

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Faculdade de Engenharia de Alimentos

Departamento de Tecnologia de Alimentos

**INFLUÊNCIA DO USO DE RETENTADOS DE BAIXO FATOR DE
CONCENTRAÇÃO NO RENDIMENTO E NA QUALIDADE DA
MUSSARELA DE REDUZIDO TEOR DE GORDURA FEITA POR
ACIDIFICAÇÃO DIRETA**

Daniela Nunes Ferreira

Engenheira de Alimentos

Walkiria Hanada Viotto

Orientadora

**Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da
Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre
em Tecnologia de Alimentos**

Campinas, 2004

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. – UNICAMP

F413i Ferreira, Daniela Nunes
Influência do uso de retentados de baixo fator de
concentração no rendimento e na qualidade da mussarela de
reduzido teor de gordura produzida por acidificação direta /
Daniela Nunes Ferreira . – Campinas, SP: [s.n.], 2004.

Orientador: Walkiria Hanada Viotto
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de
Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Mozzarella (Queijo). 2.Ultrafiltração. 3.Rendimento.
I.Viotto, Walkiria Hanada. II. Universidade Estadual de
Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos. III.Título.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Walkiria Hanada Viotto
(ORIENTADORA)

Profa. Dra. Eliana Paula Ribeiro
(MEMBRO)

Dr. Múcio Mansur Furtado
(MEMBRO)

Prof. Dr. Salvador Massaguer Roig
(MEMBRO)

À minha mãe, Conceição, com muito amor
e carinho, pela dedicação imensurável,
apoio incondicional, incentivo e
compreensão em todos os momentos da
minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida.

À professora Walkiria Hanada Viotto, pela amizade, apoio e compreensão. Meus sinceros agradecimentos pela oportunidade e pela confiança em mim depositada; minha gratidão e orgulho por ter sido sua aluna e orientada desde a Graduação.

Aos membros da banca examinadora, professora Dra. Eliana Paula Ribeiro, Dr. Múcio Mansur Furtado e professor Dr. Salvador Massaguer Roig pela avaliação do trabalho e pelos valiosos comentários e sugestões.

À minha mãe e ao meu irmão, Conceição e Fernando, pelo amor e carinho, pela torcida, incentivo e compreensão nos momentos mais difíceis desta jornada.

A todos os meus familiares, em especial à minha querida avó Ilda, aos tios Carminda e Luiz Carlos, Inês e João, aos primos Fernanda e Guilherme, Alan e Alex, pelo amor e carinho, pela torcida, amizade e compreensão!

À grande amiga Christiane, pela amizade, pelo apoio e incentivo em todas as horas, principalmente nas mais difíceis, pelos bons momentos de descontração e pelos valiosos ensinamentos pessoais e profissionais. E, como poderia me esquecer... Obrigada pelo imenso auxílio na Planta Piloto, no laboratório e nas análises estatísticas.

À Clarissa, pela amizade, incentivo, pela enorme ajuda na Planta Piloto, nas análises estatísticas e análises reológicas.

Ao Luciano, pela amizade, pela força, pelo ombro amigo nas horas difíceis, pelos momentos de descontração e pela grande ajuda na Planta Piloto.

À Débora, pela amizade, incentivo, pelo imenso auxílio na Planta Piloto e no laboratório, pelos ensinamentos e pelos bons momentos de descontração.

À Carla, Carol e Josi, pela força, pela amizade e pelo auxílio na Planta Piloto e no laboratório.

À Bete, técnica do laboratório de Leite, pela amizade, pelas valiosas dicas e ensinamentos sobre as análises e pela ajuda na Planta Piloto, no laboratório e na realização da eletroforese.

Ao professor Nilo Sérgio Sabbião Rodrigues, pela amizade, confiança, apoio, compreensão e valiosos conselhos durante esta jornada.

Ao professor Luiz Antônio Viotto, pelos valiosos conselhos profissionais e pessoais, pelo incentivo e pela ajuda na Planta Piloto.

Aos técnicos do Departamento de Tecnologia de Alimentos, Ana Lourdes, Alice, Alessandra, Dirce, Ana Maria, Celina, José Roberto, Rogê, Adalto e José Carlos, pelo apoio, incentivo e pelo auxílio na realização deste trabalho.

Ao Nelson, pela ajuda na Planta Piloto e no laboratório.

Ao professor Lincoln, pelo empréstimo da câmara fria e ao Parreira, técnico do laboratório de Refrigeração, pelo auxílio e disponibilidade.

Ao professor Assis, pelo empréstimo do trocador de calor.

À professora Débora Tavares e à Iara, técnica do Laboratório de Microscopia de Alimentos, e ao pessoal do Laboratório de Microscopia Eletrônica do Instituto de Biologia, pelo auxílio na análise de microscopia eletrônica.

À Raquel, Viviane e Alexandre, pela amizade e pela ajuda no laboratório e na Planta Piloto.

Às amigas da república Bia, Karina, Gel, Audrey, Roberta, Ana Cristina, Mariana e Celeste, pela grande amizade, incentivo, torcida, pelos bons momentos de descontração e pelos conselhos e compreensão nas horas difíceis. Valeu, meninas!

Ao Celso e ao André, pela grande amizade e incentivo, pelo ombro amigo e pelos valiosos conselhos!

À Lúcia, pela amizade, pela torcida e incentivo.

A todo o pessoal do Grupo de Canto e às Irmãs do Carmelo de Santa Terezinha, pela amizade, pelas orações e incentivo nesta caminhada.

Ao Kleber, pela amizade e pelos ensinamentos sobre o grande valor da paciência.

À CAPES, pelo auxílio financeiro.

Enfim, a todos os que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, meus mais sinceros agradecimentos!

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE TABELAS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
RESUMO.....	xvi
SUMMARY.....	xviii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. O queijo mussarela.....	3
2.2. O processo de fabricação.....	3
2.3. Queijos de reduzido teor de gordura.....	4
2.4. A ultrafiltração na indústria láctea.....	5
2.5. Ultrafiltração na fabricação de queijos.....	6
2.6. Textura de queijos – reologia e estrutura.....	8
2.7. Propriedades funcionais da mussarela.....	11
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	12
3.1. Ultrafiltração do leite.....	12
3.2. Fabricação do queijo.....	15
3.3. Preparo das amostras de queijo para as análises.....	19
3.4. Análises de composição química.....	19
3.4.1. Análises do leite, retentado, permeado, soro e água de filagem.....	19
3.4.2. Análises do queijo.....	20
3.5. Cálculos de recuperação de gordura e proteína.....	20
3.6. Cálculos de rendimento.....	21
3.6.1. Rendimento real.....	21

