. (2009) para o Estado do Rio Grande do Norte. Considerando-se que as amostras com inspeção governamental estudadas por Nassu et al. (2009) foram realmente elaboradas conforme a legislação vigente, o valor de pH obtido em nosso estudo para o queijo elaborado com acidificação microbiana encontra-se dentro dos limites observados em queijos de manteiga comercializados no país. Adicionalmente, a acidificação microbiana pode dar uma maior segurança alimentar ao consumidor brasileiro, em contraponto à acidificação direta, determinada pela Legislação Brasileira (Brasil, 2001), notadamente se forem utilizadas culturas lácteas iniciantes de origem conhecida. Isso porque as bactérias lácticas exercem efeito protetor aos alimentos lácteos, não só porque causam a diminuição do pH do alimento, como porque produzem bacteriocinas capazes de inibir o crescimento de bactérias patogênicas (Charlier, et al., 2009; Ogaki, et al., 2015).

Como esperado a acidez titulável também diferiu ($p \leq 0,05$) entre os queijos elaborados no presente estudo, sendo maior no queijo elaborado por acidificação microbiana (~0,15% de ácido lático).

O teor de umidade do queijo de manteiga obtido por acidificação direta foi superior ao queijo obtido por acidificação microbiana, e superior ao máximo (54,9%) permitido pela Legislação Brasileira (IN n°30/2001) (Brasil, 2001). Na acidificação do leite, as micelas de caseína se agregam pelo efeito eletrostático associado ao ponto isoelétrico das frações proteicas. Quando o leite sofre aquecimento prévio, como no caso do queijo de manteiga, as proteínas do soro se desnaturam e se associam com as kappa-caseínas via ligações dissulfídicas, formando no momento da acidificação, um gel com alta incorporação de água. Em valores de pH mais baixos, as interações eletrostáticas entre as frações proteicas são mais fortes e o gel torna-se mais firme, expulsando mais água da massa coagulada, e produzindo

um queijo de menor umidade (Hill, 2016; Lucey, 2011). O menor pH do queijo obtido por acidificação microbiana, explica, portanto, o menor teor de umidade nesse queijo comparativamente ao queijo produzido por acidificação direta

Os teores de proteínas nos queijos de manteiga obtidos por acidificação direta e por acidificação microbiana diferiram significativamente entre si ($p \leq 0,05$), com o primeiro apresentando 14,33% de proteína e o segundo 20,13%. O menor teor de proteína do queijo por acidificação direta se justifica em parte pelo seu alto teor de umidade. Por sua vez, os teores de proteínas dos dois queijos de manteiga do presente estudo, situaram-se dentro da faixa de variação de 13,91% a 27,2 % encontradas por Nassu et al. (2003) em 13 amostras de queijo de manteiga coletadas em diferentes unidades produtoras do Rio Grande do Norte, e dentro das variações de 17,94% a 31,50% reportadas por Santos et al. (2008). O queijo elaborado com acidificação microbiana, também mostrou teor proteico comparável aos valores verificados por Nassu et al. (2009) em queijos de manteiga também coletados no Rio Grande do Norte, que variaram entre 19,87% a 27,74%.

O teor de cinzas do queijo obtido por acidificação direta foi significativamente superior àquele observado no queijo obtido por acidificação microbiana (Tabela 1). Resultado similar já havia sido verificado por (Rapacci & Van Dender, 1998), em seus estudos sobre o conteúdo de minerais em massas coaguladas a quente (80°C) por acidificação direta e por acidificação microbiana. Os autores verificaram que as duas formas de coagulação causavam desmineralização de cálcio no sistema proteico; porém, a perda era maior na acidificação microbiana, ocorrência que os autores atribuíram ao menor pH de coagulação dessa massa; o que foi igualmente verificado em nossa pesquisa. Os autores também observaram maior teor de cinzas no produto elaborado por acidificação direta, e atribuíram essa ocorrência à menor desmineralização sofrida durante a coagulação da massa por ela ter ocorrido em pH superior à coagulação microbiana. No presente estudo, soma-se a esse efeito, o peso do estabilizante - polifosfato de cálcio – adicionado ao queijo elaborado por acidificação direta. O valor de 2,12% de cinzas no queijo produzido pela acidificação microbiana encontra-se dentro da variação entre 2,3% e 3,2% observada por Nassu et al. (2009) em seis amostras de queijo de manteiga, produzidas no Estado do Rio Grande do Norte, das quais três possuíam selos governamentais e três eram de origem artesanal. O queijo elaborado com acidificação microbiana também apresentou teor de cinzas compatíveis com os queijos de manteiga comercializados em diferentes Municípios de Aracaju, os quais, de acordo com Santos et al (2008) variaram entre 1,60% e 3,75%.

