



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

ALEXCIANA PEREIRA DE MELO

**AVALIAÇÃO DO CONCENTRADO PROTEICO DO SORO DO LEITE OBTIDO
POR SEPARAÇÃO COM MEMBRANAS NA QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA E
MICROBIOLÓGICA DO QUEIJO COALHO TIPO B**

Recife
2023

ALEXCIANA PEREIRA DE MELO

**AVALIAÇÃO DO CONCENTRADO PROTEICO DO SORO DO LEITE OBTIDO
POR SEPARAÇÃO COM MEMBRANAS NA QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA E
MICROBIOLÓGICA DO QUEIJO COALHO TIPO B**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Área de concentração: Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos

Orientador: Prof. Dr. Mohand Benachour.

Coorientador: Prof. Dr. Liderlânio de Almeida Araújo.

Recife

2023

Catálogo na fonte
Bibliotecário Gabriel Luz, CRB-4 / 2222

M528a Melo, Alexciana Pereira de.
Avaliação do concentrado proteico do soro do leite obtido por separação com membranas na qualidade físico-química e microbiológica do queijo coalho tipo B / Alexciana Pereira de Melo. 2023.
59 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Mohand Benachour.
Coorientador: Prof. Dr. Liderlânio Almeida de Araújo.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG.
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Recife, 2023.
Inclui referências.

1. Engenharia química. 2. Contaminação do queijo. 3. Coliformes totais e termotolerantes. 4. *Escherichia coli*. 5. *Staphylococcus aureus*. I. Benachour, Mohand (Orientador). II. Araújo, Liderlânio Almeida de (Coorientador). III. Título.

UFPE

660.2 CDD (22. ed.)

BCTG / 2023 - 116

ALEXCIANA PEREIRA DE MELO

**AVALIAÇÃO DO CONCENTRADO PROTEICO DO SORO DO LEITE OBTIDO
POR SEPARAÇÃO COM MEMBRANAS NA QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA E
MICROBIOLÓGICA DO QUEIJO COALHO TIPO B**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco como requisito para a obtenção do título de Mestra em Engenharia Química. Área de concentração: Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos.

Aprovado em: 27 / 02 / 2023.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Edvane Borges da Silva (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Nelson Medeiros de Lima Filho (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Yana Batista Brandão (Examinadora Externa)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

*Dedico a Deus, a minha filha Sophie
e ao meu esposo Luciano.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço, Primeiramente, a Deus, pela minha segunda chance de vida e por me fazer chegar até aqui, abençoando meu caminho.

À minha filha Sophie, que me fez ser uma mulher mais forte e tornou esta etapa de minha vida mais desafiadora.

Ao meu esposo e companheiro Luciano, por toda compreensão, amor e auxílio em mais uma importante etapa de minha vida.

À minha família, que se faz sempre presente e apoia meus projetos e sonhos. Aos meus amigos, pelo auxílio ao longo do caminho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Mohand Benachour, por sempre ser tão disposto e atencioso com o projeto e nossos resultados.

Ao meu Coorientador, e amigo Prof. Dr. Liderlânio Araújo, pela paciência, auxílio e convívio amistoso sempre presente em minha jornada de vida.

A empresa parceira da pesquisa Sooro – By the Whey, pela disponibilidade e por cederem a matéria prima para o desenvolvimento da pesquisa.

À UFPE, por oferecer a estrutura para desenvolvimento dessa pesquisa. À

UEPA, pela contribuição na realização de análises no referido estudo.

À CAPES pelo auxílio financeiro e pelo incentivo ao desenvolvimento da ciência. À

UNICAP, pela disponibilidade de utilização dos laboratórios.

RESUMO

No presente trabalho foi investigada a viabilidade técnica de se usar concentrados proteicos obtidos do soro do leite, ultrafiltrados, para proteção microbiológica de queijo Coalho Tipo B. O queijo Coalho tem se destacado na literatura como um concentrado lácteo de baixa qualidade microbiológica, principalmente do tipo B, quando o leite utilizado para a sua fabricação é in-natura. O leite tipo B é uma das principais fontes de renda dos pequenos e médios produtores das cidades do interior do Nordeste do Brasil. Os estudos têm evidenciado a necessidade do desenvolvimento de pesquisas que visem promover a redução e/ou eliminação dos principais contaminantes deste tipo de queijo. Dentre as alternativas, destaca-se o concentrado proteico do soro do leite (CPS), uma vez que este, além de possuir ação antimicrobiana, contribui também para redução da contaminação ambiental ocasionada pelo descarte de forma inadequada do soro. Neste trabalho, adicionou-se o concentrado proteico em diferentes massas (1, 5 e 10 g) nas amostras de queijo e, em seguida, foram monitorados parâmetros físico-químicos (umidade, pH, acidez) e microbiológicos (Coliformes Totais e Termotolerantes; *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*) por um período de 16 dias. Os resultados obtidos para umidade ficaram entre (47-57%). Para o pH, os valores foram (4,90-5,80). Já para o parâmetro de acidez titulável, os valores obtidos foram entre (0,10-0,80). Os resultados microbiológicos sugerem que o concentrado proteico promoveu redução da contaminação e a eliminação dos patógenos. Pode-se observar que as amostras A2 (1g/CPS) e A3 (5g/CPS) indicaram uma redução significativa dos contaminantes, mas a A4 (10g/CPS) demonstrou um comportamento excelente, pois, desde o primeiro dia, não foram encontrados *E. coli* e *St. aureus* e no sexto dia os Coliformes já haviam sido eliminados. A amostra A1 (controle) não apresentou redução em nenhum dos resultados analisados, indicando a presença dos contaminantes mesmo com o passar dos dias.

Palavras-chave: contaminação do queijo; coliformes totais e termotolerantes; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

In the present work, the technical feasibility of using protein concentrates obtained from whey, ultrafiltered, for the microbiological protection of Coalho Type B cheese was investigated. B, when the milk used for its manufacture is in-natura. Type B milk is one of the main sources of income for small and medium-sized producers in the interior cities of Northeast Brazil. Studies have shown the need to develop research aimed at promoting the reduction and/or elimination of the main contaminants of this type of cheese. Among the alternatives, whey protein concentrate (WPC) stands out, since this, in addition to having antimicrobial action, also contributes to the reduction of environmental contamination caused by the improper disposal of whey. In this work, the protein concentrate in different masses (1, 5 and 10 g) was added to the cheese samples and, then, physical-chemical parameters (humidity, pH, acidity) and microbiological parameters (Total and Thermotolerant Coliforms; *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*) for a period of 16 days. The results obtained for humidity were between (47-57%). For the pH, the values were (4.90-5.80). As for the titratable acidity parameter, the values obtained were between (0.10-0.80). The microbiological results suggest that the protein concentrate reduced contamination and eliminated pathogens. It can be observed that samples A2 (1g/CPS) and A3 (5g/CPS) indicated a significant reduction of contaminants, but A4 (10g/CPS) showed an excellent behavior, since, from the first day, no *E. coli* and *St. aureus* and on the sixth day the coliforms had already been eliminated. Sample A1 (control) showed no reduction in any of the analyzed results, indicating the presence of contaminants even as the days passed.

Keywords: cheese contamination; total and thermotolerant coliforms; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-Fluxograma geral do processo de produção do queijo Coalho Tipo A.....	17
Figura 2-Mapa brasileiro das principais regiões produtoras de queijos artesanais.....	18
Figura 3-Queijo Coalho Tipo B.....	19
Figura 4-Fluxograma geral do processo de produção do queijo Coalho Tipo B.....	21
Figura 5-Fluxograma das Concentrações médias de Proteínas de Soro de Leite.....	24
Figura 6-Soro de leite em pó.....	28
Figura 7-Técnicas de Filtração.....	29
Figura 8-Fluxograma do Processamento do Permeado de Soro de Leite.....	33
Figura 9-Parâmetro Físico-Químico: Teor de Umidade.....	38
Figura 10-Parâmetro Físico-Químico: pH.....	39
Figura 11-Parâmetro Físico-Químico: Acidez Titulável.....	41
Figura 12-Parâmetros Microbiológicos : Coliformes Totais (NMP/g).....	44
Figura 13-Parâmetros Microbiológicos : Termotolerantes (NMP/g).....	45
Figura 14-Parâmetros Microbiológicos: Escherichia coli.....	46
Figura 15-Parâmetros Microbiológicos: Staphylococcus aureus.....	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-Atividades biológicas das frações proteicas do soro de leite.....	26
Tabela 2-Parâmetros Físico-Químicos do Soro de Leite em Pó – Sooro.....	37
Tabela 3-Parâmetros Microbiológicos do Soro de Leite em Pó – Sooro.....	37
Tabela 4-Parâmetros Microbiológicos do queijo com o CPS.....	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Aa	Atividade de água
ABIQ	Associação Brasileira das Indústrias de Queijo
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AS	Soro Ácido
BPF	Boas Práticas de Fabricação
BSA	Bovine Serum Albumin (Albumina do Soro Bovino)
CPS	Concentado Proteico de Soro
DTA	Doenças Transmitidas por Alimentos
EC	Caldo <i>Escherichia coli</i>
NaOH	Hidróxido de Sódio
NMP	Número mais Provável
PE	Pernambuco
pH	Potencial Hidrogeniônico
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SD	Soro Doce
UF	Ultrafiltração
α -LA	α -lactoalbumina
β -LG	β -lactoglobulina
LST	Lauril Sulfato Triptose
UFC/g	Unidade Formadora de Colônia

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	15
3	REVISÃO DA LITERATURA	16
4	MATERIAIS E MÉTODOS	32
4.1.1	Processamento do soro de leite	32
4.1.2	Preparo da amostra.....	33
4.1.3	Avaliação Físico-Química	34
4.1.3.1	pH	34
4.1.3.2	Umidade.....	34
4.1.3.3	Acidez Titulável.....	34
4.1.3.4	Caracterização Microbiológica.....	35
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1	CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS.....	37
5.1.1	Umidade.....	37
5.1.2	pH	39
5.1.3	Acidez Titulável (mg de ácido láctico.g ⁻¹).....	40
5.2	CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS.....	42
5.2.1	Coliformes Totais	43
5.2.2	Coliformes Termotolerantes	45
5.2.3	Escherichia Coli.....	46
5.2.4	Staphylococcus aureus	47
6	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	49
6.1	CONCLUSÕES	49
6.2	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	50
	REFERÊNCIAS	51

1 INTRODUÇÃO

O queijo é classificado como produto fresco ou maturado oriundo da coagulação do leite. Este pode ser obtido de leite proveniente de vaca, cabra, ovelha, búfala, dentre outros. O seu processo de produção encontra-se diretamente interligado com a tradição, sendo, geralmente, as etapas envolvidas na obtenção desse concentrado lácteo: seleção e pasteurização do leite; coagulação; corte do coágulo; drenagem do soro; moldagem; salga; maturação e estocagem (OLIVEIRA, 2010; CARVALHO *et al.* 2010; ARAUJO, 2021).

No Brasil, a portaria 146 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), de março de 1996, que regulamenta a identidade e qualidade de produtos lácteos, define queijo como:

O produto fresco ou maturado que se obtém 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 bactéria específica, 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, p. 01).

No Brasil, são produzidos diversos tipos de queijo, a exemplo do queijo tipo Coalho que têm como matéria prima o leite de vaca. O queijo Coalho é um produto típico da região Nordeste do Brasil, com destaque para sua maior produção nos estados de Pernambuco, Ceará, Rio Grande do Norte e Paraíba, contribuindo fortemente para economia da região.

O referido concentrado lácteo é caracterizado por apresentar uma massa branca, de formato retangular, consistência semidura, elástica; uma textura compacta e macia, de média a alta umidade; podendo ser a massa crua, semicozida ou cozida com sabor levemente ácido e salgado ou condimentado; crosta fina e sem trincas, podendo ser consumido cru, assado, frito, puro ou como acompanhamento. Este queijo apresenta um teor de gordura variando entre 35,0% e 60,0%, sendo composto por proteínas, lipídios, sais minerais, principalmente cálcio e fósforo, e vitaminas, com ênfase para o tipo A e Complexo B (SILVA *et al.*, 2012; PAQUEREAU *et al.*, 2016; ARAUJO, 2021).

O queijo Coalho é classificado em Tipo A e B, sendo o primeiro produzido com leite pasteurizado, integral ou desnatado. Antes de 1999, ano no qual a Inspeção e Fiscalização Agropecuária de Pernambuco criou a legislação para estes dois tipos de queijo, havia apenas o Tipo B, que era produzido utilizando como matéria prima o leite cru, integral ou desnatado,

massa crua, prensada ou não, maturado (BRASIL, 2001; GOMES, 2012; NASSU *et al.*, 2021).

Uma vez que o leite utilizado para a produção do queijo Coalho Tipo B não é pasteurizado, este fica sujeito à contaminação por diversos microorganismos. Diversos estudos apontam para a qualidade microbiológica do queijo Coalho, tais como os realizados por Ávila e Gallo (1996), Feitosa *et al.* (2003), Cavalcante *et al.* (2007), Gomes (2012), Paquereau *et al.* (2016), os quais destacaram em suas pesquisas que as amostras analisadas de queijo Coalho Tipo B apresentaram microrganismos patogênicos e deterioradores em concentrações que excederam o limite aceito na legislação. Dentre as bactérias patogênicas mais observadas nas análises de queijo Coalho destacam-se a *Escherichia coli*, *Salmonellas*, *Staphylococcus aureuse* coliformes, sendo estes últimos os mais frequentes. Diante desses fatos, existe grande probabilidade de alteração na carga microbiológica, o que implica em alterações físico-químicas e sensoriais do queijo Coalho Tipo B.

Do ponto de vista microbiológico do queijo, o fator higiênico do leite é o primeiro ponto crítico na produção de queijo e outros derivados, pois animais, equipamentos e o ambiente de ordenha podem ser importantes fontes de contaminação microbiana. Além disso, a elaboração de queijos artesanais exige operações constantes, por vezes realizadas sem nenhum conhecimento e/ou cuidado de higiene (ALVES *et al.*, 2016).

Araújo *et al.* (2021) destacam que a qualidade microbiológica é muito importante para a comercialização do queijo, pois serve como um indicador higiênico que fornece as informações necessárias para mostrar até que ponto o alimento está relacionado aos padrões de consumo estabelecidos pela legislação Brasileira vigente, evitando assim a disseminação de doenças para diferentes tipos de alimentos.

Neste sentido, é importante a adoção de métodos que controlem a carga microbiológica e aperfeiçoe a qualidade sensorial e físico-química do queijo Coalho Tipo B. Uma alternativa para outros tipos de queijo, é a adoção do soro produzido durante a coagulação do leite para a produção do queijo. Entre os componentes mais valiosos do soro de leite, destacam-se as proteínas, pois estas possuem propriedades funcionais como espumante e emulsificante (PAGNO *et al.* 2009).

As proteínas do soro de leite aumentam a imunidade, produzem recuperação muscular de uma forma eficaz e constroem diversos benefícios para a saúde. Desta forma, pode-se direcionar a sua aplicação em bebidas esportivas ou alimentos substitutos de refeição. Além disso, podem ser utilizadas em grandes quantidades para suplementação proteica, na produção de compostos lácteos, na alimentação infantil, em sobremesas lácteas, em alimentos probióticos

e prebióticos e em chocolate (FOODINGREDIENTS BRASIL, 2017).