3.6.2. Rendimento ajustado.....	21
3.7. Mudanças ocorridas durante o armazenamento refrigerado	22
3.7.1. Avaliação do pH e da acidez titulável	22
3.7.2. Nitrogênio solúvel a pH 4,6 e em TCA 12%	22
3.7.3. Eletroforese	23
3.7.4. Análises reológicas	23
3.7.4.1. Teste de compressão uniaxial	24
3.7.4.2. Teste de relaxação.....	25
3.7.5. Propriedades funcionais.....	27
3.7.5.1. Capacidade de retenção de água	27
3.7.5.2. Capacidade de derretimento.....	27
3.7.5.3. Óleo livre	29
3.7.5.4. Cor	29
3.8. Microestrutura.....	30
3.9. Análise sensorial	31
3.10. Planejamento experimental e análise estatística dos resultados	32
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
4.1. Composição do leite.....	33
4.2. Ultrafiltração do leite	33
4.3. Fabricação do queijo	37
4.4. Composição do soro	39
4.5. Composição da água de filagem	40
4.6. Composição do queijo	42
4.7. Recuperação de gordura e proteína.....	44

4.8. Rendimento do queijo	46
4.9. Mudanças ocorridas durante o armazenamento refrigerado	47
4.9.1. Evolução do pH e acidez titulável	47
4.9.2. Evolução da proteólise.....	50
4.9.2.1. Extensão da proteólise	50
4.9.2.2. Profundidade da proteólise	51
4.9.2.3. Eletroforese	53
4.9.3. Propriedades reológicas	54
4.9.3.1. Teste de compressão uniaxial	54
4.9.3.2. Teste de relaxação.....	61
4.9.4. Propriedades funcionais.....	68
4.9.4.1. Capacidade de retenção de água	68
4.9.4.2. Capacidade de derretimento.....	70
4.9.4.3. Óleo livre	72
4.9.4.4. Cor	74
4.10. Microestrutura.....	81
4.11. Análise Sensorial	83
5. CONCLUSÕES	89
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91
ANEXO I.....	102
ANEXO II.....	103
ANEXO III	104
ANEXO IV	105
ANEXO V.....	108

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 4.1. Composição média (n=3) do leite utilizado na ultrafiltração e na fabricação do queijo controle.	33
TABELA 4.2. Composição média (n=3) do permeado obtido pela ultrafiltração do leite pré-acidificado a pH 5,6 até FC 2,5.....	34
TABELA 4.3. Composição média (n=3) do leite e dos retentados de baixo fator de concentração utilizados na fabricação dos queijos.	35
TABELA 4.4. Tempo médio (n=3) gasto nas etapas de coagulação e dessoragem durante a fabricação dos queijos.	37
TABELA 4.5. Composição média (n=3) dos soros resultantes da fabricação dos queijos feitos a partir de leite não ultrafiltrado e de retentados de baixo fator de concentração.	39
TABELA 4.6. Composição média (n=3) das águas de filagem resultantes da fabricação dos queijos feitos a partir de leite não ultrafiltrado e de retentados de baixo fator de concentração.	40
TABELA 4.7. Composição média (n=3) dos queijos feitos a partir de leite não ultrafiltrado e de retentados de baixo fator de concentração.	42
TABELA 4.8. Recuperação corrigida de gordura (n=3) obtida na fabricação dos queijos feitos a partir de leite não ultrafiltrado e de retentados de baixo fator de concentração.	44
TABELA 4.9. Recuperação corrigida de proteína (n=3) obtida na fabricação dos queijos feitos a partir de leite não ultrafiltrado e de retentados de baixo fator de concentração.	45
TABELA 4.10. Rendimento médio (n=3) dos queijos feitos a partir de leite não ultrafiltrado e de retentados de baixo fator de concentração.	47
TABELA 4.11. Quadrados médios e probabilidades para a evolução do pH, da acidez titulável, da extensão da proteólise e da profundidade da proteólise do queijo mussarela <i>light</i> produzido por acidificação direta durante 32 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.	48

TABELA 4.12. Quadrados médios e probabilidades para a tensão de ruptura, deformação de ruptura e trabalho de ruptura para o queijo mussarela <i>light</i> produzido por acidificação direta durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.....	56
TABELA 4.13. Quadrados médios e probabilidades para o módulo de elasticidade e tensão máxima para o queijo mussarela <i>light</i> produzido por acidificação direta durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.....	57
TABELA 4.14. Quadrados médios e probabilidades para os módulos de elasticidade E_0 , E_1 e E_2 para o queijo mussarela <i>light</i> produzido por acidificação direta durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.....	63
TABELA 4.15. Quadrados médios e probabilidades para as viscosidades η_1 e η_2 para o queijo mussarela <i>light</i> produzido por acidificação direta durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.	64
TABELA 4.16. Quadrados médios e probabilidades para a retenção de água, derretimento e óleo livre para o queijo mussarela <i>light</i> produzido por acidificação direta durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.	69
TABELA 4.17. Quadrados médios e probabilidades para a luminosidade (valor L^*), intensidade da cor vermelha (valor a^*) e intensidade da cor amarela (valor b^*) para o queijo mussarela <i>light</i> (não derretido) produzido por acidificação direta durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.....	76
TABELA 4.18. Quadrados médios e probabilidades para a luminosidade (valor L^*), intensidade da cor vermelha (valor a^*) e intensidade da cor amarela (valor b^*) para o queijo mussarela <i>light</i> (derretido) produzido por acidificação direta durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.....	77
TABELA 4.19. Notas médias da análise sensorial dos queijos produzidos a partir de retentados de baixo fator de concentração e de leite não ultrafiltrado e de dois queijos mussarela <i>light</i> comerciais.	85

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 3.1. Fluxograma das etapas de padronização e pasteurização do leite utilizado na ultrafiltração e fabricação do queijo controle (1° dia de processo).	12
FIGURA 3.2. Esquema da unidade piloto de ultrafiltração.....	13
FIGURA 3.3. Fluxograma da etapa de ultrafiltração do leite (2° dia de processo).....	15
FIGURA 3.4. Fluxograma da etapa de fabricação das massas dos queijos a partir de leite não concentrado e de retentados de baixo fator de concentração (3° dia de processo).....	17
FIGURA 3.5. Fluxograma da etapa de filagem da massa (4° dia de processo).	18
FIGURA 3.6. Material utilizado na amostragem do queijo para as análises reológicas	24
FIGURA 3.7. Material utilizado na amostragem e na análise da capacidade de derretimento do queijo.	28
FIGURA 3.8. Exemplo de disposição das placas na estufa para análise da capacidade de derretimento.....	29
FIGURA 4.1. Evolução do pH dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 32 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.	49
FIGURA 4.2. Evolução da acidez titulável dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 32 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.	49
FIGURA 4.3. Evolução da extensão da proteólise (% nitrogênio solúvel a pH 4,6 / nitrogênio total) dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 32 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.	51
FIGURA 4.4. Evolução da profundidade da proteólise (% nitrogênio solúvel em TCA 12% / nitrogênio total) dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de	

retentados baixo fator de concentração durante 32 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.	52
FIGURA 4.5. Eletroforetograma dos queijos produzidos a partir de leite não ultrafiltrado e de retentados de baixo fator de concentração.	53
FIGURA 4.6. Tensão de ruptura para os queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.	58
FIGURA 4.7. Deformação na ruptura dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.	58
FIGURA 4.8. Trabalho de ruptura dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.	59
FIGURA 4.9. Módulo de elasticidade dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.	59
FIGURA 4.10. Tensão máxima dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.	60
FIGURA 4.11. Módulo elástico de equilíbrio dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.	65
FIGURA 4.12. Módulo de elasticidade do elemento com menor tempo de relaxação dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.	65
FIGURA 4.13. Módulo de elasticidade do elemento com maior tempo de relaxação dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.	66