O tipo de acidificação não teve efeito significativo ($p \leq 0,05$) no teor de gordura dos

queijos de manteiga. Isto provavelmente pode ser explicado pela padronização dos queijos com manteiga de garrafa. Entretanto, a gordura no extrato seco (GES) dos queijos diferiu significativamente ($p \leq 0,05$), sendo que o queijo elaborado por acidificação direta apresentou maior GES (48,26%) que aquele obtido por acidificação microbiana (39,44%). O maior teor de gordura em base seca encontrado no queijo acidificado diretamente, pode ser atribuído à uma melhor interação água-óleo, devido à adição de emulsificante nesse queijo. Essa é uma informação importante a ser oferecida aos pequenos produtores brasileiros, dado que um maior teor de gordura, usualmente, melhora a qualidade de sabor e textura dos produtos alimentícios.

De acordo com a Legislação, o teor máximo de gordura em base seca para o queijo de manteiga deve variar entre 25% e 55% (Brasil, 2001), no nosso estudo o GES se manteve dentro do permitido pela Legislação. Assim, o queijo de manteiga (por acidificação direta e microbiana) pode ser classificado como “semigordo” a “gordo”, seguindo a classificação do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil, 1996). Oliveira et al. (2016) produziram queijo de leite de cabra Minas frescal desenvolvido por acidificação direta e fermentação láctea, onde observaram que o GES foi de 48,25 g/100g e 50,92 g/100g, respectivamente. Os autores observaram que o tipo de processo não alterou significativamente o GES. Tal resultado assemelha ao que observamos no nosso estudo, no entanto é importante ressaltar que a diferença em relação ao queijo acidificado por micro-organismos pode ser devido à matéria-prima e ao tipo de queijo diferente.

Segundo Fox et al. (2000), em queijos, quanto maior a acidificação, maior a dissolução do fosfato de cálcio coloidal e a perda de cálcio no soro. Isso explica o fato de no presente estudo, o queijo obtido por acidificação microbiana, ter apresentado menor teor de cálcio. O fato desse queijo ter menor pH e maior acidez comparativamente ao queijo obtido por acidificação direta, pode ter influenciado uma maior desmineralização do queijo, e, portanto, menor teor de cálcio do produto final (Munck, 2004).

De um modo geral, os resultados discutidos acima sugerem que mesmo não sendo contemplada na Legislação Nacional (Brasil, 2001), a elaboração do queijo de manteiga por acidificação microbiana com cultura iniciante de origem conhecida, permite produzir um queijo que atende ao teor de gordura, e limites máximos de umidade estabelecidos no regulamento técnico brasileiro para esse tipo de queijo (Brasil, 2001). O queijo de manteiga elaborado com acidificação microbiana, também apresentou teor de proteína e cinzas, compatíveis com queijos de manteiga comerciais elaborados em diferentes regiões do país. Adicionalmente, é possível que a acidificação microbiana possa oferecer maior segurança

alimentar aos consumidores de queijo de manteiga, comparativamente à acidificação direta, tanto devido ao pH do produto final, como ao efeito protetor que as bactérias lácteas da cultura iniciante podem oferecer por estarem associadas à produção de bacteriocinas capazes de inibir o crescimento de bactérias patogênicas (Charlier, et al., 2009; Ogaki, et al., 2015).