Embora o Brasil produza grandes quantidades de soro de leite por ano, o país importa grandes quantidades desse subproduto porque seu processamento exige a aplicação de tecnologias que não estão adaptadas à realidade nacional.

Em geral, o processo de industrialização do soro de leite requer a utilização de instalações industriais de certa complexidade, que exigem um investimento financeiro considerável, havendo apenas uma quantidade mínima de matéria-prima que justifique o investimento.

A etapa de concentração do soro líquido pode potencializar essas propriedades, resultando o processo em uma certa quantidade significativa de proteína. A escolha é analisada através da qualidade da proteína do soro do leite. O uso de processos de concentração a partir da separação por membranas de ultrafiltração têm-se tornado cada vez mais comum nas indústrias que processam esse tipo de alimento.

Dada a importância do queijo na alimentação humana, a falta de saneamento adequado representa um risco à saúde dos consumidores devido à disseminação de microrganismos patogênicos, o presente estudo tem por finalidade avaliar a aplicação do concentrado proteico em amostras de queijo Coalho tipo B, com diferentes concentrações (0, 1, 5, 10g), visando a proteção do queijo contra os patógenos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a ação do concentrado proteico do soro do leite no aperfeiçoamento da qualidade microbiológica do queijo Coalho tipo B (*in natura*).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar as características físico-químicas e microbiológicas do soro de leite e do queijo Coalho tipo B;
- Verificar as alterações ocorridas nas características químicas e microbiológicas do queijo após a aplicação do concentrado proteico;
- Identificar a concentração ideal da quantidade de concentrado proteico que irá permitir a proteção necessária contra os microrganismos patógenos; e
- Estimular os estudos e discussão sobre a aplicação de soro de leite ultrafiltrado no melhoramento da qualidade do queijo.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 QUEIJO

O queijo é um alimento que está presente na mesa dos brasileiros, este pode ser derivado do leite, como o de vaca, cabra, ovelha, búfala, dentre outros. O referido produto não possui uma datação específica para seu surgimento. Na literatura existem várias versões que visam explicar a sua origem, dentre essas, a descrita na mitologia, a qual afirma que sua descoberta foi atribuída a Aristeu, um dos filhos de Apolo e rei de Arcádia. Outras vertentes enfatizam que, possivelmente, foram os egípcios que produziram o primeiro tipo de queijo. Com o desenvolvimento da sociedade, este tornou-se uma espécie amplamente consumida em todo o mundo (SEBRAE, 2014; LIRA 2019).

O queijo se adapta aos gostos e costumes de diferentes culturas, resultando em uma diversidade de tipos e produtos. A sua fabricação se baseia no aumento da conservação do leite para a obtenção de um produto mais durável, com sabor típico, delicioso e atrativo, onde se concentram os principais nutrientes das matérias-primas, além do aproveitamento do leite que é produzido na própria fazenda (SILVA, 2018).

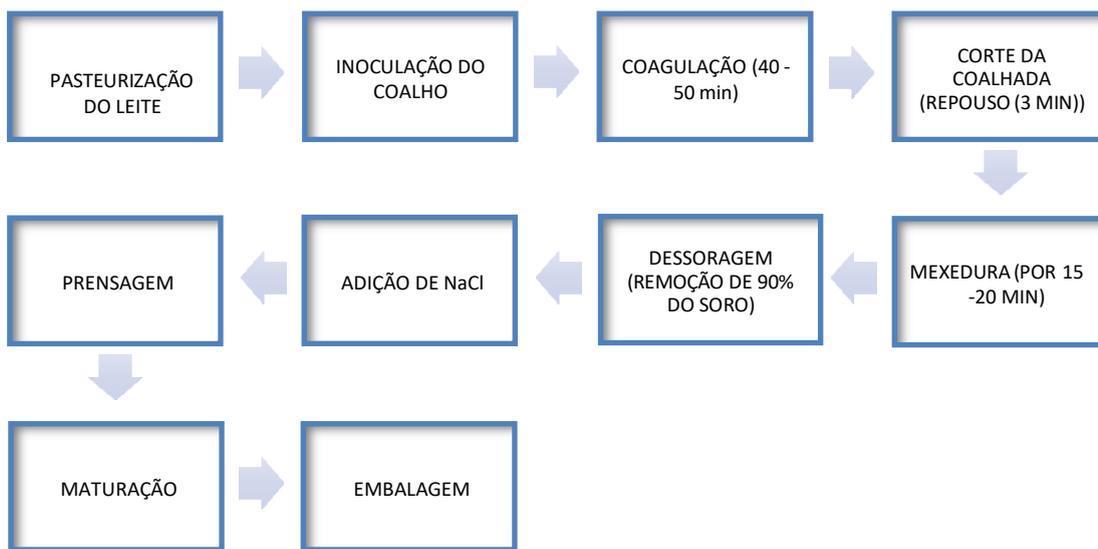
Embora o queijo seja um alimento antigo, grande parte de sua fabricação evoluiu somente nos últimos 100 anos, de "processos tradicionais e baseados em arte" para "ciência e tecnologia recentes" (JOHNSON, 2017). A produção industrial atual depende de muitas aplicações biotecnológicas, como o uso de enzimas, fermentações complexas, engenharias complexas e bioquímicas durante a maturação (MCSWEENEY *et al.* 2017).

A nível mundial, são produzidos vários tipos de queijos, sendo as alterações no processo de coagulação e a eliminação do soro, os responsáveis pela existência dessa gama diversificada. O processo de produção encontra-se diretamente interligado com a tradição de cada região, sendo, geralmente, as etapas envolvidas para a obtenção queijo Coalho Tipo A, são elas: o leite é submetido a pasteurização em tanque de parede dupla, sendo aquecido até 65°C; Depois de atingida a temperatura e tempo de pasteurização o leite deverá ser resfriado no próprio tanque, via circulação de água. A temperatura final deverá ser de 34 a 36°C (temperaturas para se coagular o leite). Depois de atingida a temperatura de coagulação, o leite deverá ser adicionado dos ingredientes através da inoculação do coalho por meio de microrganismos e/ou enzimas específicas.

Toda a etapa de fabricação até o ponto da massa ocorre no tanque de fabricação. Depois do ponto, o queijo será salgado no próprio tanque, pré-prensado (no próprio tanque), enformado, e prensado (utilizando as prensas conforme o tipo e forma utilizados).

Alguns queijos passam pelo processo de maturação (fase importante na definição nas características finais dos queijos maturados), e em alguns casos, e estocagem, conforme descrito na Figura 1 (CARVALHO *et al.*, 2010).

Figura 1 - Fluxograma geral do processo de produção do queijo Coalho Tipo A



Fonte: elaborado pela Autora (2022).

3.2 QUEIJOS NO BRASIL

Segundo a Associação Brasileira da Indústria de Queijos (ABIQ, 2017), o Brasil produz uma variedade de queijos que refletem nossa própria cultura, com algumas variedades típicas brasileiras. A fabricação é influenciada pelo conhecimento trazido pelos fabricantes franceses, italianos e, mais recentemente, pelos queijos introduzidos pelos hábitos alimentares americanos e britânicos.

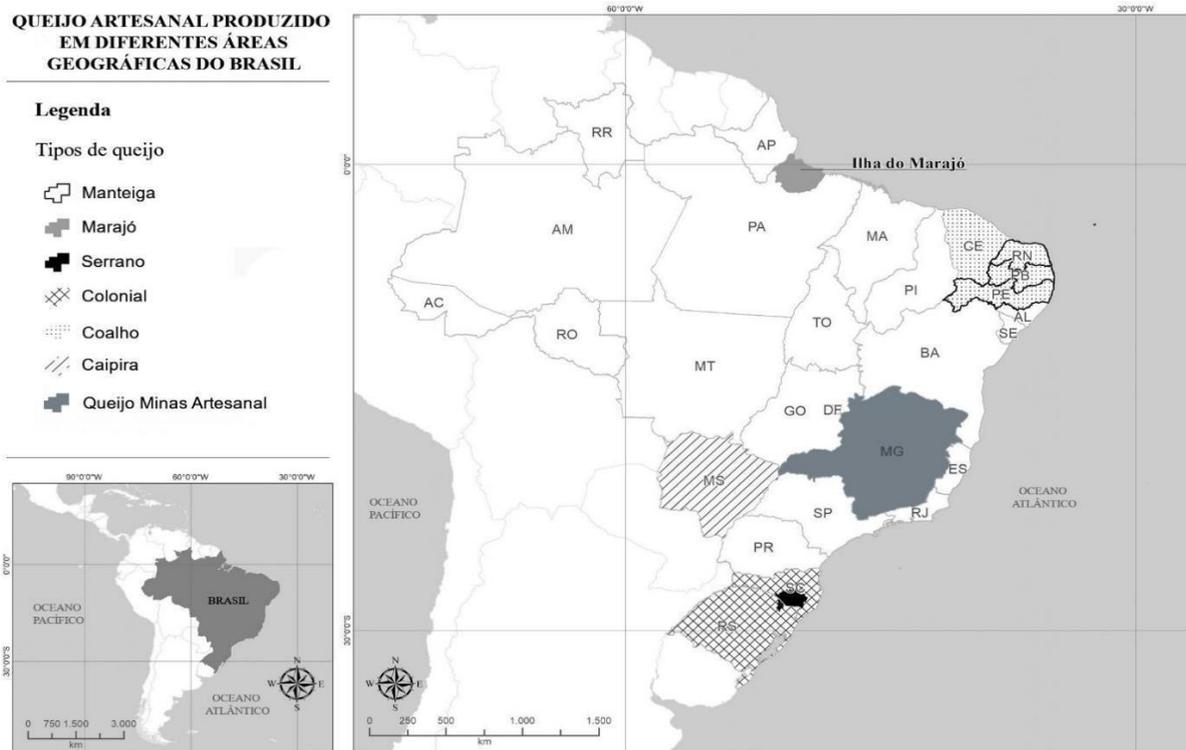
Considera-se queijo artesanal o queijo produzido com leite integral, fresco e cru com propriedades que mantenham a atividade de pecuária leiteira (BRASIL, 2001).

O Brasil ocupa o sexto lugar mundial no consumo de queijos, atrás dos Estados Unidos, Rússia, China, Alemanha e Itália. Em 2020, o consumo foi de 1,150 milhão de toneladas, um aumento de 12 % em relação a 1,025 milhão de toneladas em 2019. Em 2021, o consumo per capita no setor de queijos ficou próximo de 5,3 kg. A receita do setor de queijos brasileiro ficou

em torno de US\$ 9,929 bilhões em 2021, com um crescimento anual que deverá ser de 2,04% até 2025 (SEBRAE-SC, 2021).

No Brasil existe uma enorme variedade de queijos, produzidos por meio de diferentes métodos de processamento, manuseio, quantidade de gordura, proteínas e umidade. Os tipos de queijos artesanais e as suas principais áreas produtoras são: Queijo Minas Artesanal (QMA), nativo do Sudeste (especialmente no estado de Minas); Queijo de Marajó, produzido a partir do leite cru de búfala, produzido na ilha de Marajó, no Norte do país; Queijos Manteiga e Coalho, produzidos no Nordeste do país; Queijo Caipira, produzido na região central (Mato Grosso do Sul); Queijos Colônias e Serrano, produzidos na da Região Sul (KAMIMURA *et al.*, 2019). A Figura 02 indica as principais regiões produtoras de queijos artesanais.

Figura 2 - Mapa brasileiro das principais regiões produtoras de queijos artesanais



Fonte: Adaptado de Kamimura *et al.* (2019)

3.3 QUEIJO COALHO

O queijo Coalho tem sua origem mais aceita em meados do século XVII, quando viajantes nordestinos levavam leite armazenado em matulão, bolsas feitas a partir do estômago de animais e, devido à longa duração das jornadas, o líquido ia coagulando até formar uma pasta que, acabou-se por descobrir, era muito saborosa (PAQUEREAU *et al.*, 2016). A Figura 03 mostra o queijo Coalho como cohecemos hoje.

Figura 3 - Queijo Coalho Tipo B



Fonte: Portal do Queijo, 2017

Há mais de 450 anos na região Nordeste do Brasil, o queijo Coalho de leite cru é um produto lácteo típico nordestino e representa um patrimônio cultural e gastronômico da região. Abastecido de história e tradição, este está ligado à herança familiar, sendo passado de geração para geração. Com uma elevada produção, o destaque vai para os estados de Pernambuco, Ceará, Rio Grande do Norte e Paraíba. Este produto contribui fortemente para economia desses Estados.

O referido concentrado lácteo é caracterizado por apresentar uma massa branca, de formato retangular, consistência semidura, elástica; uma textura compacta e macia e umidade de média a alta; podendo a massa ser crua, semicozida ou cozida. Tem sabor levemente azedo, salgado ou picante, possui uma crosta fina e sem trincas, podendo ser consumido cru, grelhado, frito, comido puro ou como acompanhamento. Este queijo apresenta um teor de gordura

variando entre 35,0% e 60,0%, além de ser composto por proteínas, lipídios, sais minerais, principalmente cálcio e fósforo, e vitaminas, com destaque para o tipo A e complexo B (CARVALHO *et al.* 2010; SILVA *et al.* 2012; ; PAQUEREAU *et al.* 2016; MOURÃO, 2018; ARAÚJO, 2021).

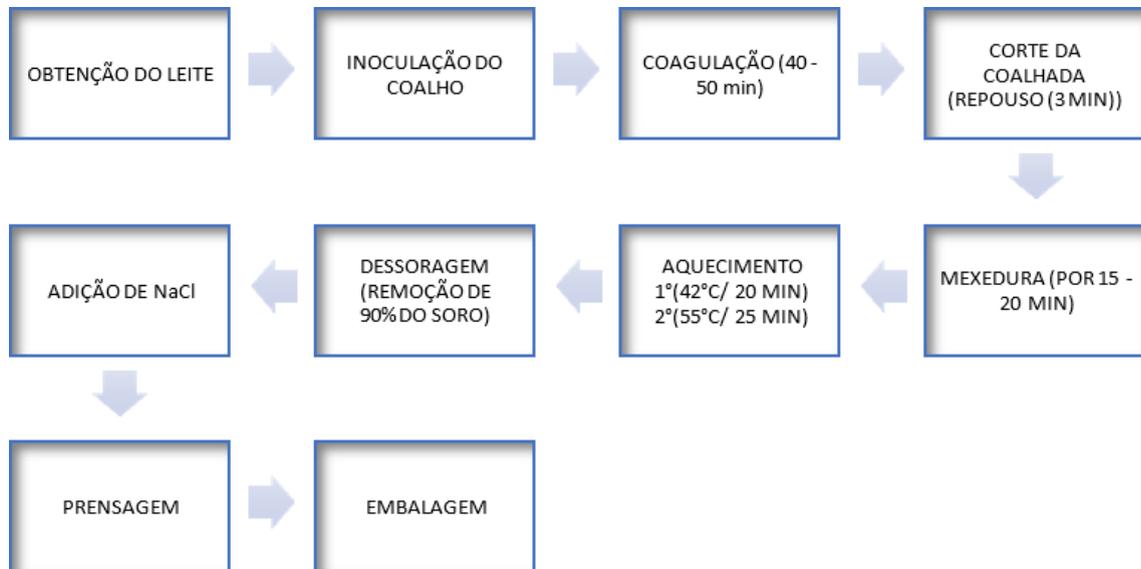
O queijo Coalho é classificado em Tipos A e B; o primeiro é produzido com leite pasteurizado, integral ou desnatado, enquanto o segundo, é produzido com o leite cru. Antes de 1999, ano no qual a Inspeção e Fiscalização Agropecuária de Pernambuco (ADAGRO) criou a legislação para estes dois tipos de queijo, havia apenas o Tipo B (GOMES, 2012).