FIGURA 4.14. Viscosidade do elemento com menor tempo de relaxação dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.	66
FIGURA 4.15. Viscosidade do elemento com maior tempo de relaxação dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.	67
FIGURA 4.16. Evolução da capacidade de retenção de água dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados baixo fator de concentração durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.	70
FIGURA 4.17. Evolução da capacidade de derretimento dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 32 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.	72
FIGURA 4.18. Evolução da formação de óleo livre dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.	73
FIGURA 4.19. Variação da luminosidade (valor L*) dos queijos (não derretidos) produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.	78
FIGURA 4.20. Variação da luminosidade (valor L*) dos queijos (derretidos) produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.	78
FIGURA 4.21. Variação da intensidade da cor vermelha (valor a*) dos queijos (não derretidos) produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração ao longo dos 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.	79
FIGURA 4.22. Variação da intensidade da cor vermelha (valor a*) dos queijos (derretidos) produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração ao longo dos 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.	79

FIGURA 4.23. Variação da intensidade da cor amarela (valor b^*) dos queijos (não derretidos) produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração ao longo dos 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.	80
FIGURA 4.24. Variação da intensidade da cor amarela (valor b^*) dos queijos (derretidos) produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração ao longo dos 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.....	80
FIGURA 4.25. Queijo mussarela <i>light</i> produzido por acidificação direta a partir de retentados de baixo fator de concentração e de leite não ultrafiltrado (controle); 25 dias após a fabricação. A) queijo controle; B) queijo FC 1,4; C) queijo FC 1,8.	82
FIGURA 4.26. Histograma de freqüências da avaliação sensorial dos queijos mussarela <i>light</i> em relação à <i>Aparência</i>	86
FIGURA 4.27. Histograma de freqüências da avaliação sensorial dos queijos mussarela <i>light</i> em relação à <i>Impressão Global</i>	86
FIGURA 4.28. Histograma de freqüências da avaliação sensorial dos queijos mussarela <i>light</i> em relação ao <i>Aroma</i>	87
FIGURA 4.29. Histograma de freqüências da avaliação sensorial dos queijos mussarela <i>light</i> em relação ao <i>Sabor</i>	87
FIGURA 4.30. Histograma de freqüências da avaliação sensorial dos queijos mussarela <i>light</i> em relação à <i>Textura</i>	88
FIGURA 4.31. Histograma de freqüências da avaliação sensorial dos queijos mussarela <i>light</i> em relação à <i>Intenção de Compra</i>	88

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do uso de retentados de ultrafiltração de baixo fator de concentração na composição, rendimento, proteólise, propriedades viscoelásticas e funcionais, microestrutura e aceitação sensorial do queijo mussarela de reduzido teor de gordura feito por acidificação direta com ácido acético. Dois fatores de concentração (FC 1,4 e 1,8) foram comparados a um controle (leite não ultrafiltrado) e os ensaios foram realizados em triplicata. Leite, retentado, permeado, soro, água de filagem e queijo foram pesados e suas composições determinadas. Foram calculados as recuperações de gordura e de proteína e o rendimento de fabricação. Os queijos foram analisados nos dias 4, 11, 18, 25 e 32 do armazenamento refrigerado a 4°C em relação a pH, acidez titulável, teor de nitrogênio solúvel (NS) a pH 4,6 e em 12% TCA e capacidade de derretimento. Nos dias 5, 12, 19, 26 e 33, os queijos foram avaliados quanto a capacidade de retenção de água, cor antes e após derretimento, óleo livre e propriedades reológicas (teste de compressão uniaxial e relaxação). A microestrutura dos queijos foi avaliada através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) no 26º dia após a fabricação e a aceitação sensorial foi verificada no 27º dia do armazenamento refrigerado. Os queijos feitos com retentados apresentaram menores teores de proteína e de cálcio ($p < 0,05$), tendência de maior teor de umidade, menor recuperação de gordura na água de filagem ($p < 0,05$) e maior rendimento real ($p < 0,05$). O uso de retentados não influenciou significativamente ($p > 0,05$) o pH, acidez titulável, proteólise, capacidade de retenção de água e capacidade de derretimento do queijo. Os queijos feitos com retentados apresentaram menor formação de óleo livre, menor elasticidade e menor firmeza ($p < 0,05$). Os índices de proteólise aumentaram significativamente durante o tempo de armazenamento; no entanto, este aumento foi pequeno em relação aos normalmente encontrados para queijo mussarela, o que provavelmente está associado à pequena quantidade de coalho utilizado na fabricação do queijo. Isto resultou na manutenção das propriedades funcionais e reológicas constantes ($p > 0,05$) ao longo do tempo de armazenamento. O eletroforetograma dos queijos confirma a lenta evolução da proteólise e evidencia que esta ocorreu fundamentalmente em virtude da ação do coalho residual. Os queijos feitos a partir de retentados apresentaram cor mais clara, provavelmente devido ao

efeito de homogeneização da gordura que pode ter ocorrido durante a ultrafiltração do leite. Todos os queijos apresentaram uma rede protéica bastante densa devido à redução do teor de gordura. Os queijos feitos com retentados parecem ter apresentado uma rede protéica menos compacta, provavelmente em função de seu menor teor de proteína e tendência de maior teor de umidade e isto pode ter refletido nas diferenças em relação às propriedades reológicas. A qualidade sensorial do queijo não foi prejudicada pelo uso de retentados de baixo fator de concentração. Os queijos tiveram boa aceitação, apesar do reduzido teor de gordura, sendo similar à de queijos mussarela *light* comerciais. O uso de retentados de baixo fator de concentração se mostrou viável na produção de queijo mussarela de reduzido teor de gordura por acidificação direta. Como o fator de concentração não influenciou significativamente a qualidade dos queijos, o FC 1,8 é mais indicado por viabilizar um maior aumento da capacidade da planta. No entanto, são necessários maiores estudos no sentido de aprimorar as propriedades funcionais, em especial a capacidade de derretimento, visto que este é um atributo de fundamental importância para o queijo mussarela.