Estudos posteriores poderão avaliar os efeitos associados à segurança alimentar do queijo de manteiga obtido por acidificação microbiana. Por sua vez, o uso do emulsificante produziu um queijo com teor de umidade acima do limite máximo estabelecido pela Legislação (Brasil, 2001) e com pH e teor de cinzas acima do usualmente reportado na literatura científica. Esses resultados não inviabilizam o uso de emulsificante no processo de elaboração de queijo de manteiga, mas sugerem maiores estudos tanto no que se refere ao tipo de emulsificante a ser utilizado, como na técnica de dessoragem, de forma a se reduzir a umidade no produto final.

3.2 Efeito da acidificação direta e microbiana na textura do queijo de manteiga

O perfil de textura dos queijos de manteiga está apresentado na Tabela 2. Podemos observar que no queijo produzido pela acidificação microbiana houve um aumento ($p \leq 0,05$) dos parâmetros dureza, gomosidade e mastigabilidade quando comparados com o acidificado diretamente. Por outro lado, os parâmetros de adesividade, coesividade e elasticidade foram maiores ($p \leq 0,05$) no queijo elaborado por acidificação direta.

Tabela 2 - Perfil de textura do queijo de manteiga produzido com acidificação direta e acidificada microbiana.

| Atributos de textura | Acidificação direta | Acidificação microbiana |
|----------------------|----------------------------|------------------------------|
| Dureza (g) | 508,50 ^b ±87,75 | 1504,00 ^a ±119,64 |
| Adesividade (mJ) | 1,90 ^a ±0,37 | 0,77 ^b ±0,68 |
| Resiliência | 0,15 ^a ±0,008 | 0,09 ^a ±0,01 |
| Coesividade (g) | 0,47 ^a ±0,031 | 0,27 ^b ±0,03 |
| Elasticidade (mJ) | 5,81 ^a ±0,18 | 5,4 ^b ±0,17 |
| Gomosidade (g) | 238,75 ^b ±29,7 | 412,75 ^a ±26,56 |
| Mastigabilidade (mJ) | 13,60 ^b ±1,44 | 21,87 ^a ±1,93 |

Médias na mesma linha seguidas pela mesma letra não diferem significativamente ao nível de 5% ($p \leq 0,05$). Fonte: Elaborado pelos autores.

A umidade é um fator importante nas propriedades dos queijos, uma vez que um menor teor de umidade resulta em um queijo mais firme (Buffa, et al., 2001). De fato,

observados na Tabela 1, que o queijo de manteiga elaborado com acidificação microbiana, não só apresentou menor teor de umidade, como também maior dureza ($p \leq 0,05$).

Em queijos, o aumento no teor de gordura (GES) está relacionado com uma maior elasticidade (Gwartney, et al., 2002). Isso explica porque o queijo obtido por acidificação direta, mostrando uma maior GES, apresentou também uma elasticidade ligeiramente maior e uma menor mastigabilidade.

3.3 Efeito do tempo de armazenamento na vida de prateleira do queijo da manteiga

A Tabela 3 mostra o efeito do armazenamento à 10°C, dos queijos produzidos por acidificação direta e microbiana ao longo de 5, 20 e 30 dias, sobre as contagens de coliformes fecais, *Salmonella* sp., *Staphylococcus* spp. e bactérias lácticas.

Tabela 3 - Contagem de coliformes fecais, *Salmonella* sp., *Staphylococcus* spp. e bactérias lácticas em queijo de manteiga produzido por com acidificação direta e acidificação microbiana durante armazenamento a 10°C.

| Micro-organismos | Queijo de manteiga obtido por acidificação direta | | | Queijo de manteiga obtido por acidificação microbiana | | |
|--|---|-----------------------|-----------------------|---|-----------------------|-----------------------|
| | Tempo de armazenamento | | | Tempo de armazenamento | | |
| | 5° dia | 20° dia | 30° dia | 5° dia | 20° dia | 30° dia |
| Coliformes fecais (NMP/g) ¹ | <3,0 | <3,0 | <3,0 | <3,0 | <3,0 | <3,0 |
| <i>Salmonella</i> sp. (UFC/g) ² | Ausência | Ausência | Ausência | Ausência | Ausência | Ausência |
| <i>Staphylococcus</i> spp. (UFC/g) | <10,0 | <10,0 | <10,0 | <10,0 | <10,0 | <10,0 |
| Bactéria ácido láctica (UFC/g) | 1,7 x 10 ¹ | 1,6 x 10 ² | 2,6 x 10 ³ | 1,0 x 10 ³ | 1,5 x 10 ⁴ | 1,5 x 10 ⁴ |

¹NMP: Número Mais Provável.