3.4 QUEIJO COALHO TIPO B

O queijo Coalho tipo B possui um processamento de obtenção muito simples, diferente do processamento do queijo o tipo A. É produzido com leite cru, integral ou desnatado, massa crua e prensada. As etapas envolvidas em seu processo são: após a ordenha, o leite passa por um processo de filtração, sendo, posteriormente, adicionados fermento caseiro, sal e coalho (bactérias e/ou enzimas específicas). Após esta etapa, há o corte da massa e retirada do soro, após 45 a 50 minutos de inatividade.

Após este período, a massa é colocada em uma mesa, o sal é adicionado e o soro da salmoura é coletado e usado como o próximo fermento, constituindo assim levedura caseira. Este parâmetro é realizado pela ação de enzimas com o objetivo de fazer o leite coalhar, o que pode ser afetado pela temperatura, pH e agitação (ARAÚJO, 2021). A Figura 04 mostra o esquema do processo de fabricação do queijo Coalho Tipo B.

Figura 04 - Fluxograma geral do processo de produção do queijo Coalho Tipo B



Fonte: elaborado pela Autora (2022).

Pode-se perceber que, no fluxograma acima, o queijo Coalho Tipo B não passa pelo processo de aquecimento/pasteurização do leite, e nem pelo processo de maturação, o que pode levar a contaminação do produto final.

Alimentos de origem animal, como esses, são produtos altamente perecíveis e, por isso, o desenvolvimento de formas eficientes, econômicas e de baixo custo de preservação e conservação é de grande importância. Projetados para manterem a qualidade, durabilidade e segurança microbiológica do produto, novos métodos ou técnicas de preservação estão sendo desenvolvidos para esse tipo de alimento. Por apresentar um alto teor nutricional, o queijo Coalho é um alimento suscetível à contaminação e ao desenvolvimento de microrganismos, como *Escherichia coli*, Coliformes Totais ou Termotolerantes, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*, os mais frequentes (DAMACENO *et al.*, 2014; SOUSA *et al.*, 2014; BARROS *et al.*, 2019).

Os padrões microbiológicos de queijo Coalho estão estabelecidos pela Resolução nº12 de Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (RDC 12), de 02 de janeiro de 2001.

Diversos estudos apresentados posteriormente, avaliaram a qualidade microbiológica do queijo Coalho, os quais destacam que as amostras analisadas apresentam microrganismos patogênicos e contagem de microrganismos deterioradores acima dos valores limites estabelecidos na legislação Brasileira.

Oliveira *et al.* (2010) descrevem as características nutritivas do queijo, sobretudo os

queijos Coalho, ressaltando que este queijo é apresenta-se como uma ótima fonte de nutrientes para o crescimento de microrganismos, como as bactérias mesófilas aeróbicas, coliformes totais e, termotolerantes e a *E. coli*.

Outras publicações, com a de Almeida (2011), relatam a presença de leveduras isoladas de queijo Coalho, as quais provocam alterações sensoriais perceptíveis, principalmente pelo odor desagradável.

Bomfim (2020) avaliou a qualidade microbiológica e a resistência antimicrobiana a bactérias isoladas de queijos Coalho sendo possível determinar a qualidade higiênico-sanitária, a prevalência e a resistência antimicrobiana das amostras analisadas.

Ruthes *et al.* (2013) demonstram em seu trabalho a qualidade microbiológica de queijos de diversas regiões do Estado do Paraná. Altas contagens de microrganismos mesófilos aeróbios e a presença de enterobactérias evidenciaram condições higiênico-sanitárias que são inadequadas no processamento do produto, sendo necessária a de implementação de sistemas de garantia de segurança.

Abreu (2018) fez uma revisão de literatura sobre a produção de queijos artesanais. Segundo o levantamento realizado pelo autor, o processo de fabricação de queijos artesanais e curados podem conter altos níveis de agentes contaminantes, principalmente pelo fato de serem feitos de leite cru. Os contaminantes vêm de uma superfície sem higienização, manuseio incorreto e contaminações cruzadas.

Araújo *et al.* (2021) destacam que a qualidade microbiana é um fator importante para a comercialização do queijo, pois serve como um indicador higiênico que fornece as informações necessárias para mostrar até que ponto o alimento está relacionado aos padrões de consumo estabelecidos pela legislação, evitando assim a disseminação de doenças para diferentes tipos de alimentos.

A contaminação do queijo Coalho tipo B é ocasionada por diversos fatores, podendo já ocorrer durante o processo de obtenção do leite, uma vez que a ordenha necessita de procedimentos padrões para a coleta, onde o ambiente seja inócuo. Quando o queijo possui furos (buracos) de formato arredondado em sua estrutura, isto é um sinal característico de células de ar causadas pela fermentação microbiana de bactérias indesejáveis/contaminantes do leite, por exemplo, coliformes fecais (SILVA *et al.*, 2012).

A deterioração do queijo ocorre principalmente durante o armazenamento. O crescimento de fungos e bactérias torna-se comum, provocando, além de odores, cheiro indesejado, o que reduz a qualidade e a vida útil do queijo. Outro fator que diminui a vida útil do queijo é a perda de umidade, o que faz com que o queijo estrague (COSTA *et al.* 2018).

Nesse sentido, fica evidente a importância de estudos que visem encontrar alternativas seguras que atuem na promoção de melhorias da qualidade do queijo Coalho tipo B, tendo em vista a sua importância para a Região Nordeste do Brasil. Nessa linha, alguns estudos evidenciam que o soro do leite contém proteínas com ação antimicrobiana, porém, são poucas as pesquisas principalmente voltadas para sua aplicação no queijo.

3.5 SORO DE LEITE

O soro de leite é um subproduto lácteo da indústria de laticínios e é extraído da coagulação do leite durante o processo de fabricação do queijo (BRASIL, 2001). Moreira *et al.* (2010) e Araújo *et al.* (2021) enfatizam que, normalmente, a cada 09 ou 10 litros de leite é obtido 1 kg de queijo e 9 litros de soro no processo de produção desse concentrado lácteo. O soro, quando concentrado, aumenta a concentração de proteínas, o que poderá promover a potencialização de propriedades funcionais como espumante e emulsificante (PAGNO *et al.* 2009).

As proteínas de soro de leite possuem funções importantes, e podem ser usadas como um simples suplemento proteico ou como ingrediente em formulações de alimentos processados, devido ao seu alto poder gelificante. São polímeros importantes para o desenvolvimento de filmes biodegradáveis e têm um enorme potencial de aplicação, apresentando propriedades mecânicas e ópticas (FERNANDES *et al.*, 2015).

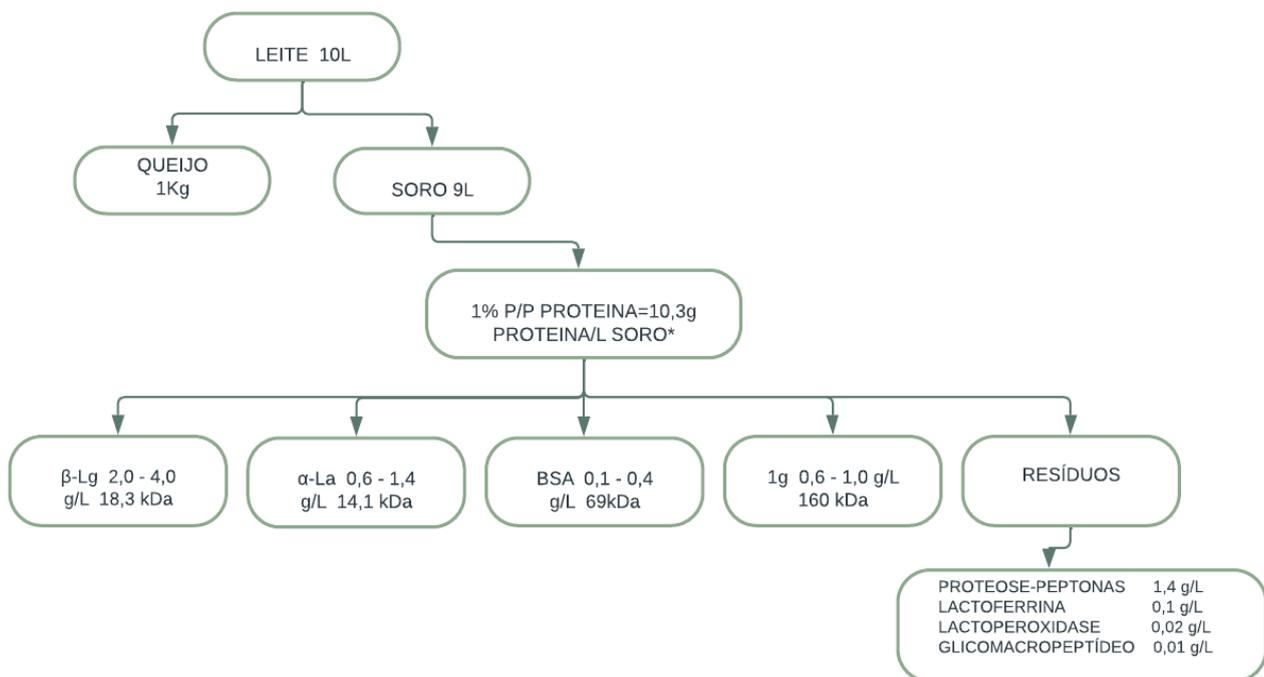
De acordo com Paboeuf (2011), existem dois tipos de soro: o Soro Doce (SD), que tem mais lactose, e o Soro Ácido, (SA), que possui uma maior concentração de sais minerais. O teor de lactose no SA é inferior ao (SD) pois, durante o processo de fermentação, ocorre a conversão de lactose em ácido lático durante a coagulação.

Por outro lado, o (SA) contém níveis mais elevados de cálcio e fósforo. O (SD), está associado à solubilização do complexo de fosfato de cálcio, encontrado em micelas de caseína, que é uma proteína encontrada no soro do leite. Já a ação da enzima renina não causa a solubilização e o pH diminui. As composições proteicas dos dois soros são praticamente iguais para uma boa parte das proteínas, sendo aproximadamente 80% de caseína.

As proteínas de soro de leite possuem uma estrutura esférica com uma distribuição uniforme de grupos não polares, polares e carregados. Essas proteínas incluem β -lactoglobulina (β -Lg \pm 50%), α -lactalbumina (α -La \pm 20%), imunoglobulina (\pm 10%), albumina sérica (SA \pm 10%), lactoferrina (<3%), lactoperoxidase e enzimas (cerca de 60), além de outros componentes proteicos, como glicomacropéptidos ou caseína macropéptidos (DINIKA *et al.* 2020).

A Figura 05 apresenta as concentrações médias das proteínas de soro obtidas a partir de do volume de 10 litros de leite. Observa-se que a proteína mais abundante no soro é a β -Lg, seguida pela α -La.

Figura 5 - Fluxograma das Concentrações médias de Proteínas de Soro de Leite



Fonte: Adaptado de Tavares (2011)

Essas proteínas têm um perfil de aminoácidos diferentes da caseína (mais grupos amino contendo enxofre), e são facilmente desnaturadas pelo calor e desfosforiladas (TAVARES, 2011).

Uma das características relevante das proteínas, mais precisamente as β -lg e α -lc, é a capacidade de interação proteína-proteína, permitindo assim o desenvolvimento de matrizes de proteínas funcionais personalizadas com novas propriedades reológicas e emulsificantes. Além disso, a fração de α -lc apresenta atividade antimicrobiana contra bactérias patogênicas, como a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*.

Estudos recentes *in vitro* mostraram que a ingestão de leite contendo peptídeos bioativos pode contribuir para regulação da pressão arterial, inibir ou eliminar microrganismos, além de apresentar outras propriedades como ação antioxidante e anti-inflamatória, antiobesidade, anticancerígeno, imunomodulador, anti-hipertensivo e anti-úlcero-gênico. Assim, os peptídeos bioativos são fragmentos de proteínas do soro do leite, devido à sequência de aminoácidos, massa molar, entre outros (SOUZA *et al.*, 2020).

O alto valor nutricional do soro de leite e seus benefícios são paradoxais, uma vez que muitas vezes esse subproduto é desperdiçado e sua destinação é o descarte inadequado na natureza, onde pode causar danos à fauna e à flora devido à abundância de matéria orgânica, uma vez que este possui diversas atividades biológicas (GONTHIER, 2013; ALVES *et al.*, 2014; DEBOWSKI, 2014).

Silva (2011) afirma em sua publicação que o soro de leite é aproximadamente cem vezes mais contaminado do que os esgotos domésticos. Também considera incorreto o descarte direto e indireto do soro de leite em cursos d'água, acrescentando que não deve ser misturado a outros efluentes de produção. Uma fábrica com uma produção média de 300.000 L de soro por dia equivale a uma poluição de uma cidade com 150 mil habitantes.

Na Europa, o soro de leite tem alto valor agregado e é utilizado principalmente na indústria alimentícia. Os alimentos de alto desempenho, também utilizados na indústria farmacêutica, são considerados básicos na indústria de laticínios. No Brasil, ainda são considerados resíduos altamente poluentes.

A Tabela 1 descreve as funções biológicas de cada fração de proteína encontrada no resíduo do soro de leite.

Tabela 1-Atividades biológicas das frações proteicas do soro de leite

Fração Proteica	Massa Molar	Atividade Biológica	Referência
β -lactoglobulina (β -LG)	18-36	Anti-hipertensiva, antioxidante e antimicrobiana	(HERNÁNDEZ <i>et al.</i> 2008); (COSTA <i>et al.</i> 2021); (MINJ <i>et al.</i> 2020)
α -lactoalbumina(α -LA)	14	Antimicrobiana e anticancerígena	(SOUZA <i>et al.</i> 2019); (LORENZETTI, 2018); (STEFFENS <i>et al.</i> 2020)
Albumina	66	Precursora da síntese glutatona, anticancerígena, vincular ácido graxos e antimutagênica	(BALDASSO, 2008); (MINJ <i>et al.</i> 2020)
Imunoglobulinas (IgG, IgA, IgM e IgE)	150-1.000	Antioxidante, antifúngico e estimulam a produção de linfócitos	(SOUZA, 2017); (ROCHA <i>et al.</i> 2017); (LORENZETTI, 2018) (MINJ <i>et al.</i> 2020); (LUPKI <i>et al.</i> 2019)
Lactoferrina	78-80	Imunoestimuladora, ação antiviral, anti-inflamatória, anticancerígena, antioxidante, antimicrobiana e auxilia na absorção de ferro	(VERDI, 2017); (KRISSEN, 2007); (ELZOGHBY <i>et al.</i> 2020) (FARNAUD <i>et al.</i> 2003) (REDWAN <i>et al.</i> 2014)
Lactoperoxidase	78	Antimicrobiana, antioxidante e antiviral	(XIONG <i>et al.</i> 2020); (MINJ <i>et al.</i> 2020); (ZHAO <i>et al.</i> 2020); (COSTA <i>et al.</i> , 2021)

Fonte: Brazilian Journal of Development (2022)

A discussão científica sobre o soro de leite no meio ambiente vem acontecendo há muito tempo. Illanes (2011) chama a atenção em seu trabalho para melhorias no soro de leite e identifica preocupações ambientais com base em pesquisas de vários autores, que datam de publicações em meados dos anos 1970. O índice de contaminação varia de acordo com o seu tipo (soro doce ou azedo), ingredientes utilizados para a coagulação, forma como o leite é retirado, armazenado, processado e a condição do animal.