Palavras-chave: mussarela, reduzido teor de gordura, ultrafiltração, rendimento, proteólise, reologia, funcionalidade, aceitação sensorial

SUMMARY

Use of low concentration factor ultrafiltration retentates on composition, yield, proteolysis, rheological and functional properties, microstructure and sensory acceptability of reduced fat Mozzarella cheese made by direct acidification was evaluated. Two concentration factors (1.4 and 1.8) were compared with a control (semi-skimmed milk) and three trials were carried out. Milk, retentate, permeate, whey, stretching water and cheese were weighted and their composition were determined. Fat and protein recoveries and yield were also calculated. Titratable acidity, pH, pH 4.6-soluble nitrogen, 12% TCA-soluble nitrogen and melting of cheese were determined at 4, 11, 18, 25 and 32 d of refrigerated storage at 4°C, and at 5, 12, 19, 26 and 33 d, water holding capacity, color of unmelted and melted cheese, free oil formation and rheological properties (uniaxial compression and stress relaxation tests) were evaluated. Cheese microstructure was evaluated by Scanning Electron Microscopy (SEM) at 26 d after manufacturing and the sensory acceptability were determined at 27 d of refrigerated storage. Cheese made with retentates had lower protein and calcium contents ($p < 0.05$), tendency of higher moisture, lower fat recovery in stretching water and higher actual yield than control cheese. The use of retentates had no significant influence ($p > 0.05$) on pH, acidity, proteolysis, water holding capacity and melting behaviour of cheese. Free oil formation, elasticity and firmness of cheeses were reduced when using low concentration factor retentates. The levels of proteolysis increased significantly during storage, however this increase was slow which is probably associated to the small amount of rennet used in cheese manufacture. This fact is probably responsible for no alterations of the functional and rheological properties during storage. The electrophoretogram confirms the slow changes in proteolysis and indicates that it was due to residual rennet action. Cheeses made with retentates were whiter than the control cheese, probably due to the homogenization effect that could be occurred during ultrafiltration of milk. All cheeses showed a dense protein network because of fat reduction. It seems that cheeses made with retentates had a less compact protein matrix probably due to their lower protein content and tendency of higher moisture that could reflect in the rheological differences of cheeses. The sensory quality was not impaired by the use of retentates. All cheeses had good acceptability, despite of the fat reduction, that was similar to the

comercial light Mozzarella cheeses. The use of low concentration factor retentates in production of reduced fat Mozzarella cheese by direct acidification is viable and how the concentration factor did not affect significantly cheese quality, CF 1.8 is recommended because of higher improvement of plant capacity. However more research is needed in order to improve functional properties, especially melting that is an important attribute of Mozzarella cheese.

Keywords: Mozzarella, reduced fat, ultrafiltration, yield, proteolysis, rheology, functionality, sensory acceptability

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas duas décadas, tem-se verificado um crescimento da produção mundial de mussarela impulsionado pelo aumento da demanda deste queijo como ingrediente culinário, especialmente para uso em pizza.

No Brasil, observou-se um crescimento bastante significativo da produção de mussarela, o qual é hoje o queijo mais produzido industrialmente no país. Em 1998, a produção atingiu 147.000 toneladas, representando cerca de 43% da produção total de queijos brasileira (DATAMARK,1998). Segundo estimativas de Furtado (2001), a produção de mussarela deve superar 200.000 toneladas no Brasil.

No entanto, a mussarela para pizza quando produzida pelo método tradicional (uso de cultura láctica) necessita de um período de maturação, de uma a três semanas ao redor de 4°C, a fim de desenvolver as características funcionais ideais para sua utilização (Kindstedt & Guo, 1997a; Kindstedt, 1993; McMahon *et al.*, 1993). Uma alternativa ao processo tradicional é a fabricação da mussarela através da adição direta de algum ácido orgânico (como ácido cítrico, acético, láctico), eliminando a etapa de fermentação láctica. Esta técnica pode resultar em uma redução de custos do processo, do tempo de fabricação e economia de materiais, pois possibilita a utilização de uma menor quantidade de coagulante e eliminação da variabilidade de produção de ácido pela cultura láctica. Além disso, a mussarela assim obtida não requer um período de maturação como a produzida pelo processo tradicional, pois logo após a fabricação o queijo já apresenta textura macia e boa capacidade de derretimento, principalmente em função da maior capacidade de retenção de água.

Nos últimos anos, devido à preocupação da população com a saúde, tem-se verificado um grande aumento da demanda por produtos com teor de gordura reduzido, inclusive queijos. Entretanto, a remoção de gordura afeta a textura e o sabor do queijo, além de acarretar menores rendimentos em comparação com o queijo integral. Diante deste contexto, tem-se verificado um aumento de pesquisas envolvendo queijos de reduzido e de baixo teor de gordura, incluindo mussarela (Sheehan & Guinee, 2003; Metzger *et al.*, 2001; McMahon *et al.*, 1996).

Em geral, modificações tecnológicas constituem a forma mais simples e econômica para melhorar a qualidade de queijos com teor de gordura reduzido (Drake

& Swanson, 1995). Uma possibilidade é a concentração total (pré-queijo líquido) ou parcial do leite por ultrafiltração, que permite a incorporação de proteínas do soro, o que pode melhorar o rendimento e a capacidade de retenção de água, tornando o queijo mais macio. No entanto, pode ser necessário o desenvolvimento de equipamentos especiais para a fabricação do queijo, o que pode dificultar a aplicação desta tecnologia.

Uma alternativa seria a fabricação do queijo a partir de retentados de baixo fator de concentração (em geral, menor que 2) que, além de ser uma forma de padronização da matéria-prima, poderia promover aumentos de rendimento e melhoria na qualidade do queijo, sem a necessidade de usar equipamentos diferentes dos utilizados na produção de queijos tradicionais. A produção de mussarela de reduzido teor de gordura utilizando esta técnica ainda não foi estudada.

Assim, este trabalho teve por objetivo avaliar a influência do uso de retentados de ultrafiltração de baixo fator de concentração (FC 1,4 e FC 1,8) na composição, rendimento, proteólise, propriedades reológicas e funcionais, microestrutura e aceitação sensorial do queijo mussarela de reduzido teor de gordura feito por acidificação direta.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. O queijo mussarela

O queijo mussarela teve sua origem na Itália e era originalmente produzido a partir de leite de búfala (Kosikowski, 1997). Devido a sua crescente utilização na culinária, principalmente nos Estados Unidos, onde é conhecido como *Pizza Cheese*, sua produção tem crescido nos últimos anos (Guinee *et al.*, 2002; Kindstedt, 1987), sendo hoje fabricado principalmente a partir de leite de vaca.

A mussarela é um queijo macio que pertence ao grupo dos queijos de massa filada, no qual se encontram também o Provolone, classificado como um queijo duro, e o “Caccio Cavallo”, semi-macio (Valle & Leitão, 1995). A etapa de filagem promove a ordenação das cadeias de proteína por ação mecânica e calor, resultando em uma estrutura alinhada e filamentosa, com camadas de soro livre e gordura emulsificada entrepostos (McMahon, 1993).