²UFC: Unidade Formadora de Colônia.

Fonte: Elaborado pelos autores.

De acordo com a Legislação Brasileira (IN n° 30/2001) (Brasil, 2001), o queijo de manteiga deve ser armazenado a uma temperatura máxima de 10°C. Os resultados da qualidade microbiológica do queijo de manteiga demonstrados na Tabela 3 foram analisados de acordo com a Instrução Normativa n° 60 de 23 de dezembro de 2019 da ANVISA (Brasil, 2019) para um queijo de alta umidade.

O número mais provável de coliformes fecais permaneceu abaixo de 3,0 NMP/g durante o armazenamento, o que significou que não houve turvação ou formação de gás nos

tubos confirmativos indicando que os queijos não demonstraram a presença de coliformes de origem fecal, como a *Escherichia coli*. Segundo a Instrução Normativa nº 60, queijo com umidade $\geq 46\%$ terá qualidade aceitável se apresentar valores menores do que 10^2 *Escherichia coli*/g. Portanto, os queijos de manteiga estão dentro dos padrões estabelecidos. O processo de pasteurização do leite associado à fusão da massa (80-95°C) sob condições seguras de higiene, contribuiu para este resultado, não se observando qualquer impacto do tipo de acidificação sobre a contagem de coliformes fecais nos queijos.

A presença de *Salmonella* sp. pode causar infecção e segundo a Instrução Normativa nº 60 (Brasil, 2019) deve ser ausente por 25 g de amostra analisada. Nos queijos manteiga verificou-se ausência de *Salmonella* sp. durante os tempos de armazenamento. Por sua vez, *Staphylococcus* spp. é um micro-organismo que pode causar uma variedade de doenças uma vez que ele produz enterotoxinas (Jørgensen, et al., 2005). Os queijos demonstraram valores inferiores a 10 UFC/g durante o armazenamento, estando de acordo com a Instrução Normativa (Brasil, 2019), a qual preconiza que a qualidade é aceitável para queijos com valores menores que 10^2 *Estafilococos coagulase positiva*/g. Esse resultado reforça que os queijos de manteiga foram produzidos sob condições adequadas, não se observando impacto do tipo de acidificação sobre a presença dos micro-organismos citados.

As bactérias lácticas são consideradas *Generally Recognized As Safe* (GRAS) podendo ser utilizadas tanto na produção e na preservação de alimentos. Sua contribuição no alimento vai desde o desenvolvimento de características organolépticas (sabor, aroma e textura), como no seu poder protetor. Esses micro-organismos causam a diminuição do pH do alimento como consequência da produção de ácido lático e adicionalmente agentes antimicrobianos como bacteriocinas e compostos orgânicos não proteico (Charlier, et al., 2009). As bacteriocinas são peptídeos pequenos e termoestáveis capazes de inibir o crescimento de bactérias patogênicas Gram-positivas, leveduras e algumas Gram-negativa (Ogaki, et al., 2015), portanto, desempenham um papel na promoção da segurança alimentar (Charlier, et al., 2009).

A contagem de bactérias lácticas no queijo de manteiga produzido com acidificação microbiana foi maior do que no queijo elaborado com acidificação direta, o que pode ser atribuído ao fato delas terem sido adicionadas ao processo. As bactérias lácticas desempenham um papel importante na qualidade sensorial do queijo, pois fermentam açúcares produtores de ácido lático e outros ácidos orgânicos, contribuindo para o aparecimento de aroma e sabor desejável no queijo (Lima, et al., 2009; Tempel & Jakobsen, 1998).

A maior contagem de bactérias lácticas no queijo produzido com acidificação

microbiana, sugere, portanto, vantagem do método na elaboração do queijo de manteiga. Isso pode ocorrer tanto devido ao efeito protetor que as bactérias lácticas da cultura iniciante podem vir a oferecer à segurança alimentar desse queijo, como pela possível melhoria da qualidade sensorial do mesmo.