Segundo Alves *et al.* (2014), a maior parte do soro de leite produzido no Brasil vem de pequenas e médias queijarias, onde o investimento em tecnologia de processamento é difícil.

O ideal seria que uma unidade central de processamento fosse instalada no local para que pudesse receber o soro produzido pela queijaria.

Em relação ao tratamento do soro de leite em água, Gonthier (2013) demonstrou a hipótese de que o soro ácido tem efeito negativo sobre a vida microbiana e sua qualidade. A demanda bioquímica de oxigênio (DBO) do soro de leite é alta, cerca de 30.000 a 60.000 mg L⁻¹, sendo mais de 10 vezes maior que a do esgoto doméstico (PAULA *et al.*, 2013).

Neste aspecto, se o soro for descartado diretamente em rios, córregos ou lagos, pode afetar a vida aquática e causar graves impactos ambientais. Assim, é importante destacar a necessidade de evitar o descarte do mesmo no meio ambiente e como visto anteriormente, o referido subproduto contém proteínas que podem ser aplicadas em estudos microbiológicos, entre outras. O método para separação dos seus constituintes é a ultrafiltração (MAGALHÃES *et al.*, 2011; SIQUEIRA *et al.*, 2020).

3.6 ULTRAFILTRAÇÃO

A indústria de laticínios foi uma das primeiras a reconhecer o uso eficaz de processos de membrana, como ultrafiltração, nanofiltração, microfiltração e osmose reversa. A ultrafiltração (UF) é um tipo de filtração por membrana na qual forças como gradientes de pressão ou concentração causam a separação através de uma membrana semipermeável. Os sólidos suspensos e os solutos de alta massa molar são retidos e referidos como retentado ou concentrado, enquanto a água e os solutos de baixa massa molar passam através da membrana no permeado (CORREDIG *et al.*, 2018). A Figura 06 mostra o soro de leite em pó, após a passagem por vários processo de separação, inclusive o de Spray Dryer.

Figura 6 - Soro de leite em pó.



Fonte: Dossiê Proteínas do Soro de Leite, 2017.

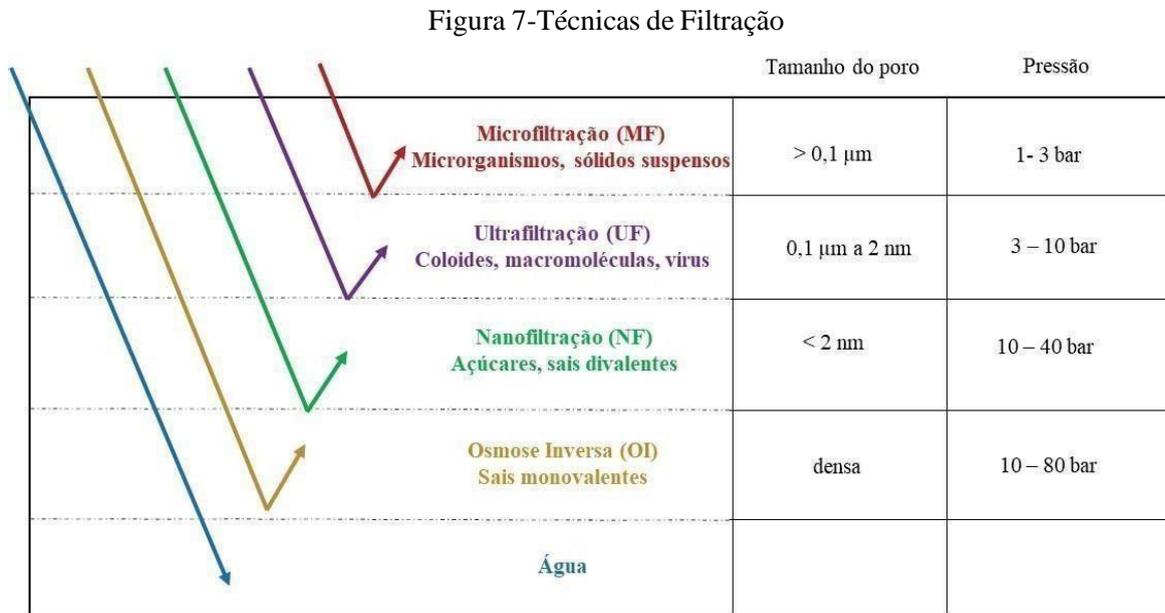
A filtração por membrana, especialmente a UF, pode ser usada com sucesso para separação, concentração e purificação de componentes do leite (CHEN *et al.*, 2019). A UF é um procedimento de separação utilizando uma membrana microporosa, que permite devido à retenção seletiva, a penetração de proteínas dentre vários componentes no soro e outros materiais coloidais, compostos de nitrogênio mais simples, lactose, sais minerais e outros compostos de massa molar inferior (BARUKCIC *et al.*, 2014).

A UF tem sido utilizada na indústria de laticínios para recuperação e fracionamento de ingredientes do leite. Essa opera através de gradientes de pressão, onde as membranas UF têm porosidade entre 0,1 e 10% e tamanho de poro entre 1 e 100 nm. Em comparação com o processo tradicional, esta tecnologia tem a vantagem de economia de energia, pois não necessita altas temperaturas (MOREIRA *et al.*, 2017).

De acordo com Liu *et al.* (2014) e Crowley *et al.* (2015), baixas temperaturas de filtração podem dotar de benefícios adicionais, reduzindo a desnaturação da proteína de soro de leite e incrustação de membrana causada pelo fosfato de cálcio, além de reduzir o crescimento de bactérias termofílicas.

No entanto, temperaturas mais baixas reduzem a difusividade e, portanto, o coeficiente de transferência de massa, resultando em taxas de fluxo inferiores à UF quando comparado a temperaturas mais altas, independentemente do tamanho dos poros da membrana. Em comparação com os métodos clássicos de separação, as vantagens dessa técnica são: respeito ao meio ambiente, menor consumo de energia, maior vazão e qualidade do produto, menor custo, conclusão do processo em baixa temperatura para manter componentes sensíveis ao calor. A

Figura 07 apresenta várias técnicas de filtração (KALLA *et al.*, 2017).



Fonte: Adaptado de Tamime (2013), Apud Juliane Mossmann (2018).

Os problemas mais comumente associados aos processos de membrana estão relacionados a fenômenos de incrustação ou polarização de concentração, que são responsáveis pela redução do fluxo de permeado e mudanças na seletividade do processo. A literatura confirma que a proteína e os minerais do soro do leite, especialmente cálcio e fosfato, são os principais contribuintes para a formação de crostas na membrana de UF (MACEDO *et al.*, 2015).

Esses fenômenos devem ser minimizados, pois reduzem o fluxo de permeado e a seletividade da membrana, bem como aumentam o custo de implementação de ciclos de limpeza necessários para restaurar a produtividade (CHEN *et al.*, 2019). A escolha da técnica a ser utilizada é definida através da qualidade da proteína do soro do leite. O uso de processos de concentração de separação por membrana de UF tem-se tornado cada vez mais comum nas indústrias que processam esse tipo de alimento.

Nesse sentido, as estratégias acessíveis permitem que haja uma redução da poluição ambiental e, sobretudo, propicia formas de valorização econômica de subprodutos por sua incorporação em elaborações alimentares, podendo ser associada a fabricação de queijo.

Sendo assim, o produto resultante ofertará um concentrado lácteo com qualidades organolépticas pelo menos equivalentes ao queijo preparado de acordo com métodos convencionais por meio de um concentrado de filme e oferece garantias ideais do ponto de vista da saúde e da higiene.

3.7 ATIVIDADE ANTIMICROBRIANA

O queijo, por sua rica composição nutricional, torna-se bastante vulnerável a propagação microbiana, apresentando contaminações por microrganismos patogênicos, que podem ser potenciais causadores de doenças (RUTHES; GOULARTE, 2013; ARAÚJO *et al.* 2021). Os queijos frescos artesanais são comumente associados à contaminação, visto que, na maioria das vezes, são fabricados utilizando leite cru e não passam por processo de maturação, ou seja, alterações físicas, bioquímicas e microbiológicas que mudam a composição química do queijo (TOZZO *et al.*, 2015).

No geral, dentre os microrganismos identificados no queijo de Coalho, muitas vezes por falta de implementação de Boas Práticas de Fabricação (BPF), tem-se coliformes totais e termotolerantes, *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes* (BONFIM, 2020).

Os coliformes totais são bactérias gram-negativas em forma de bastonete, não esporulantes, aeróbicas ou anaeróbicas facultativas, e capazes de fermentar a lactose e produzir gás. As bactérias termotolerantes têm o mesmo conceito dos coliformes totais, mas são apenas parte deste grupo que fermenta a lactose.

Pertencente à família Enterobacteriaceae, a *Escherichia coli* (coliforme resistente ao calor) também é uma bactéria gram-negativa. Esta espécie é afetada pelo desenvolvimento de doenças intestinais (como diarreia, vômito, febre e dores abdominais). É uma bactéria que pode ser encontrada no intestino dos animais e humanos (SILVA, 2018).

Alguns locais apresentam temperaturas elevadas por um determinado período de tempo, proporcionando um bom ambiente para as intoxicações alimentares causadas por *Staphylococcus aureus*, principalmente quando esses produtos são manuseados por veículos de transmissão humana, pois muitas vezes também habita a mucosa nasal e oral, como a pele.

O leite e seus derivados são de longe os alimentos mais indicados a portadores de doença estafilocócica no mundo. A doença estafilocócica não é de notificação obrigatória e, portanto, difícil de medir com precisão sua verdadeira incidência, mas 100% dos surtos são advindos da intoxicação alimentar. Em diversos alimentos como leite pasteurizado, queijo artesanal e industrializado, iogurte caseiro, leite em pó, chocolate, sorvete e outros derivados laticínios, amostras de *Staphylococcus aureus* enterotoxigênico são encontrados (SOUZA, 2013).

A contaminação por *Staphylococcus aureus* é considerada a contaminação microbiana mais preocupante em queijo Coalho Tipo B, e pode ocorrer durante o processo de fabricação

(em qualquer etapa), na maioria das vezes sem respeitar as Boas Práticas de Fabricação, ou pode ser causada por contaminação de matérias-primas, meio ambiente, (animais contaminados) e manuseio incorreto do leite (CARDOSO, 2014). Com o crescimento significativo da população mundial, faz-se necessário estabelecer uma produção de alimentos mais eficientes afim de atender à crescente demanda, sobre tudo os produtos lácteos como os queijos.

As questões relacionadas à qualidade dos alimentos e preocupações com a saúde, as Doenças transmitidas por alimentos (DTA) são um grande problema à saúde pública em todo o mundo. Em termos de saúde pública, os alimentos destinados ao consumo humano devem possuir características que atendem às normas legais relacionadas à sua qualidade, padrões nutricionais e microbiológicos (SANTANA, 2010). Neste sentido, é importante a adoção de métodos que controlem a carga microbiana patogênica e aperfeiçoe a qualidade sensorial e físico-química do queijo Coalho Tipo B.

Os compostos presentes no soro de leite e derivados, como alfa-lactalbumina, beta-lactoglobulina, imunoglobulina, albumina e lactoferrina possuem atividade antibacteriana ou peptídeos bioativos com tal atividade. A principal forma de ação antibacteriana dessas substâncias é o ataque às membranas plasmáticas, apresentando múltiplos grupos funcionais carregados negativamente, como lipopolissacarídeo, no caso de bactérias Gram-negativas ou ácido teicóico, no caso de bactérias Gram-positivas. Esse ataque pode inibir esses grupos funcionais e causar danos a membrana plasmática, facilitando o grau de inserção da porção apolar do peptídeo bioativo pela bicamada lipídica, desencadeando o extravasamento do conteúdo citoplasmático e morte celular (MOHANTY *et al.* 2015).

Diante de um futuro promissor, pesquisas vêm sendo desenvolvidas destacando o seu potencial, a destacar as proteínas e vários dos aminoácidos essenciais. A fim de mitigar o impacto ambiental deste subproduto rico em proteínas e peptídeos, aplicações em forma farmacêutica, forma alimentar como bebidas funcionais, pães e iogurtes nutritivos, filmes biodegradáveis com atividade antioxidante, e outros com propriedades anticancerígenas estão amplamente em desenvolvimento (FAROOQ *et al.*, 2019).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 ETAPAS DO ESTUDO

4.1.1 Processamento do soro de leite

O permeado de soro de leite em pó foi fornecido pela indústria Sooro Renner Nutrição S/A, localizada no município de Marechal Cândido Rondon – PR. Foram enviados dois quilos de soro em embalagens de propileno com saco de polietileno na parte interna, pesando um quilo cada um.

O permeado do soro foi submetido às etapas de filtração por membranas de ultrafiltração (UF) e estocados em cilos de aço inoxidável para posterior etapa de evaporação; nesta segunda etapa, o permeado foi concentrado em evaporadores à vácuo até atingir 60% de sólidos; em seguida o permeado passou pela terceira etapa de concentração até atingir 78% de sólidos. A quarta etapa foi a cristalização triplo C, onde a lactose é cristalizada.

O processo de secagem foi feita por bombas de alta pressão, onde foi realizada a atomização do produto por meio de bicos de pulverização, que lançou o produto para a quinta etapa, equivalente ao *spray dryer* transformando o produto em uma nuvem de pequenas gotículas que entram em contato com uma corrente de ar aquecida, a cerca de 120°C, evaporando instantaneamente a água e transformando os sólidos em pó; em seguida, ocorreu um resfriamento do pó para que não ocorra alterações indesejadas nas características do produto desejado, assim estando dentro dos padrões da legislação ao longo da sua vida útil.

A Figura 08, apresenta o fluxograma detalhando as etapas do processamento do permeado do soro de uma forma mais sucinta.

Figura 8 - Fluxograma do Processamento do Permeado de Soro de Leite



Fonte: elaborado pela Autora (2023).

4.1.2 Preparo da amostra

O queijo Coalho foi adquirido no município de Venturosa/PE, onde é fabricado e comercializado. O transporte das amostras foi feito em caixas isotérmicas contendo gelo e na chegada ao Laboratório de Análises Químicas, da Universidade Católica de Pernambuco (UNICAP), foram transferidas para um refrigerador até a realização das análises, garantindo uma temperatura inferior a 1°C, conforme Boas Práticas de Fabricação.

Aproximadamente 2 kg de queijo foram divididos em 4 amostras, cada uma pesando cerca de 300g, separadas e identificadas por: (A1-Controle); (A2-1g); (A3-5g) e (A4-10g) do concentrado proteico, sendo embaladas e armazenadas em geladeira a 1°C, imersos em soro de leite em pó, que foi reconstituído por meio de dissolução manual em água Milli-Q plus na temperatura ambiente.