A mussarela brasileira tradicional possui uma composição físico-química muito irregular (Spadoti & Oliveira, 1999). Apresenta composição média de 43-46% de umidade, 22-24% de gordura, 1,6-1,8% de sal, pH de 5,1-5,3 e não existe uma diferenciação de padrão físico-químico para as diferentes mussarelas comercializadas, seja para consumo direto ou uso como ingrediente culinário (Furtado & Lourenço-Netto, 1994).

2.2. O processo de fabricação

O queijo mussarela era produzido inicialmente a partir de leite cru e a acidificação era realizada pelas próprias bactérias lácticas naturais do leite. Na década de 50, os EUA estabeleceram a obrigatoriedade da pasteurização do leite, o que trouxe problemas tecnológicos em virtude da eliminação das bactérias lácticas (Kindstedt & Guo, 1997b). Kosikowski (1951) propôs que fossem adicionadas bactérias lácticas selecionadas para a fermentação da massa.

Na produção da mussarela para pizza, é mais comum o uso de culturas termófilas, que resistam ao tratamento térmico no momento da filagem (Oliveira, 2001). A produção de ácido exerce um papel fundamental para a adequada desmineralização da

massa na etapa de filagem, que no processo tradicional ocorre na faixa de pH 5,1-5,3 (Kindstedt, 1987).

A adição direta de ácido (como ácido cítrico, acético, láctico) é uma alternativa ao processo tradicional. Esta técnica pode resultar em uma redução do tempo de fabricação, eliminação da variabilidade de produção de ácido por dispensar o fermento láctico, acelerar a coagulação, pois o pH menor favorece a ação enzimática do coalho, acelerar a filagem, que pode ser realizada imediatamente após a dessoragem da massa, além de possibilitar a fabricação do queijo por processo contínuo e mecanizado (Keller *et al.*, 1974; Valle & Leitão, 1995; Viotto & Oliveira, 1998).

A mussarela produzida por acidificação direta não necessita de um tempo de maturação, de uma a três semanas a 4°C, para adquirir textura macia e boa capacidade de derretimento. Além disso, o uso da técnica de acidificação direta pode resultar em queijos com capacidade de derretimento superior aos fabricados pelo método tradicional (Ferreira & Viotto, 1999; Oliveira *et al.*, 1999).

2.3. Queijos de reduzido teor de gordura

A crescente preocupação da população com a saúde tem levado a um aumento da demanda por produtos com menor teor de gordura (Drake & Swanson, 1995; Holsinger, 1995). Devido ao elevado teor de gordura dos queijos, em geral, a indústria tem buscado alternativas para oferecer ao mercado um maior número de variedades de queijos com baixo ou reduzido teor de gordura (Cunha, 2002).

De uma forma geral, a remoção da gordura acarreta defeitos sensoriais como ausência de aroma característico, sabores indesejados e textura mais firme e elástica, além de menores rendimentos em relação aos queijos tradicionais (Drake & Swanson, 1995; Rodríguez, 1998). A maioria das pesquisas está focada em melhorias das características sensoriais e as estratégias mais utilizadas incluem: modificações tecnológicas, uso de culturas adjuntas e adição de substitutos ou imitadores de gordura.

As modificações tecnológicas são potencialmente a forma mais simples e econômica de melhorar as características sensoriais de queijos com teor de gordura reduzido (Drake & Swanson, 1995). Dentre as alternativas, a inclusão de proteínas do soro constitui uma das formas de aumentar o teor de umidade do queijo, o que pode ajudar a minimizar os efeitos da remoção da gordura (Mistry, 2001; Drake & Swanson,

1995). Outras vantagens são melhoria do valor nutricional e aumento de rendimento do queijo (Hinrichs, 2001).

As proteínas do soro podem ser incorporadas ao queijo tanto em sua forma nativa ou desnaturada. Em sua forma nativa, podem ser retidas por ultrafiltração (concentração total ou parcial); na forma desnaturada, através de: 1) tratamento térmico elevado que induz a formação de complexos com as caseínas; 2) combinação de tratamento térmico elevado com a tecnologia de membranas a fim de reter proteínas do soro desnaturadas e seus agregados, ou 3) adição de concentrado protéico de soro ao leite ou coalhada (Hinrichs, 2001). O uso de maior temperatura de pasteurização a fim de aumentar a desnaturação das proteínas do soro e assim melhorar a capacidade de retenção de água tem sido citado por alguns autores (Merril *et al.*, 1994; Fife *et al.*, 1996).

A ultrafiltração tem sido citada como uma forma de melhorar a qualidade de queijos de baixo e reduzido teor de gordura (McGregor & White, 1990; Rodríguez *et al.*, 1996).

2.4. A ultrafiltração na indústria láctea

A ultrafiltração do leite consiste em um processo de separação em que os constituintes são fracionados de acordo com seu peso molecular. Proteína (quase toda) e gordura são completamente retidas no retentado e lactose, minerais e vitaminas são divididos entre retentado e permeado. O desenvolvimento e a expansão do uso da tecnologia de membranas têm ocorrido principalmente graças à sua aplicação na indústria láctea. Sua utilização começou com a separação e concentração de proteínas do soro resultante da produção de queijos, passando pela padronização do leite até a produção de retentados para fabricação de queijos (Renner & El-Salam, 1991).

2.5. Ultrafiltração na fabricação de queijos

A fabricação de queijos a partir de leite ultrafiltrado tem como grande atrativo a inclusão de proteínas do soro, o que pode aumentar o rendimento de fabricação (Marshall, 1986; Guinee *et al.*, 1996). Algumas variedades de queijos macios (p. ex. Camembert e Feta) já vêm sendo produzidas com sucesso a partir de retentados com fator de concentração (FC) ao redor de 5 (Hinrichs, 2001; Renner & El-Salam, 1991). Embora a concentração total permita a retenção de praticamente todas as proteínas do soro e ganhos consideráveis de rendimento, são necessários equipamentos especiais para a produção do queijo. Além disso, as mudanças na composição e tecnologia influenciam a textura e sabor do produto e adaptações podem ser necessárias a fim de serem obtidos queijos de melhor qualidade e com características mais próximas aos tradicionais. Fatores de concentração intermediários (2-3) podem ser empregados na fabricação de queijos de alto teor de sólidos. Como a quantidade de soro a ser drenado é menor, a incorporação de proteínas do soro é maior em relação ao processo tradicional (Hinrichs, 2001).