4 Considerações Finais

Na elaboração do queijo de manteiga, a acidificação microbiana, comparativamente à acidificação direta, como determina a Legislação Nacional, não alterou o teor de gordura no produto final, porém produziu um queijo de menor pH e menor teor de água, o que pode favorecer a vida útil do produto.

O tipo de acidificação utilizada na elaboração do queijo de manteiga – direta ou microbiana – não influenciou sobre a contaminação do produto por coliformes termotolerantes, *Salmonella* sp. e *Staphylococcus* spp. Porém, a contagem de bactérias lácteas no queijo de manteiga elaborado com acidificação microbiana foi superior àquela observada no queijo elaborado por acidificação direta, o que possivelmente aumenta a segurança microbiológica do queijo e o torna mais benéfico à saúde do consumidor.

Assim, embora a Legislação brasileira estabeleça que para fabricação de queijo de manteiga a massa deva ser obtida por acidificação direta, estudos futuros devem avaliar a utilização da acidificação microbiana com cultura iniciante, na elaboração de queijo de manteiga.

Ainda que os resultados obtidos no presente estudo se mostrem importantes e promissores no que se refere ao desenvolvimento de processamentos alternativos de queijo de manteiga, é importante que pesquisas futuras explorem e se aprofundem nos efeitos da acidificação microbiana, sobre o perfil sensorial e a segurança alimentar do produto final, áreas não exploradas no presente estudo. Estudar o uso de diferentes culturas iniciantes, e suas respectivas atividades acidificantes, proteolíticas, lipolíticas, produção de compostos voláteis de impacto sobre o aroma e sabor do queijo de manteiga, como diacetil e acetoina, é de fundamental importância para o avanço do conhecimento e melhoria da qualidade do queijo de manteiga no Brasil. De igual importância, é a realização de estudos que avaliem o potencial de diferentes culturas lácteas iniciantes, no biocontrole de micro-organismos patogênicos por meio da produção de bacteriocinas, e respectivos efeitos protetores à saúde do consumidor. Por fim, novos estudos devem também dimensionar o impacto que as diferenças sensoriais resultantes dos diferentes processamentos promoverão na aceitação e

atitude de compra do consumidor de queijo de manteiga.

5 Agradecimentos

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelas bolsas de mestrado de APS Alexandre e FOS Camatari.

Referências

Alexandre, A. P. S., Aquino, A. B., Lyra, D. G., & Froehlich, A. (2016). Queijo manteiga - contaminação microbiológica e risco à saúde do consumidor. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 38(2), 121–4.

Almeida, A. P. N. (2008). *Efeito do pH na qualidade do queijo de manteiga*. 74p. (Dissertação Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. (1997). *Official methods of analysis of AOAC International* (16 ed). Gaithersburg, Maryland: International.

Association, American Public Health Association. (2001). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Downes, F. P. & Ito, K (eds.). Washington, DC: American Public Health association.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n° 68, de 12 de dezembro de 2006. (2006). *Oficializa os métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos*. Brasília: Diário Oficial da União.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n° 146 de 7 de março de 1996. (1996). *Regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos*. Brasília: Diário Oficial da União.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Instrução Normativa n° 60, de 23 de dezembro de 2019. (2019). *Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos prontos para oferta ao consumidor*. Brasília: Diário Oficial

da União.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 30, de 26 de junho de 2001. (2001). *Regulamentos técnicos de identidade e qualidade de manteiga da terra ou manteiga de garrafa; queijo de coalho e queijo de manteiga*. Brasília: Diário Oficial da União.

Buffa, N., Trujillo, A. J., Pavia M., & Guamis B. (2001). Changes in textural, microstructural, and colour characteristics during ripening of cheeses made from raw, pasteurized or high-pressure-treated goats' milk. *International Dairy Journal*, 11, 927–34.

Caric, M., Gantar, M., & Kalab, M. (1985). Emulsifying agents on the microstructure and other characteristics of process cheese - a review. *Food Microstructure*, 4, 297–12.