Cada solução de análise foi preparada com adição das respectivas massas do concentrado proteico do soro em béqueres, contendo 250 mL de água, e, então, agitadas com um bastão de vidro. Após obter uma boa dissolução, a solução foi transferida para um balão volumétrico de 250mL, tendo seu volume aferido. Cada solução foi agitada manualmente, sendo conservada em geladeira.

As análises foram realizadas no período após 1, 6, 11 e 16 dias da imersão da amostra

do queijo no soro. As amostras foram submetidas às análises físico-químicas: Acidez, pH e Umidade realizadas segundo as especificações do Manual de Métodos de Bromatologia (2021) e Microbiológicas. Foram realizadas as análises microbiológicas em triplicata para Coliformes termotolerantes, Coliformes totais/g, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*/g.

4.1.3 Avaliação Físico-Química

4.1.3.1 pH

O pH foi determinado utilizando-se pHmetro previamente calibrado, introduzindo-se o eletrodo diretamente em 5 g da amostra homogênea com 50 mL de água destilada, em triplicata.

4.1.3.2 Umidade

O método se baseia na diferença de peso do alimento após o aquecimento. Assim, pesa-se o cadinho previamente seco, em seguida adiciona 5 g da amostra de queijo. O cadinho e amostra foram postos em estufa a 105°C, até que toda a água fosse evaporada, ou seja, peso constante.

Retirou-se o conjunto e colocou-se no dessecador para esfriar, em seguida foi realizada a pesagem. Para obtenção do peso da amostra seca foi subtraído o peso do cadinho vazio. Calculou-se o percentual de Umidade, conforme a Equação 1.

$$\text{Umidade, \% (m/m)} = ((P_i - P_f) / P_i) \times 100 \quad (1)$$

Sendo:

P_i = Peso inicial da amostra (amostra úmida) em gramas (descontado o peso da cápsula);

P_f = Peso final da amostra (amostra seca) em gramas (descontado o peso da cápsula).

4.1.3.3 Acidez Titulável

A acidez titulável foi determinada através de titulação da amostra com hidróxido de sódio (NaOH) em presença do indicador fenolftaleína e os resultados foram expressos em porcentagem de ácido láctico, realizados em triplicata, utilizando 5 g da amostra homogeneizada com 50 mL de água destilada.

Calculou-se a acidez pela identificação do teor de ácido láctico, utilizando a seguinte Equação 2.

$$\% \text{ Acidez Titulável} = \frac{V \cdot f \cdot 0,9}{m} \quad (2)$$

Sendo:

V é o volume de NaOH gasto na titulação;

f, o fator da solução de NaOH;

0,9 é o fator do ácido láctico e m a massa (mg) de queijo.

4.1.3.4 Caracterização Microbiológica

As análises microbiológicas foram realizadas em quadruplicata, sendo analisados os seguintes microrganismos: Coliformes totais, Coliformes termotolerantes e *Staphylococcus aureus*, com verificação da Unidade Formadora de Colônias (UFC/g) de acordo com a Instrução Normativa nº80 de 2019.

Para a análise de coliformes totais e termotolerantes, utilizou-se a técnica de tubos múltiplos com diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} mL em caldo lactosado (CL), para pesquisa presuntiva de coliformes totais e caldo verde brilhante (VB) como método confirmativo. Para identificar a contaminação por bactérias termotolerantes usou-se como meio de cultura para identificação de *E. coli* (EC), sendo considerados positivos os que apresentaram formação de gás no interior dos tubos de Durhan.

Na contagem dos *Staphylococcus aureus*, foram pesados $25 \pm 0,2$ g da amostra e adicionado 225 mL de solução salina peptonada 0,1% (H₂O_p), homogeneizados por 60 segundos em homogeneizador modelo *Stomacher*. As amostras diluídas foram inoculadas na superfície de placas de Petri contendo Ágar Baird-Parker. Após o término das inoculações, as placas foram incubadas em posição invertida, à temperatura de 35°C por 48 horas. Os resultados foram expressos em (UFC/g).

Para a identificação de *Escherichia coli*, alíquotas de 25 g de cada amostra foram transferidas para Erlenmeyers contendo 225 mL de água peptonada, e posteriormente, incubadas por 24 horas a 37 °C (10^{-1}). Após o período de incubação, as amostras foram diluídas (10^{-2} e 10^{-3}), e inoculados 1 mL em Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), incubados a $37 \pm 0,5$ °C por 24 ± 2 horas.

Os tubos com a formação de gás foram considerados positivos. Os tubos negativos foram

reincubados por mais 24 ± 2 horas, para uma nova observação. Todos os experimentos foram realizados em quadruplicata. Uma alçada dos tubos que apresentaram resultados positivos frente ao teste LST, foi transferida para tubos contendo Caldo *E. coli* (EC), os quais foram incubados por 24 ± 2 horas a $45,5\pm 0,2$ °C em banho-maria, sendo analisado, posteriormente, a turvação com produção de gás.

As amostras que indicaram resultados positivos nos tubos contendo Caldo (EC), foram semeadas em placas de Ágar para *E. coli*, estas placas foram incubadas a $37\pm 0,5$ °C por 24 ± 2 horas, em seguida as amostras positivas, identificadas pelo crescimento de colônias roxas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os parâmetros físico-químicos do concentrado proteico doado pela Sooro possui as seguintes características apresentados na Tabela 2.

Tabela 2-Parâmetros Físico-Químicos do Soro de Leite em Pó – Sooro.

Parâmetros Físico-Químicos	
Acidez (% ácido láctico)	Máx. 2,00 ¹
pH (Sol. 10%)	5,8 - 6,7*
Umidade	Máx. 3,00 ²

¹ ISO 11869:2012 (IDF 150); AOAC 947.05

* MAPA, 2019

² Gravimetria por balança halogenada - Isentará, Prager (2003)

As informações sobre os parâmetros microbiológicos do soro de leite em pó disponibilizado pela Sooro, podem ser visualizados na Tabela 3.

Tabela 3-Parâmetros Microbiológicos do Soro de Leite em Pó – Sooro

Parâmetros Microbiológicos	
Coliformes Totais (NMP/g)	Máx. 1x10 ² UFC/g ¹
Coliformes Termotolerantes (NMP/g)	Máx. 10 ²
<i>Escherichia coli</i> (1g)	Ausente ³
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)	Máx. 10 UFC/g*

¹ Técnica do NMP - ISO 4831 (2012)

² Técnica do NMP - ISO 7251 (2005)

³ Técnica do NMP (Detecção) ISO 7251 (2005)

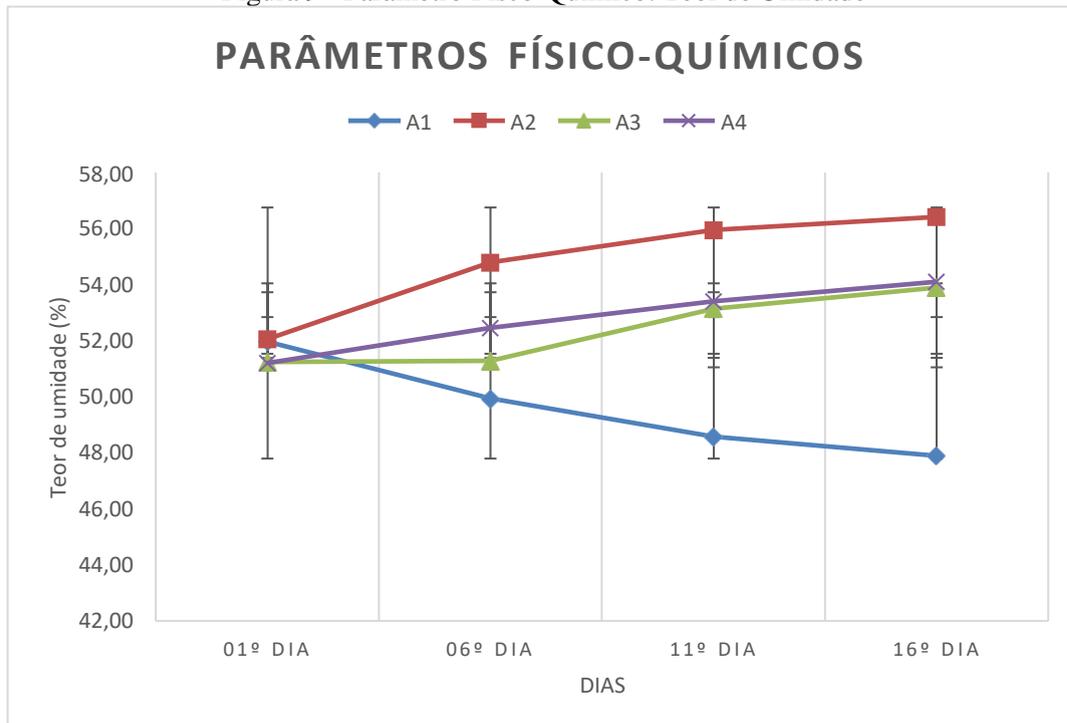
* Plaqueamento - ISO 6888-1 (2019)

5.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS

5.1.1 Umidade

Em se tratando do parâmetro umidade pode-se observar no gráfico da Figura 9 que para a amostra controle houve uma redução ao longo do período de avaliação. Enquanto que as amostras contendo as diferentes concentrações do concentrado proteico, de um modo geral, houve aumento no teor de umidade, mesmo sendo mantidas nas mesmas condições.

Figura 9 - Parâmetro Físico-Químico: Teor de Umidade



Fonte: elaborado pela Autora (2023)

Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos (Portaria nº 146 de 07 de março de 1996, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) a classificação dos queijos é observada pela quantidade de umidade, em porcentagem, assim: queijos de baixa umidade (queijo de massa dura, até 35,9%), queijos de média umidade (queijo de massa semidura, 36,0 - 45,9%), queijos de alta umidade (queijo de massa branda ou "macios", 46,0 - 54,9%) e queijos de muita alta umidade (queijo de massa branda ou "mole", superior a 55,0%).

Vidal (2011) obteve valores entre 32,97 e 39,77% de umidade, para queijos de Coalho artesanais, produzidos e comercializados em Rio Grande do Norte, assim indicando que obteve valores abaixo dos encontrados no presente estudo.

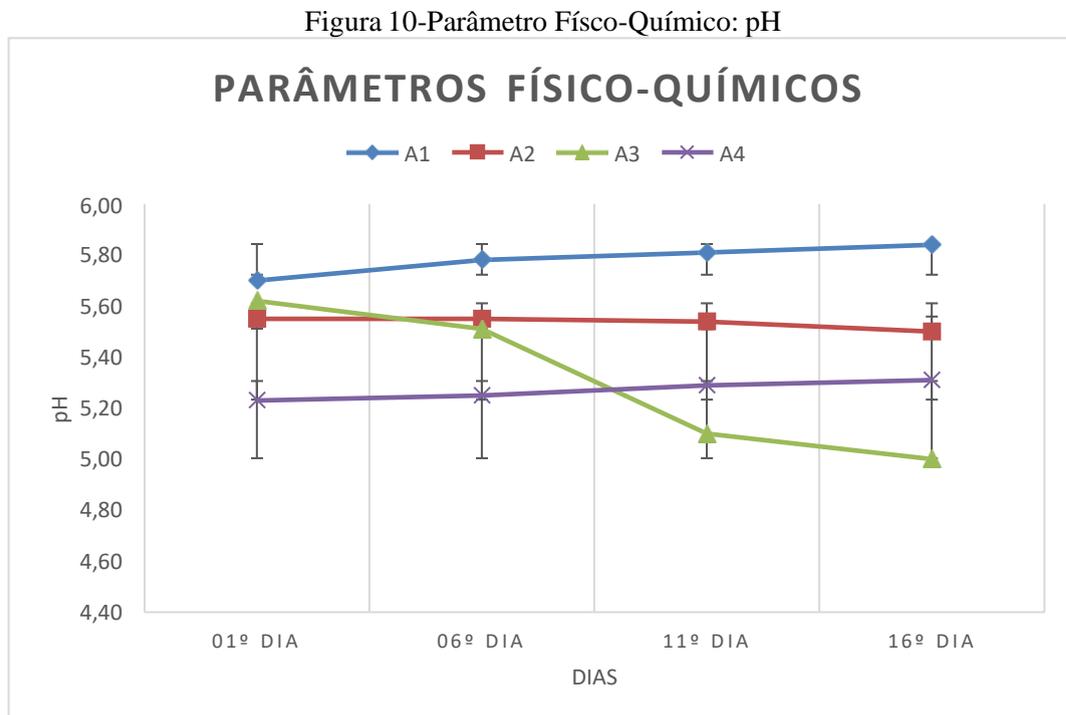
Sousa *et al.* (2014) avaliou o perfil das características físico-químicas e microbiológicas dos queijos de Coalho comercializados em seis estados do nordeste brasileiro, indicando valores de umidade que variaram de 14,38 a 24,08%. Estes valores estão fora do limite estabelecido pela legislação, podendo ser atribuídos à formação e ao manuseio da coalhada, à falta de padronização na elaboração do queijo, afetando sua habilidade de reter a umidade e influenciando nessa variação e nas ações metabólicas de microrganismos ao longo da maturação, com suas possíveis consequências no pH, na textura, no sabor e no aroma.

Já os resultados obtidos por Silva *et al.* (2010), para queijos Coalho fabricados com

leite cru e com leite pasteurizado no sertão de Alagoas, indicaram teores de umidade variando de 45,5 a 51,5%, resultados estes que caracterizaram as amostras como queijo de média a alta umidade.

5.1.2 pH

O pH é considerado uma determinação importante para caracterização dos queijos por conta da sua influência na textura, atividade microbiana e maturação, pois ocorrem reações químicas que são catalisadas por enzimas advindas do Coalho e da microbiota. Assim, de acordo com a Figura 10, analisando o comportamento do pH ao longo dos dias, obteve-se os seguintes resultados.



Fonte: elaborado pela Autora (2023)

Ao observar o gráfico, pode-se perceber uma constante nas amostras A1, A2 e A4, indicando pequenas alterações no decorrer dos dezesseis dias; Já a amostra A3 teve uma alteração mais significativa, um decaimento de 5,60 para 5,00 no décimo sexto dia.

De acordo com Carvalho *et al.* (2013) e Macedo *et al.* (2015), o soro de leite ácido possui um pH menor que 5,1. Enquanto, que o soro de leite doce apresenta pH mais elevado, acima de 5,6.

Os valores de soro de leite utilizados nesta pesquisa, dispostos na Tabela 2,

apresentaram pH médio variando 5,8-6,7, indicando que de acordo com a Figura 10 estarem na faixa apresentada; Os valores obtidos nesta pesquisa estão entre 5,53 a 5,41 podendo desta forma ser classificado como soro doce.

Quando há uma redução do pH, a tendência é a acidificação do meio, e possivelmente pode ocorrer uma redução na carga microbiológica.

Os fatores que podem promover a variação nos resultados de pH estão associados às condições de produção e comercialização dos queijos, por exemplo, uma vez que a variação de temperatura afeta o pH do produto, podendo haver alterações de composição e das características físicas e sensoriais.