Uma alternativa para se obterem queijos com características mais próximas aos tradicionais é a utilização de baixos fatores de concentração (até 2). Fatores de concentração na faixa de 1,5-2,0 são praticados na produção de queijos coagulados enzimaticamente para padronização do teor de proteína e assim obter rendimento e qualidade mais consistentes (Fox *et al.*, 2000b). Podem ser utilizados os mesmos equipamentos que os da tecnologia convencional e uma grande vantagem é o aumento de capacidade da planta em virtude da redução do volume de leite a ser processado (Renner & El-Salam, 1991). Quando se trabalha com baixos fatores de concentração, a perda de proteínas no soro ainda é alta (Hinrichs, 2001). Cunha (2002) trabalhou com baixos FCs e não verificou aumento estatisticamente significativo no rendimento de queijo Minas Frescal de reduzido teor de gordura com o aumento do fator de concentração.

A retenção de proteínas do soro no queijo depende da intensidade do tratamento térmico dado ao leite, que influencia o grau de desnaturação e complexação das proteínas do soro com a caseína micelar e a quantidade de soro liberado (Guinee *et al.*, 1996). A pasteurização a 72°C/15 s acarreta desnaturação de até 5% das proteínas do soro, o que contribui com um aumento de rendimento de 0,1-0,4% (Fox *et al.*, 2000b). As maiores conseqüências são leve aumento do tempo de coagulação e redução da

firmeza da coalhada. A adição de CaCl_2 pode ser uma maneira de restaurar estas propriedades (Dalglish, 1992).

A inclusão de níveis superiores a 35% do total das proteínas do soro, tanto na forma nativa como desnaturada, pode prejudicar as propriedades de coagulação, reologia do queijo (redução da elasticidade e firmeza), funcionalidade e a qualidade geral da maioria dos queijos obtidos por coagulação enzimática. Devido aos efeitos na reologia do queijo, a incorporação de altos teores de proteínas do soro pode constituir uma maneira de melhorar a qualidade de queijos de reduzido teor de gordura que tendem a ser muito firmes e borrachentos quando comparados aos convencionais.

Waungana *et al.* (1996) observaram que os efeitos adversos do tratamento térmico (80-140°C/4 s) no tempo de coagulação e na firmeza do gel de retentados de ultrafiltração e de leites não ultrafiltrados foram menos pronunciados no caso dos retentados. Submeter o retentado, ao invés do leite, a um tratamento térmico um pouco mais severo que a pasteurização poderia ser uma forma de aumentar a incorporação de proteínas do soro no queijo e também minimizar os efeitos adversos do tratamento térmico nas propriedades de coagulação e firmeza da coalhada.

Fernandez & Kosikowski (1986) avaliaram o efeito do uso de retentados de baixos FCs na produção de mussarela integral por acidificação direta e observaram ganhos em rendimento devido a maior recuperação de gordura e boas propriedades de derretimento. Informações sobre proteólise e aceitação sensorial não foram exploradas neste trabalho.

Em geral, o aumento da concentração de proteína obtido pela ultrafiltração permite que a coagulação ocorra mais rapidamente quando comparada à do leite, o que possibilitaria utilizar menor quantidade de coalho (Fox *et al.*, 2000a; Sachdeva *et al.*, 1995; Creamer *et al.*, 1987 **apud** Cunha, 2002). A firmeza da coalhada também aumenta com o aumento da concentração de proteína.

A concentração de proteína aumenta a capacidade tamponante dos retentados, o que requer maior quantidade de ácido produzido pela cultura ou a ser adicionado, no caso de queijos acidificados diretamente (del Prato, 1993; El-Gazzar & Marth, 1991).

O uso de retentados de ultrafiltração pode ser um meio de melhorar queijos com baixo e reduzido teor de gordura (McGregor & White, 1990), embora queijos obtidos a partir de retentados apresentem menor proteólise durante a maturação, em comparação

aos obtidos pelos processos convencionais, devido à inibição de enzimas do coalho e da plasmina pelas proteínas do soro (Rodríguez, 1998), em especial a β -lactoglobulina (Lo & Bastian, 1997). Outro fator que pode contribuir para um menor índice de proteólise é a menor quantidade de coagulante utilizada em queijos fabricados a partir de retentados (Fox *et al.*, 2000a), o que pode representar um aumento da vida útil do queijo, além de ser uma vantagem do ponto de vista econômico. Cunha (2002) não observou diferença significativa na proteólise entre queijos Minas Frescal de baixo teor de gordura obtidos a partir de diferentes retentados de baixo fator de concentração.

A literatura é rica em pesquisas sobre o uso de retentados de concentração total ou parcial na produção de queijos, incluindo os de baixo e reduzido teor de gordura. Os resultados obtidos na fabricação de queijos de baixo teor de gordura por ultrafiltração variam entre os diferentes autores, uns encontrando melhorias e outros não (Rodríguez, 1998). Podem contribuir para isso desde diferentes condições de fabricação, incluindo os fatores de concentração utilizados, até a variedade do queijo em questão.

Entretanto, o número de publicações sobre o uso de retentados de baixo fator de concentração na qualidade de queijos ainda é escasso (Cunha, 2002), incluindo-se queijo mussarela, o que reforça a necessidade de maiores estudos a respeito.

2.6. Textura de queijos – reologia e estrutura

A textura pode ser definida como um conjunto das propriedades reológicas e a forma como são percebidas pelos sentidos (Prentice *et al.*, 1993).

As propriedades reológicas do queijo são função de sua composição, microestrutura (arranjo estrutural de seus componentes), do estado físico-químico e das interações de seus componentes e de sua macroestrutura (presença de olhaduras, fissuras etc) (Fox *et al.*, 2000c) e mudanças nestes fatores podem acarretar alterações do seu comportamento reológico.

A força aplicada por unidade de área de um material sólido é chamada de tensão (σ ou τ). Se a atuação da força for perpendicular à superfície, a tensão é dita normal (σ). A deformação resultante é definida como deformação normal (ϵ) e corresponde ao módulo de elasticidade ou módulo de Young (E), que pode ser expresso como (Rao, 1992):

$$E = \sigma/\varepsilon$$

Se a força atua paralelamente à superfície do material, é chamada de tensão de cisalhamento (τ) e a deformação resultante é designada deformação de cisalhamento (γ), que corresponde ao módulo de rigidez (G). Este pode ser expresso como (Rao, 1992):

$$G = \tau/\gamma$$

Se o material é perfeitamente elástico, a magnitude da deformação é proporcional à magnitude da força aplicada, independentemente do tempo, ou seja, os módulos E e G são constantes. A curva tensão-deformação é sempre linear. Um material idealmente elástico deforma-se sob a aplicação de uma força e depois retorna à posição inicial quando a força é removida (Fox *et al.* 2000c).

No caso de um fluido viscoso ideal (Newtoniano), a tensão de cisalhamento (τ) é proporcional à taxa de deformação ($d\gamma/dt$). A constante de proporcionalidade é conhecida como coeficiente de viscosidade (η) e é definida como:

$$\eta = \tau/(d\gamma/dt)$$

Entretanto, os queijos são considerados materiais viscoelásticos, ou seja, apresentam comportamento tanto de sólido elástico como de líquido viscoso. A viscoelasticidade dos queijos resulta da contribuição individual e da interação entre seus constituintes – proteína, gordura e água (Fox *et al.*, 2000c). O modelo reológico mais simples é o corpo de Maxwell, composto por um elemento elástico e um elemento viscoso em série.