Cavalcante, A. B. D., & Costa, J. M. C. (2005). Padronização da tecnologia de fabricação do queijo manteiga. *Revista Ciência Agronômica*, 36, 215–20.

Charlier, C., Cretenet, M., Even, S., & Le Loir, Y. (2009). Interactions between *Staphylococcus aureus* and lactic acid bacteria: An old story with new perspectives. *International Journal of Food Microbiology*, 131(1), 30–9.

Cruz, A. G., de Sant'Ana, A. S., Macchione, M. M., Teixeira, Â. M., & Schmidt, F. L. (2009). Milk drink using whey butter Cheese (queijo manteiga) and acerola juice as a potential source of vitamin C. *Food and Bioprocess Technology*, 2(4), 368–73.

Ellinger, R. H. (1972). *Phosphates as food ingredients*. Cleveland, Ohio: CRC Press.

Feitosa, T., Borges, M. F., Nassu, R. T., Azevedo, E. H. F. & Muniz, C. R. (2003). Pesquisa de *Salmonella* sp., *Listeria* sp. e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijo produzidos no Estado do Rio Grande do Norte. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 23, 162–65.

Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M. & McSweeney, P. L. H. (2000). *Fundamentals of cheese science*. Gaithersburg: AN Aspen Publication.

- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. H. (2017). Processed Cheese and Substitute/Imitation Cheese Products. In *Fundamentals of Cheese Science*. Boston, MA: Springer.
- Gálvez, A., Abriouel, H., López, R. L., & Omar, N. B. (2007). Bacteriocin-based strategies of food biopreservation. *International Journal of Food Microbiology*, 120, 51–70.
- Goktepe, I. (2006). Probiotics as biopreservatives for enhancing food safety. In: Goktepe, I., Juneja, V. K., Ahmedna, M. (Ed.). *Probiotics in Food Safety and Human Health*. Boca Raton: Taylor & Francis.
- Guerra, T. M. M., & Guerra, N. B. (2003). Influência do sorbato de potássio e do tipo de embalagem sobre a vida útil do queijo de manteiga (requeijão do Norte). *Brazilian Journal of Food Technology*, 6(2), 259–65.
- Guinee, T. P., Caric, M., & Kalab, M. (2004). Pasteurized processed cheese and substitute/imitation cheese products. In: Fox, P. F. (Ed.), *Cheese: chemistry, physics and microbiology*. 3rd ed. London, U.K.: Elsevier Applied Science.
- Gwartney, E. A., Foegeding, E. A., & Larick, D. K. (2002). The texture of commercial full-fat and reduced-fat cheese. *Journal Food Science*, 67(2), 812–16.
- Hill, A. R. (2016). *Cheese Making Technology eBook*. University of Guelph, Canada. Disponível em: <https://www.uoguelph.ca/foodscience/book-page/family-3-heat-acid-precipitated-cheese>. Acesso em 20 junho.
- Hladíková, Z., Smetanková, J., Greif, G., & Greifová, M. (2012). Antimicrobial activity of selected lactic acid cocci and production of organic acids. *Acta Chimica Slovaca*, 5(1), 80–85.
- Instituto Adolfo Lutz. (2008). *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. 5 ed. São Paulo: IMESP.
- Jassen-Escudero, C., & Rodriguez-Amaya, D. B. (1981). Composition of the brasilian cheese “Requeijão do Norte.” *Journal of Food Science*, 46(3), 911–17.

Jørgensen, H. J., Mørk, T., Høgasen, H. R., & Rørvik L. M. (2005). Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in bulk milk in Norway. *Journal of Applied Microbiology*, 99, 158–66.

Kramer, A., & Szczesniak, A. S. (Eds.). (2012). *Texture measurement of foods: psychophysical fundamentals; sensory, mechanical, and chemical procedures, and their interrelationships*. Springer Science & Business Media.

Lima, C. D. L. C., Lima, L. A., Cerqueira, M. M. O. P., Ferreira, E. G., & Rosa, C. A. (2009). Bactérias do ácido láctico e leveduras associadas com o queijo-de-minas artesanal produzido na região da Serra do Salitre, Minas Gerais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 61, 266–72.