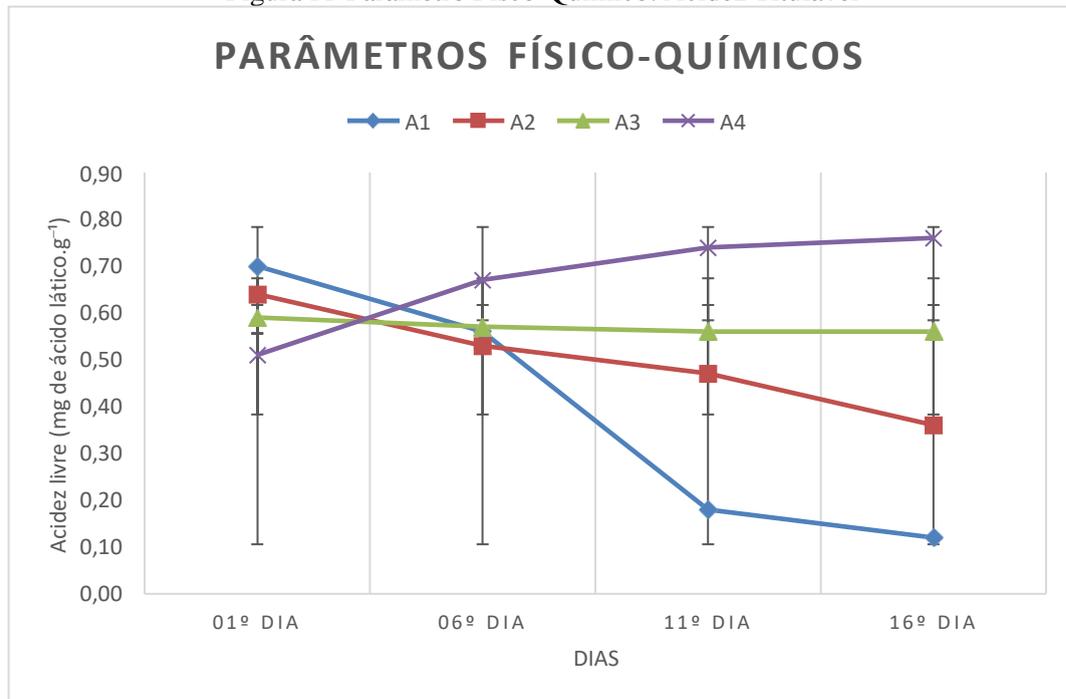
Neste sentido, o pH modifica as características como: textura, atividade microbiana e condição de maturação. Além disso, o pH elevado pode favorecer o crescimento microbiano, e, quando muito baixo, pode favorecer ou facilitar a deterioração por microrganismos (SHABBIR et al., 2019).

Em seu estudo Freitas *et al.* (2013) enfatizam que encontraram valores de pH variando entre 4,8 a 5,6, na avaliação da qualidade de queijo Coalho comercializados no estado da Paraíba, o que representa uma diferença nos dados encontrados nas amostras avaliadas no presente estudo.

5.1.3 Acidez Titulável (mg de ácido láctico.g⁻¹)

Para o parâmetro acidez titulável (mg de ácido láctico.g⁻¹), resultados apresentados na Figura 11, as amostras apresentaram grande variação, entre 0,61 a 0,45 mg de ácido láctico.

Figura 11-Parâmetro Físico-Químico: Acidez Titulável



Fonte: elaborado pela Autora (2023)

Observa-se um decaimento significativo desse parâmetro na amostra A1 (controle) a partir do sexto dia, já na amostra A4 (10g/CPS), houve um aumento de 0,50 a 0,80, indicando que o concentrado proteico interfere na acidez do queijo.

O resultado de acidez titulável é inverso ao pH, pois quando os valores de acidez aumentam, há uma tendência de acidificação do meio e, com isso, uma redução da carga microbológica.

Como é um parâmetro muito importante para manter a qualidade do produto, embora não indicando na legislação valores referênciais para as análises de acidez e pH do queijo de Coalho, os valores encontrados nesta pesquisa indicam semelhanças a alguns trabalhos citados da literatura.

A acidez titulável é proveniente da quebra da lactose em ácido láctico por bactérias específicas, tendo relação direta com o pH, desta forma, quando os valores estão muito elevados de acidez, se faz uma associação à baixos pH, que podem facilitar a contaminação microbiana e na expulsão de soro da massa durante a fabricação e na fase inicial da cura.

As substâncias que são responsáveis pela acidez aparente do leite são: os fosfatos, citratos, caseína, albumina e gás carbônico dissolvidos. O termo acidez aparente não deve ser confundido com a acidez que se forma no leite pelo crescimento de bactérias. Amostras de leite com acidez titulável mais elevada podem apresentar, em média, teores de proteína e minerais maiores do que aquelas com acidez titulável menor (EMBRAPA, 2021).

Sousa *et al.* (2014), avaliaram os aspectos físico-químicos do queijo Coalho vendidos nos estados do Nordeste e encontraram valores de 0,12 a 1,01%, valores estes destoantes em comparação com a maioria das amostras analisadas no presente estudo.

Mamede *et al.* (2010), avaliou amostras de queijo Coalho comercializados em Salvador (BA), e encontrou valores de acidez entre 0,53 a 0,91 %; o autor salienta que valores mais elevados de acidez, dá-se pela possível acidificação por bactérias fermentativas.

5.2 CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS

Para a avaliação da qualidade microbiológica dos queijos de Coalho Tipo B, analisados nesta pesquisa, os resultados foram aferidos com os padrões microbiológicos determinados para queijos de alta umidade pela RDC nº 12, de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA BRASIL, 2001), que estabelece indicadores de qualidade, considerando os coliformes a 45°C e os estafilococos produtores de coagulase.

Os resultados obtidos estão dispostos na Tabela 4, indicando à qualidade microbiológica do queijo contendo o concentrado proteico do soro (CPS).

Tabela 4-Parâmetros Microbiológicos do queijo com o CPS

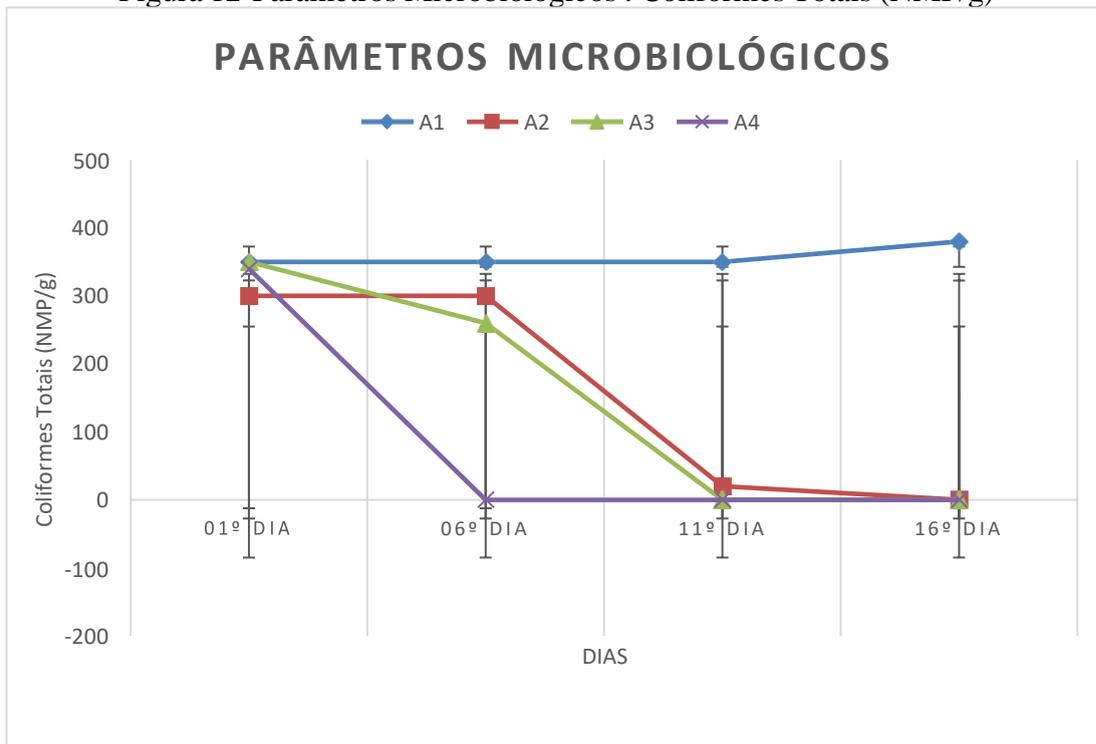
Microbiologia					
	Amostra	Coliformes	Coliformes	<i>Escherichia</i>	<i>Staphylococcus</i>
		Totais (NMP/g)	Termotolerantes (NMP/g)	<i>coli/g</i>	<i>aureus/25g</i>
Dia 01	A1	3,50 x10 ²	1,90 x10 ²	1,50 x10 ²	100
	A2	3,00 x10 ²	1,80 x10 ²	1,50 x10 ²	80
	A3	3,50 x10 ²	1,50x10 ¹	1,00 x10 ²	61
	A4	3,40 x10 ²	1,00 x10 ¹	0	0
Dia 06	A1	3,50 x10 ²	1,90 x10 ²	1,50 x10 ²	103
	A2	3,00 x10 ²	1,40 x10 ²	0	53
	A3	2,60 x10 ²	1,00 x10 ²	0	0
	A4	0	0	0	0
Dia 11	A1	3,50x10 ²	1,90 x10 ²	3,40 x10 ²	104
	A2	2,00 x10 ¹	1,30 x10 ²	0	36
	A3	0	0	0	0
	A4	0	0	0	0
Dia 16	A1	3,80 x10 ²	2,10 x10 ²	3,00 x10 ²	108
	A2	0	1,30 x10 ²	0	0
	A3	0	0	0	0
	A4	0	0	0	0

Fonte: elaborado pela Autora (2022)

5.2.1 Coliformes Totais

A Tabela 4 apresenta os valores obtidos nas análises microbiológicas e indica que a amostra A1 (controle) apresenta para todos os dias avaliados uma constante contaminação microbiológica por Coliformes Totais, aumentado de 3,50 x10² para 3,80 x10² (NMP/g), ver Figura 12:

Figura 12-Parâmetros Microbiológicos : Coliformes Totais (NMP/g)



Fonte: elaborado pela Autora (2023)

Pode-se evidenciar que o concentrado proteico de soro, quando aplicado na amostra de queijo, promove uma redução da carga microbiológica para coliformes totais. Na amostra A2 (CPS/1g), temos regressão da contaminação a partir do 6º dia até praticamente zero no 16º dia. Assim, pode-se inferir que com o aumento da concentração, pode-se promover uma redução dos contaminantes presente em queijo.

Em estudos realizados por Andrade *et al.* (2016), em feira livre do município de Bananeiras-PB, os autores observaram valores variando de $3,50 \times 10^7$ a $2,0 \times 10^8$ (NMP/g), demonstrando contagem de mesófilos superior à legislação em todas as amostras.

Nos estudos feito por Melo *et al.* (2015), em queijos de Coalho comercializados no município de Monteiro-PB, todas as amostras analisadas demonstraram uma elevada contagem, variando de 1×10^7 a $4,2 \times 10^7$ (UFC/g), resultados também superiores ao valor máximo permitido pela legislação vigente ($\leq 5 \times 10^3$ UFC/g), conforme Brasil (2001).

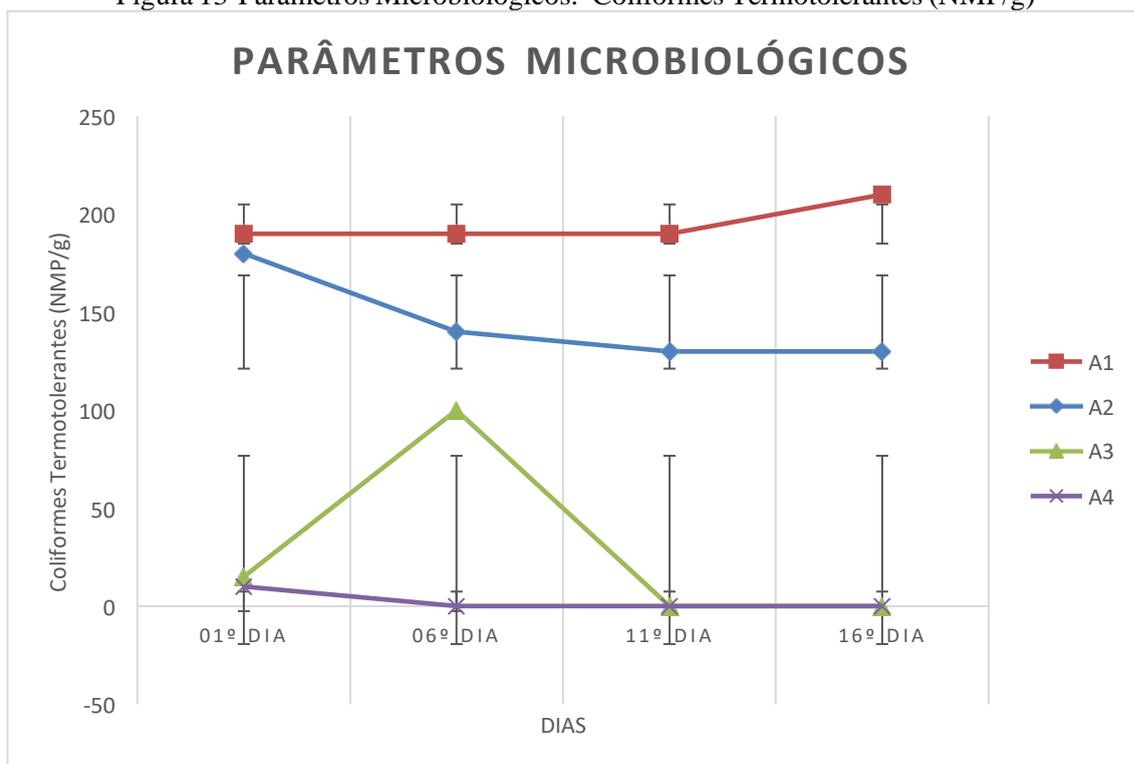
A amostra A3 (CPS/5g), a partir do 1º dia já começa reduzir os coliformes totais. O comportamento obtido pela amostra A4 (CPS/10g), indica uma redução drástica do contaminante, pois a partir do sexto dia observa-se total ausência de Coliformes Totais.

5.2.2 Coliformes Termotolerantes

Analisando os resultados obtido para coliformes termotolerantes, observa-se que a amostra A3 (CPS/5g), obteve um comportamento inesperado para o sexto dia, mas a partir do décimo primeiro dia, o contaminante se reduz a zero. A amostra A1 (controle), manteve-se praticamente constante e houve um aumento no décimo sexto dia.

Já na amostra A2 (CPS/1g), houve um pequena redução do microrganismo e depois uma constância. Na amostra A4 (CPS/10g) a redução se mostrou eficaz já no sexto dia (Figura 13).