O teste de relaxação é uma das maneiras de medir o comportamento viscoelástico de alimentos. Este teste envolve a aplicação de uma deformação instantânea à amostra e a manutenção desta deformação ao longo do teste. A forma com que o corpo reage à tensão aplicada é monitorada em função do tempo.

As curvas de relaxação podem ser utilizadas para calcular o módulo de elasticidade em função do tempo (Rao, 1992). Em uma curva de relaxação típica ocorre uma queda exponencial da tensão até um valor constante, diferente de zero. Assim, o corpo de Maxwell não é capaz de descrever o comportamento reológico, sendo necessária a adição de um elemento elástico para representar a tensão residual. Em geral, utilizam-se modelos compostos por dois ou mais corpos de Maxwell em paralelo,

com ou sem elemento elástico, também em paralelo, para representar a tensão residual. O modelo generalizado de Maxwell é representado pela seguinte equação:

$$E(t) = E_1 \cdot e^{-t/\tau_1} + E_2 \cdot e^{-t/\tau_2} + \dots + E_n \cdot e^{-t/\tau_n} + E_{n+1}$$

Para a maioria dos casos, modelos com dois corpos de Maxwell e um elemento elástico são suficientes para representar o comportamento mecânico do material (Rao, 1992).

Outra forma de se avaliar propriedades reológicas de queijos são os testes de compressão uniaxial. Nestes testes, a deformação aplicada é suficientemente grande para causar a fratura do material (Fox, 2000c) e podem ser obtidas propriedades como módulo de elasticidade (E), tensão de ruptura (σ_{rup}), deformação de ruptura (ϵ_{Hrup}), tensão máxima ($\sigma_{máx}$). Estas propriedades podem ser correlacionadas com parâmetros sensoriais como elasticidade (E), dureza (σ_{rup}) e firmeza ($\sigma_{máx}$) e outros (Fox *et al.*, 2000c).

O principal componente responsável pela estrutura do queijo é a caseína, a qual forma uma rede cuja rigidez depende do grau de abertura, da quantidade de água ligada à matriz protéica e da presença de gordura e água livre (Prentice *et al.*, 1993). Segundo Oberg *et al.* (1993), a microestrutura da mussarela consiste em cavidades contendo gordura separadas pelas longas e fibrosas estruturas da matriz protéica.

Em queijos de reduzido teor de gordura a matriz protéica exerce influência predominante e quanto maior a redução da gordura, a textura se torna mais firme e borrachenta (Mistry & Anderson, 1993). Durante a maturação, a proteólise enfraquece a matriz protéica, o que reduz a firmeza e a dureza do queijo. Rudan *et al.* (1999) observaram uma relação direta entre a proteólise e a razão umidade:proteína em mussarela de reduzido teor de gordura. Quanto maior essa relação mais intensa a proteólise, que é considerada o principal fator responsável pelo amolecimento inicial da textura de queijos.

O estado físico da gordura também influencia as propriedades reológicas. A baixas temperaturas (<5°C), a gordura está predominantemente no estado sólido e contribui para o aumento da rigidez e da elasticidade da matriz de caseína. Com o aumento da temperatura, a gordura se comporta mais como um fluido e confere viscosidade ao queijo, o que reduz a elasticidade, a dureza e a firmeza do queijo (Fox *et al.*, 2000c).

2.7. Propriedades funcionais da mussarela

A mussarela para pizza deve apresentar algumas características particulares como textura macia, capacidade de derretimento controlada, coloração amarela, durante o assamento, não apresentar escurecimento excessivo, ter uma distribuição uniforme de bolhas e baixa liberação de óleo.

Ao longo do tempo de armazenamento, observa-se um enfraquecimento da matriz protéica do queijo, que ocorre fundamentalmente em virtude da ação proteolítica do coalho ou coagulante residual. Este evento, denominado proteólise primária, está associado a um aumento da capacidade de derretimento e de retenção de água do queijo, aumento da liberação de óleo livre e redução da firmeza e elasticidade.

Oliveira (2001) observou um aumento da capacidade de derretimento em queijo mussarela ao longo do tempo de armazenamento. Este fato está ligado ao aumento nos níveis de proteólise primária, que foram tanto maiores quanto maior a quantidade de coagulante empregada na fabricação do queijo.

Guo & Kindstedt (1995) observaram o decréscimo de soro expelido, medido através do método de separação de água por centrifugação, com o aumento do tempo de estocagem e atribuíram o fato a um aumento na capacidade de absorção de água pela matriz de caseína. Para a funcionalidade do queijo, esta hidratação da matriz protéica combinada com as propriedades de lubrificação dos glóbulos de gordura, tem como resultado um significativo aumento na capacidade de derretimento. McMahon *et al.* (1999) verificaram ausência de liberação de soro aos 21 dias de armazenamento de mussarela integral e de reduzido teor de gordura. O decréscimo na liberação de soro foi acompanhado pela expansão da matriz protéica para os canais de gordura e soro. A capacidade de retenção de água é favorecida com o aumento na relação sal:umidade, visto que o NaCl promove uma maior hidratação da matriz protéica (Paulson *et al.*, 1998); McMahon & Oberg, 1998; Guo *et al.*, 1997).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Ultrafiltração do leite

Em virtude da capacidade da planta piloto, o processo de fabricação do queijo foi dividido em quatro etapas distintas, cada etapa consistindo em um dia de processo: 1) padronização e pasteurização do leite; 2) ultrafiltração do leite; 3) fabricação das massas e; 4) filagem.

Leite cru tipo B (340 kg) proveniente da Cooperativa de Produtores de Leite de Campinas (CPLC) foi desnatado e padronizado a um teor de gordura de 1,6% com leite integral e/ou creme. O leite padronizado foi pasteurizado em trocador de calor a placas a 72°C/15 s, resfriado a 5°C e armazenado em latões de 50 litros em câmara fria a temperatura menor que 5°C durante a noite. O fluxograma das etapas de padronização e pasteurização do leite é mostrado na *Figura 3.1*.