Lucey, A. J. (2011). Cheese acid- and acid/heat coagulated cheese. In: Fuquay, J. W (Ed.), *Encyclopedia of Dairy Sciences* (2 ed.). San Diego, CA: Academic Press.

Meyer, A. (1973). *Processed cheese manufacture*. London, U.K.: Food Trade Press Ltd.

Mizuno, R., & Lucey, J. A. (2005). Effects of emulsifying salts on the turbidity and calcium-phosphateprotein interactions in casein micelles. *Journal of Dairy Science*, 88, 3070–78.

Munck, A. V. (2004). Queijo de coalho: princípios básicos da fabricação. *Revista Do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 59, 13–5.

Nassu, R. T., Araújo, R. S., Guedes, C. G. M., & Rocha, R. G. A. (2003). Diagnóstico das condições de processamento e caracterização físico-química de queijos regionais e manteiga do Rio Grande do Norte. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical.

Nassu, R. T., Lima, J. R., & Andrade, A. A. (2009). caracterização físico-química e análise sensorial de queijo de manteiga produzido no Rio Grande do Norte. *Revista Ciência Agronômica*, 40(1), 54–9.

O’Callaghan, D. J., & Guinee T. P. (2004). Rheology and texture of cheese. In Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M., & Guinee, T. P. (Eds.), *Cheese: chemistry, physics and microbiology. Volume 1: General Aspects*. Elsevier Applied Science.

- Ogaki, M. B., Furlaneto, M. C., & Maia, L. F. (2015). Revisão: Aspectos gerais das bacteriocinas. *Brazilian Journal of Food Technology*, 18(4), 267–76.
- Oliveira, K. A. M., Jardim, D. M., Chaves, K. S., Oliveira, G. V., & Vidigal M. C. T. R. (2016). Avaliação físico-química, microbiológica e sensorial de queijo minas frescal de leite de cabra desenvolvido por acidificação direta e fermentação láctica. *Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes*, 71(3), 166–78.
- Pereira, A. S., Shitsuka, D. M., Parreira, F. J., & Shitsuka, R. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. [e-book]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFSM. Disponível em: https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1. Acesso em 05 de julho.
- Rapacci, M., & Van Dender, A. G. F. (1998). Estudo comparativo das características físicas, químicas e do grau de desmineralização de diferentes tipos de massas utilizadas no processamento de requeijão cremoso. *Revista Do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 53(304), 223–237.
- Santos, J. S., Santana, M. M., Santos, R. D., Aquino, A. C. M. S., Silva, G. F., & Castro, A. A. (2008). Diagnóstico das condições de processamento de produtos artesanais derivados do leite no Estado de Sergipe. *Revista Do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 63(363), 17–25.
- Silva N., Junqueira V. C. A., Silveira N. F. A., Taniwaki M. H., Santos R. F. S., & Gomes R. A. R. (2010). *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água*. São Paulo: Varela.
- Tempel, T. V. D., & Jakobsen M. (1998). Yeast associated with Danablu. *International Dairy*, 8, 25–31.
- Van Dender, A. G. F. (2006). *Requeijão cremoso e outros queijos fundidos: tecnologia de fabricação, controle do processo e aspectos de mercado* (1st ed.). São Paulo, SP: Fonte Comunicações e Editora Ltda.

Ventura, R. F. (1987). Requeijões do Nordeste: tipos e fabricações. *Revista Do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 42, 3–21.

Viana, F. R., Oliveira, A. D. L., Carmo, L. S., & Rosa, C. A. (2009). Occurrence of coagulase-positive *Staphylococci*, microbial indicators and physical-chemical characteristics of traditional semihard cheese produced in Brazil. *International Journal of Dairy Technology*, 62(3), 372–77.

Walstra, P., Wouters, J. T. M., & Geurts, T. J. (2006). *Dairy Science and Technology* (2nd ed.). Boca Raton, FL: CRC/Taylor and Francis.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Allana Patrícia Santos Alexandre - 30%

Fabiana dos Santos Oliveira Camatari - 30%

Luciana Cristina Lins de Aquino Santana - 10%

Maria Aparecida Azevedo Pereira da Silva - 30%