Figura 13-Parâmetros Microbiológicos: Coliformes Termotolerantes (NMP/g)



Fonte: elaborado pela Autora (2023)

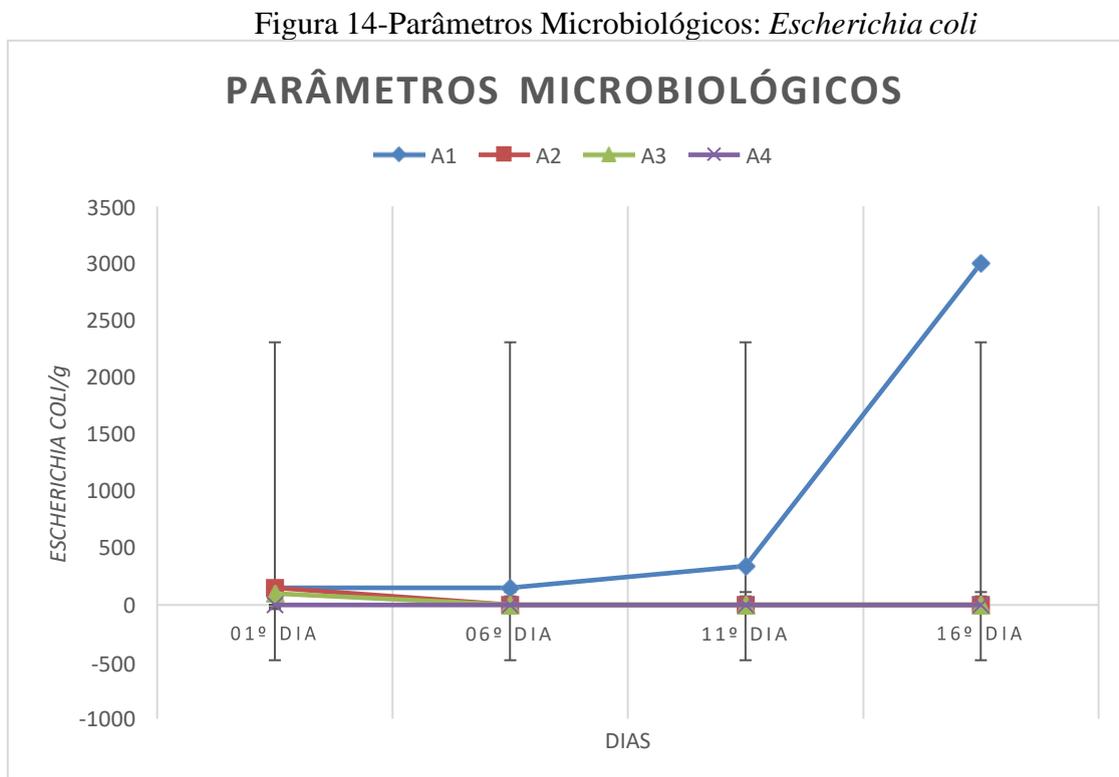
Oliveira *et al.* (2013) verificaram níveis de contaminação por coliformes termotolerantes acima do limite com valores variando de $4,0 \times 10^4$ a $2,0 \times 10^9$ das amostras analisadas. A legislação brasileira (Brasil, 2001) define como limite máximo permitido de coliformes termotolerantes, o valor de $5,0 \times 10^2$ NMP/g de amostra.

5.2.3 *Escherichia Coli*

Tanto o número de coliformes totais, quanto de coliformes termotolerantes, podem ser utilizados como um indicativo da possível presença de patógenos como *E. coli*, que pode causar riscos à saúde dos consumidores.

A *E. coli* é amplamente utilizada para detectar a contaminação fecal do produto, pois é um microrganismo que está presente na microbiota. Apesar de a maioria das linhagens de *E. coli* não serem patogênicas, existem algumas destas que podem apresentar um fator de patogenicidade em alimentos decorrentes da produção de toxinas, resultando em gastroenterites e infecções (NUNES *et al.* 2013).

A Figura 14 detalha os resultados das análises de *E. coli* obtidos.



Podemos perceber que a amostra A1 (controle) demonstra um comportamento acentuado principalmente no décimo sexto dia enquanto que as outras amostras indicam uma redução a zero com o passar dos dias. O concentrado proteico demonstrou um comportamento excelente com relação ao patógeno, indicando que houve a eliminação do mesmo.

Segundo os resultados de seus estudos, de Oliveira *et al.* (2010) conseguiram constatar que 80,95% das amostras de queijos Coalho apresentaram valores superiores a máxima

permitida pela legislação (Brasil, 2001), evidenciando a presença de *E. coli* em 64,29% das amostras analisadas.

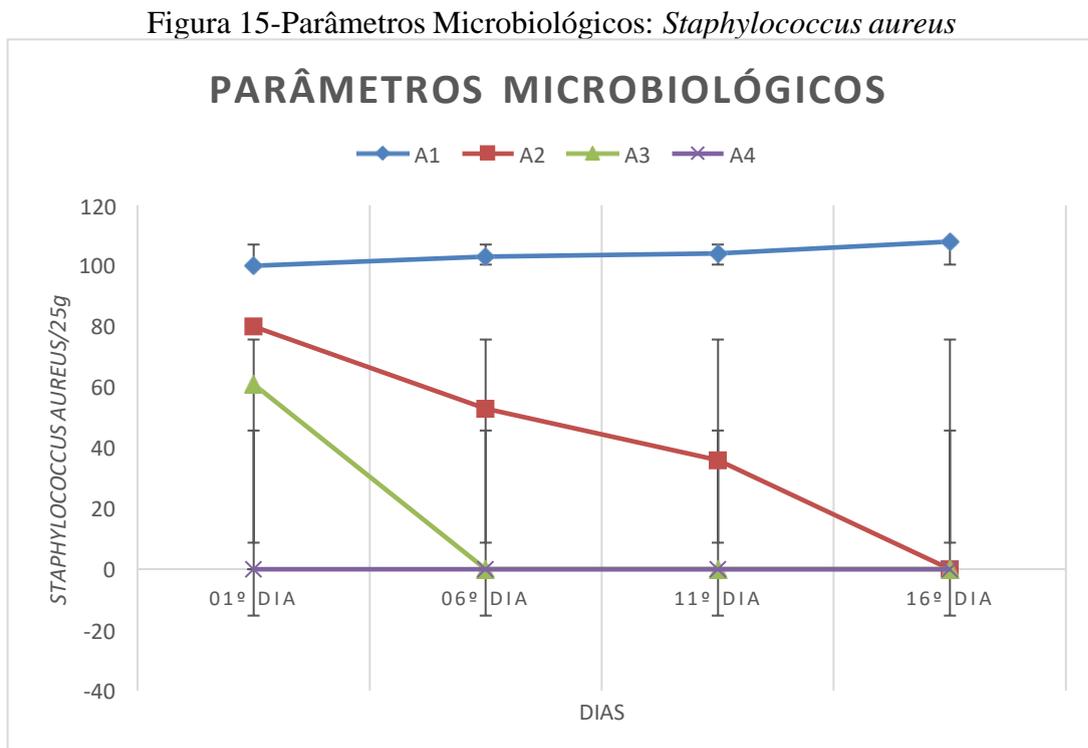
Bonfim *et al.* (2020), detalham em suas pesquisas sobre a resistência desse patógeno, cercade 44% de *E. coli* é sensível aos antimicrobianos existentes.

5.2.4 *Staphylococcus aureus*

Pode-se observar através do grafico da Figura 15, que a amostra A2 (1g/CPS) a partir do 16º dia, indica ausência de *S. aureus*, a amostra A3 (5g/CPS) demonstra que a partir do 6º dia não há mais contaminação por *S. aureus*, e a amostra A4 (10g/CPS) desde o primeiro dia de análise, não ha indícios de *S. aureus*.

A amostra A1(controle) demonstra que não houve redução e há um aumento significativo do patógeno.

A Figura 15 detalha a quantidade de *S. Aureus* encontrada em cada análise.



Fonte: elaborado pela Autora (2023)

A RDC de 12 de 2001 define a quantidade de *Staphylococcus aureus* (até 10^3 UFC/g), por conta da sua capacidade de produção de toxinas, mas vale ressaltar que a legislação define o limite aceitável da presença de *S. aureus*, se baseando em estudos que comprovam que uma

determinada quantidade de microrganismos não produzem toxinas suficientes para prejudicar a saúde dos consumidores. Assim, dependendo da quantidade, a presença deles em determinados alimentos não indica necessariamente que o consumidor irá ser prejudicado se houver consumo (SCHELIN, 2011).

Estudos desenvolvidos por Bezerra *et al.* (2017) indicaram que 65% das 20 amostras avaliadas para o queijo de Coalho comercializado na cidade de Sousa, Paraíba - Brasil demonstravam valores acima do limite para *S. Aureus*.

Em pesquisa realizada por Oliveira *et al.* (2019), em dezessete municípios do Estado do Ceará, Brasil, observou-se que 64,9% das amostras de queijo de Coalho produzidas de maneira artesanal e industrial indicavam a presença de *S. aureus* fora dos padrões vigentes da legislação, o que evidencia a necessidade de desenvolvimento de um produto com novas abordagens objetivando a redução ou até mesmo a eliminação deste microrganismo, conforme foi obtido no presente trabalho. Já na pesquisa de Araújo (2021) o extrato aquoso do coentro colocado em presença do queijo Coalho por vários dias foi capaz de reduzir os *S. aureus*.

O queijo de Coalho Tipo B tem um grande impacto social e econômico, principalmente no Nordeste brasileiro. A utilização do concentrado proteico com a finalidade da redução da carga microbiana, tem despertado o interesse acadêmico no desenvolvimento de novas pesquisas e tecnologias para a implementação desse produto.

O aproveitamento do resíduo que dá origem ao concentrado proteico, por métodos de incorporação em alimentos, traz para a indústria alimentícia um grande avanço nutricional.

Importante ressaltar, que a partir dos resultados obtidos, sugere-se que a implementação efetiva de BPF desde a etapa de obtenção do leite até a produção de queijo Coalho Tipo B, necessita de aperfeiçoamento, para que os parâmetros microbiológicos possam ser melhorados buscando desta forma, atender os requisitos da legislação vigente, e oferecer um alimento microbiologicamente seguro para o consumidor.

6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

6.1 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos a partir desta pesquisa permitiram chegar às seguintes conclusões:

- As análises físico-químicas realizadas nos queijos Coalho Tipo B contendo o concentrado proteico, indicaram que o soro manteve o queijo Coalho como produto com conteúdo de alta umidade, acidez titulável e pH dentro dos parâmetros estabelecidos pela legislação atual;
- Este estudo demonstrou que o concentrado proteico atua fortemente na redução ou até mesmo na eliminação dos patógenos indesejados do queijo Coalho Tipo B, mantendo o queijo dentro dos padrões de conformidade com a legislação vigente, estando, portanto, adequados para o consumo humano.

6.2 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A continuidade do projeto que deu origem a esta pesquisa poderá trazer grandes contribuições para a sociedade. Como sugestão para atividades futuras, propomos as seguintes atividades:

- Aplicação do concentrado proteico em outros produtos comestíveis;
- Desenvolvimento de novas tecnologias de processamento;
- Utilização da microbiologia preditiva com o intuito de analisar riscos e desenvolver novos produtos e processos;
- Sugere-se análises descritivas de todo o percurso que esse produto faz até o consumidor.

REFERÊNCIAS

- ABIQ - Associação Brasileira das Indústrias de Queijo. Queijos no Brasil, 2017. Disponível em: www.abiq.com.br/nutricao_queijosbrasil_ant.asp. Acesso em 08-02-2020 às 08:26.
- ABREU, L. D. L. Produção De Queijos Artesanais: Uma Revisão de Literatura. [Dissertação]. Agronegócio e Meio Ambiente, Maringá (PR), 2018.
- ALMEIDA, A. C. Caracterização de leveduras isoladas de queijos de Coalho. 2011. 65p. Dissertação (Mestrado em Biologia de Fungos) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.
- ALVES, M. P.; MOREIRA, R. O.; JÚNIOR, P.; MARTINS, M. C. F.; PERRONE, I.; ANDRADE, V. O.; BEZERRA, L. M. A; ANDRADE, J. O. et al. Qualidade microbiológica de queijos Coalho. I Congresso Internacional das Ciências Agrárias (COINTER)- PDVAgro, 2016.
- BARROS, D. DE M., MACHADO, E. DE C. L., MOURA, D. F. DE, DA FONTE, R. A. B., FERREIRA, S. A. DE O., & BEZERRA, R. DE S. Aspectos do queijo de Coalho com ênfase na importância das Boas Práticas de Fabricação no sistema de produção / Aspects of Coalho type cheese with emphasis on the importance of Good Manufacturing Practices in the production system. *Brazilian Journal of Development*, 5(1), v. 5, n. 1, p.67-93, 2019.
- BARUKCIC, I.; BOZANIC, R.; KULOZIK, U. Effect of pore size and process temperature on flux, microbial reduction and fouling mechanisms during sweet whey cross-flow microfiltration by ceramic membranes. *International Dairy Journal*, v.39, n.1, p.08-15, 2014.
- BEZERRA, D. E. L.; SILVA-FILHO, C. R. G.; GOMES, D. J.; PEREIRA-JUNIOR, E. B. Avaliação microbiológica de queijo de Coalho comercializado na feira livre de Sousa – Paraíba. *Divulgação Científica e Tecnológica do IFPB*. nº 37, 2017.
- BOMFIM, A. P. Qualidade microbiológica e caracterização da resistência antimicrobiana de bactérias isoladas de queijos Coalho comercializados em Vitória da Conquista-Bahia. *Segur. Aliment. Nutr.*, Campinas, v. 27, p. 1-10. e020015, 2020.

BOSI, M. G.; BERNABÉ, B. M.; LUCIA, S.M.D.; E ROBERTO, C. D. Bebida com adição de soro de leite e fibra alimentar prebiótica. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.48, n.3, p.339-341, 2013.

Brazilian Journal of Development, Curitiba, v.8, n.3, p. 17060-17092 mar., 2022.

BRUNO, L. M. Manual de curadores de germoplasma – Micro-organismos: Bactérias ÁcidoLáticas. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos 336, 2011.

CARDOSO, A. M. Avaliação das boas práticas de fabricação em restaurantes que comercializam comida japonesa no Rio de Janeiro e análise microbiológica dos sushis servidos nesses estabelecimentos. [dissertação]. Rio de Janeiro: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia, Faculdade em Ciência e Tecnologia de Alimentos; 2014.

CARVALHO, A. Soro de leite: tecnologias para o processamento de coprodutos. *Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes*, v. 69, n. 3, p. 212-226, 2014.

CARVALHO, F.; PRAZERES, A. R.; RIVAS, J. Cheese whey wastewater: Characterization and treatment. *Science of the Total Environment*, v. 445-446, 2013.

CARVALHO, I.; SOUZA, M.; WEBBER, R.N.M.; CONTINI, D.; PORCU, O.M. Queijo minas frescal adicionado de gergelim. In: *Fórum das Américas: Leite e derivados; 8º Congresso Internacional do Leite*. Anais Embrapa - junho, 2010.

CAVALCANTI, M.T.H. Avaliação da microbiota bacteriana do queijo de Coalho artesanal produzido na região Agreste do estado de Pernambuco. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.64, n.6, p.1732-1738, 2012.

CHEN, T.S. H. LEONG, S.E. KENTISH, M. ASHOKKUMAR O. MARTIN, *Separação de Moléculas Funcionais em Alimentos por Membrana Tecnologia* (Academic Press Ltd- Elsevier Science Ltd, EUA, 2019).

CORREDIG, P.K. Nair, Y. Li, H. Eshpari, Z. Zhao, J. *Laticínios Sci.* 102, 4772, 2019. COSTA,

M. J.; MACIEL, J. C.; TEIXEIRA, J. A.; VICENTE, A. A.; CERQUEIRA, M. A. Use of edible films and coatings in cheese preservations: opportunities and challenges. *Food Research International*, v. 107, p.84-92, 2018.

CROWLEY, S.V.; CALDEO, V.; McCARTHY, N.A.; FENELON, M.A.; KELLY, A.L.; O'MAHONY, J.A. Processing and protein-fractionation characteristics of different polymeric membranes during filtration of skim milk at refrigeration temperatures. *International Dairy Journal*, v.48., p.23-30, 2015.

DAMACENO, M. N.; BANDEIRA, M. G. L.; SILVA, J. A.; COSTA, W. R. S. C.; GOMES, J. S.; OLIVEIRA, V. M. S.; NETO, F. E. S. Aplicação de nisina como revestimento comestível em queijo Coalho. *Revista Saúde e Ciência*, v. 3, n. 3, p. 297-304, 2014.

DĘBOWSKI, M.; KORZENIEWSKA, E.; FILIPKOWSKA, Z.; ZIELIĘSKI, M.; KWIATKOWSKI, R. Possibility of hydrogen production during cheese whey fermentation process by different strains of psychrophilic bacteria. *Int J Hydrogen Energy*, v. 39, p.1972-1978, 2014.

DINIKA, I.; VERMA, D.K.; BALIA, R.; UTAMA, G.L.; PATEL, A.R. Potential of cheese whey bioactive proteins and peptides in the development of antimicrobial edible film composite: A review of recent trends. *Trends Food Sci. Technol.* 2020.

DUTCOSKY, S. D. *Análise sensorial de alimentos*. Curitiba: Champagnat; 2019.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Acidez Titulável, 2021. Disponível em: [Acidez Titulável - Portal Embrapa](#). Acesso em 10-01-2023 às 10:04.

FAROOQ, M. A.; AQUIB, Md; GHAYAS, Sana; BUSHRA, Rabia; HALEEM, K. D.; PARVEEN, A.; WANG, B. Whey protein: A functional and promising material for drug delivery systems recent developments and future prospects. *Polymers for Advanced Technologies*, v. 30 (9), p. 2183-2191, 2019.

FERNANDES, A. P. S.; COSTA, J. B.; SOARES, D. S. B.; MOURA, C. J.; SOUZA, A. R. M. Aplicação de filmes biodegradáveis produzidos de concentrado proteico de soro de leite

irradiado. Pesquisa Agropecuária Tropical, v. 45, n. 2, p. 192-199, 2015.

FOOD INGREDIENTS BRASIL: Dossiê Proteínas do Soro do Leite. Nº 41 – 2017. Disponível em: revista-fi.com.br. Acesso em 18-01-2023 às 8:40h.

FREITAS, W. C., Travassos A. E. R., & Maciel, J. F. Avaliação microbiológica e físico-química de leite cru e queijo de Coalho produzidos no estado da Paraíba. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais. 15(1), 35-42, 2013.

GOMES, R. A., MEDEIROS, U. K. L., SILVA, F. A. P. Caracterização físico-química dos Queijos de Coalho artesanal e industrial comercializados na cidade de Currais Novos/RN. VII CONNEPI, 2012. Disponível em: <http://propi.ifto.edu.br/ocs/index.php/connepi/vii/paper/viewFile/3305/3022>. Acessado em 20-08-20 às 15:35.

GONTHIER, A. The Effects of Acid Whey on the Environment. Way Over Whey. v. 2, p. 15-49, 2013.

ILLANES, A. Whey upgrading by enzyme biocatalysis. Electronic journal of biotechnology, v. 14, n. 6, p. 9-9, 2011.

INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 80, DE 13 DE AGOSTO DE 2020 - INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 80, DE 13 DE AGOSTO DE 2020 - DOU - Imprensa Nacional acesso em 06/08/2022 às 00:30.

IRLINGER, F.; LAYEC, S.; HÉLINCK, S.; DOUGAT-BONY, E. Cheese rind microbial communities: diversity, composition and origin. FEMS Microbiology Letters, v. 362, n. 1, p. 1-11, 2015.

JOHNSON, M. E. A 100-Year Review: cheese production and quality. Journal of Dairy Science, [s.l.], v. 100, n. 12, p. 9952-9965, dez. 2017.

KALLA, K.N. Krishna, R. Devaraju, Int. J. Appl. Eng. Res. Dev. 7, 2017.

KAMIMURA, B. A.; MAGNANI, M.; LUCIANO, W. A.; CAMPAGNOLLO, F. B.; PIMENTEL, T. C.; ALVARENGA, V. O.; PELEGRINO, B. O.; CRUZ, A. G.; SANT'ANA, A. S. Brazilian Artisanal Cheeses: An Overview of their Characteristics, Main Types and Regulatory Aspects. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, [s.l], v. 18, n. 5, p. 1636-1657, 2019.

LIU, D.Z.; SEMANAS, M.G.; DUSTAN, D.E.; JO, G.M. Alterations to the composition of casein micelles and retentate serum during ultrafiltration of skim milk at 10 and 40°C. *International Dairy Journal*, v.35, n.1, p.63-69, 2014.

MACEDO, A.; DUARTE, E.; FRAGOSO, R. Assessment of the performance of three ultrafiltration membranes for fractionation of ovine second cheese whey. *International Dairy Journal*, v. 48, p. 31-37, 2015.

MAGALHÃES, K. T.; DRAGONE, G.; PEREIRA, G. V. M.; OLIVEIRA, J. M.; DOMINGUES, L.; TEIXEIRA, J. A.; SILVA, J. B. A.; SCHWAN, R. F. Comparative study of the biochemical changes and volatile compound formations during the production of novel whey-based kefir beverages and traditional milk kefir. *Food Chemistry*, v.126, p.249-253, 2011.

MAMEDE, M. E. D. O.; VIANA, A. C.; SOUZA, S. A. O.; ARAUJO, P. A. Estudo das características sensoriais e da composição química de queijo de Coalho industrializado. *Rev Inst Adolfo Lutz. São Paulo*. v. 69, p.364-370, 2010.

MARTINS, A.L. Como montar uma fábrica de queijo artesanal (Coalho e manteiga). Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas (SEBRAE). *Empreendedorismo: ideias de negócios*, 2014.

MCSWEENEY, P. H.; FOX, P. F.; COTTER, P. D.; EVERETT, D. W. (ed.). *Cheese: chemistry, physics and microbiology*. 4. ed. Academic Press, 2017. 1302 p.

MELO, A. C. A.; SILVA, E.L. Queijo Minas Artesanal: Patrimônio brasileiro proibido e oportunidade para o desenvolvimento do turismo rural em Serro/MG. VII Fórum Internacional de Turismo do Iguaçu. Foz do Iguaçu, PR, 2014.

MELO, F. S. N; ARAUJO, M. S. R; MARTINS, W. F. et al. Avaliação da qualidade microbiológica de queijos Coalho comercializado em Monteiro-PB. In: VII Congresso Latino Americano e XIII Congresso Brasileiro de Higienistas de Alimentos, III Encontro Nacional de Vigilância de Zoonoses e V Encontro do Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal, 7., 2015, Armação de Búzios. Anais: CBMVHA, 2015.

MENEZES, S. M. Queijo de Coalho: Tradição Cultural e Estratégia de Reprodução Social Na Região Nordeste. *Rev. de Geog. (UFPE)*. 2011. v.28, n.1.

MOHANTY, Debapriya; JENA, Rajashree; CHOUDHURY, Prasanta K.; PATTNAIK, Ritesh; MOHAPATRA, Swati; SAINI, Manish R. Milk Derived Antimicrobial Bioactive Peptides - A Review. *International Journal of Food Properties*, v. 19(4), p. 837–846, 2015.

MOREIRA, R. de O.; RODRIGUES, P. H. J.; FRANCISQUINI, J. d'A.; STEPHANI, R.; PERRONE, I. T.; CARVALHO, A. F. Produção de concentrado proteico de soro em escala piloto: aspectos tecnológicos. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v. 72, n.4, p. 205-214, 2017.

MOREIRA, R. W. M.; MADRONA, S.; GRASIELE.; BRANCO, G.; BERGAMASCO, I. ROSANGELA.; NEHEMIAS, C. P. Avaliação sensorial e reológica de uma bebida achocolatada elaborada a partir de extrato hidrossolúvel de soja e soro de queijo. *Acta Scientiarum. Technology*, v. 32, n. 4, p. 435-438, 2010.

MOSSMANN, J.; Tratamento de água para reúso no beneficiamento de soro de leite, 2018.
NASSU, R.T., ARAÚJO, R.S., GUEDES, C.G.M., & ROCHA, R.G.A. Diagnóstico das
NORA, F. M. D., *Revista: Análise Sensorial Clássica: Fundamentos e Métodos*, 2021.

NUNES, M. M.; DE ALENCAR MOTA, A. L. A. ; CALDAS, E. D. Investigation of food and water microbiological conditions and foodborne disease outbreaks in the Federal District, Brazil. *Food control*, v. 34, n. 1, p. 235-240, 2013.

OLIVEIRA, E. S; MARQUES, L. J. P; SANTOS, E. R. S. et al. Qualidade microbiológica de queijos tipo Coalho, comercializados em feiras livres da região Metropolitana do Recife. In: JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO–JEPEX 2013, 13., 2013, Recife.

Anais...Recife: UFRPE, 2013.

OLIVEIRA, F. I. P.; COSTA, M.T.P.; FRAGA, A.C.A.; OBERG, M.L.B.; VASCONCELOS, M.P.; COSTA, T. E. S.; PINTO, S. C. Ocorrência De Staphylococcus Aureus Em Queijos Tipo Coalho. Cadernos ESP. v.13, n. 2, p. 82 – 93, 2019.

OLIVEIRA, K. A.; NETO, E.; MELO, P. L. E. H. Qualidade microbiológica do queijo de Coalho comercializado no Município do Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco, Brasil. Arquivos do Instituto Biológico, v. 77, n. 3, p. 435-440, 2010.

PABOEUF, V. Processo de fabricação de ricota por ultrafiltração. Revista Indústria de Laticínios, v. 16, n. 92, p. 144-146, 2011.

PAQUEREAU, B., MACHADO, G., CARVALHO, S., O queijo Coalho de Coalho em Pernambuco: Histórias e Memórias. Garanhuns – PE. Cepe - Companhia Editora de Pernambuco, v.1, 2016.

PAULA, J. R. DE; MATOS, A. T. DE; MATOS, M. P. DE; PEREIRA, M. S.; ANDRADE, C. RUTHES, L. D.; GOULARTE, M. M. M. Qualidade microbiológica de queijos de diversas regiões do Estado do Paraná. Higiene Alimentar, v. 27, n. 218/219, p. 172-176, 2013.

RUTHES, L. D.; GOULARTE, M. M. M. Qualidade microbiológica de queijos de diversas regiões do Estado do Paraná. Higiene Alimentar, v. 27, n. 218/219, p. 172-176, 2013.

SANTANA EHW, Beloti V, Aragon-Alegro LC, Mendonça MBOC. Estafilococos em Alimentos: uma revisão. Arquivos do Instituto de Biologia. 2010;77(3):545-554. Disponível em : https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/292603/mod_resource/content/1/Stapgylo.pdf. Acesso: 11/08/2022 às 11:40h.

SCHELIN, J.; WALLIN-CARLQUIST, N.; COHN, M. T.; LINDQVIST, R.; BARKER, G.; RADSTROM, P. The formation of Staphylococcus aureus enterotoxin in food environments and advances in risk assessment. Virulence, v. 2, n. 6, p. 580 – 592, Nov-Dec 2011.

SEBRAE – Santa Catarina. Pecuária. Agronegócio. Relatório de Inteligência. Disponível em:

<https://atendimento.sebrae-sc.com.br/inteligencia/relatorio-deinteligencia/comercializacao-de-queijos-artesanais> Acesso em 26-10-202 às 09:45.

SHABBIR, U., HUMA, N., JAVED, A. Composição e propriedades de textura de queijo de leite de cabra preparado usando dahi (iogurte) como iniciador. *Revista Brasileira de Tecnologia de Alimentos*, 22, 1-7, 2019.

SILVA, Danilo José P. da. Resíduos na indústria de laticínios. 2011. 20 f. Monografia (Especialização) - Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa- MG, 2011.

SILVA, G. L. Aspectos microbiológicos de queijos Coalhos comercializados em feiras livres do município de Petrolina-PE. *R. bras. Tecnol. Agroindustr*, Ponta Grossa, v. 12, n. 1, p. 2613-2626, 2018.

SILVA, G.; SILVA, A. M. A.; FERREIRA, M. P. B. *Revista: Produção Alimentícia – Processamento do leite*, p. 92, 2012.

SILVA, M.C.D.; RAMOS, A.C.S.; MORENO, I.; MORAES, J.O. Influência dos procedimentos de fabricação nas características físico-químicas, sensoriais e microbiológicas de queijo de Coalho. *Revista do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo*, v.69, n.2, p.214-221, 2010.

SILVA, R.A., BISMARA, P.A, MOURA, R.B., LIMA – FILHO, J.L, PORTO, A.L.F., SMITHERS, G. W. Whey-ing up the options – Yesterday, today, and tomorrow. *International Dairy Journal*, v. 48, p. 2-14, 2015.

SOUSA, A. Z. B., Abrantes, M. R., Sakamoto, S. M., Silva, J. B. A., Lima, P. de O., Lima, R. N., Rocha, M. de O. C., & Passos, Y. D. B. Aspectos físico-químicos e microbiológicos do queijo tipo Coalho comercializado em estados do nordeste do Brasil. *Arq. Inst. Biol.* 81(1), 30-35, 2014.

SOUZA L. M J. Avaliação do sistema Petrifilm™ na enumeração de microrganismos indicadores da qualidade higiênico-sanitária e patogênicos no leite de origem ovina

[Dissertação]. Brasília (DF): Universidade de Brasília; 2013.

SOUZA PALU, Caroline de; DE FREITAS, Ana C.; RIBEIRO, Ana F.; TONIN, Júlia N.; PEREIRA, Maria E. S.; BIBIANO, Milena; MELO, Victória; RABELO, Raimundo N. Tecnologia de produção de whey protein. PUBVET, v. 14, n. 4, a552, p. 1-4, 2020.

TAVARES, G. C. Concentração De Proteínas De Soro Do Leite Utilizando Gel Polimérico Termossensível Poli(N-Isopropilacrilamida). [dissertação]. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2011.

TAVARES, T.S.G. Production and Characterization of the Biological Activity of Peptides Obtained via Hydrolysis from Whey Proteins by Cardosins. Ph.D. Thesis, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, Portugal, 2011.

TOZZO, K.; GUIMARÃES. I. M.; CAMARGO, C. A. Avaliação microbiológica de queijos coloniais da região de Cascavel – PR. Higiene Alimentar, v. 29, n. 244-245, p. 149-154, 2015.

VIDAL, R. H. L. Diagnóstico regional do processo de queijo Coalho comercializado em Natal/RN. (Dissertação). Natal (RN): Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2011.