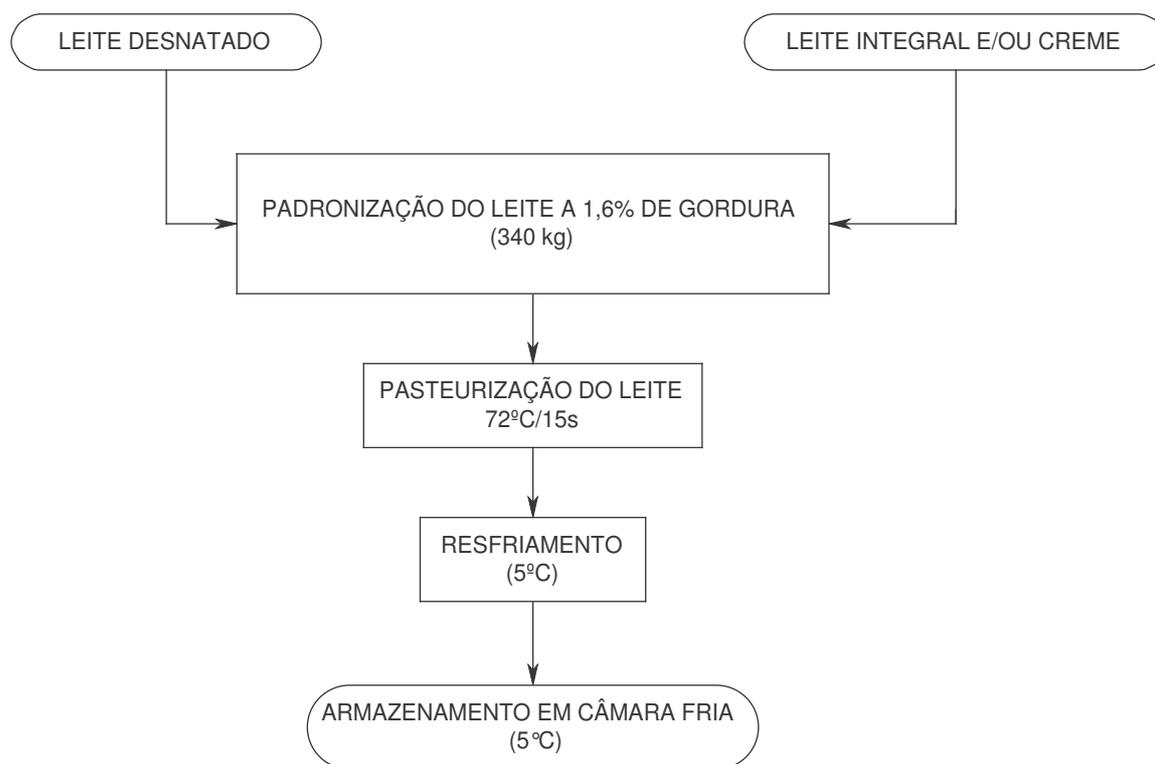


FIGURA 3.1. Fluxograma das etapas de padronização e pasteurização do leite utilizado na ultrafiltração e fabricação do queijo controle (1º dia de processo).

No dia seguinte, dois terços do leite (cerca de 230 kg) foram acidificados a 4°C até pH 5,62-5,65 com ácido acético (marca Synth) diluído a 10% em um tanque de resfriamento com agitação. Após estabilização do pH, o leite acidificado foi aquecido a 50°C e então concentrado por ultrafiltração em uma unidade piloto dotada de membrana tipo *hollow fiber* de polissulfona, marca Romicon®, com peso molecular de corte de 10 kDa e área superficial de 1,4 m². As condições operacionais (Cunha, 2002) utilizadas foram: pressão transmembrana de 1,2 kgf/cm² (pressão de entrada de 1,6 kgf/cm²; pressão de saída de 0,8 kgf/cm²) e vazão volumétrica de 4 m³/h. A *Figura 3.2.* mostra o esquema da unidade piloto de ultrafiltração. Antes da realização de cada ensaio, a membrana foi submetida a procedimento de sanitização descrito no *Anexo I* (item 4.) e armazenada até o momento de sua utilização em solução de hipoclorito de sódio 20 mg/kg.

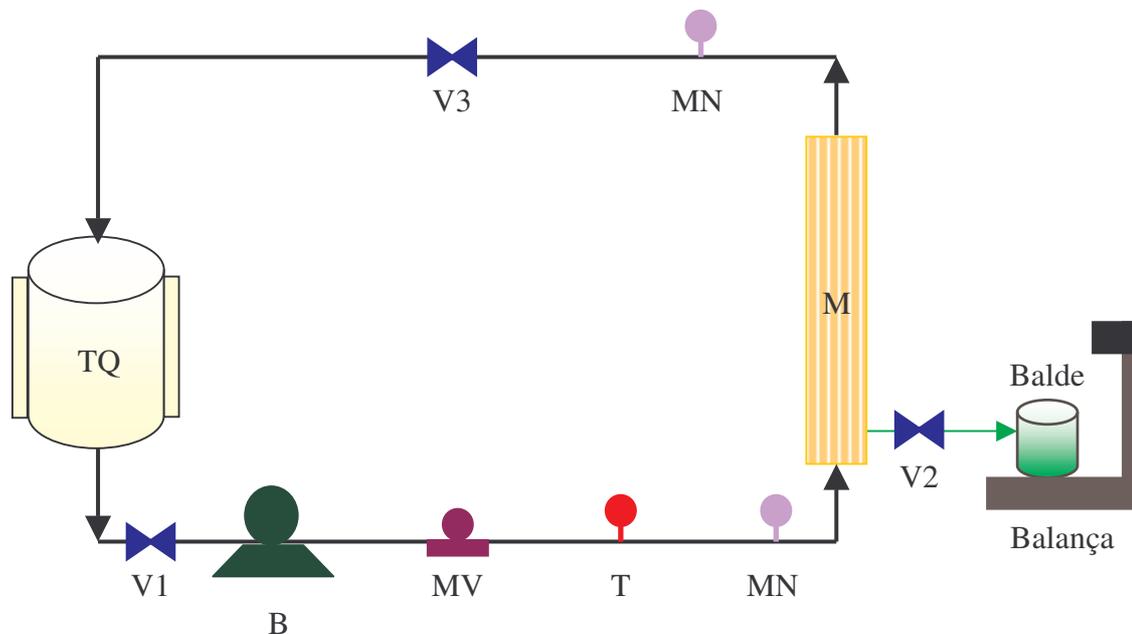


FIGURA 3.2. Esquema da unidade piloto de ultrafiltração. TQ: tanque encamisado. V1, V2: válvulas borboleta. V3: válvula agulha. B: bomba tipo helicoidal. MV: medidor magnético de vazão. T: termômetro. M: membrana. MN: manômetros.

O leite foi então concentrado até fator de concentração (FC) 2,5. O FC foi calculado de acordo com a equação abaixo:

$$FC = \frac{\text{massa de leite (kg)}}{\text{massa de leite (kg)} - \text{massa de permeado (kg)}} \quad (1)$$

Como a gordura apresenta um coeficiente de retenção de 100%, o FC foi recalculado (FC_R) com base nos teores de gordura do leite e do retentado:

$$FC_R = \frac{\text{teor de gordura do retentado (\%)}}{\text{teor de gordura do leite (\%)}} \quad (2)$$

A quantidade de leite a ser utilizada em cada tratamento (FC 1,4 e FC 1,8) foi de cerca de 110 litros, a qual foi baseada na quantidade de queijo necessária para as análises a serem realizadas.

Após cada ensaio, foi realizado processo de limpeza e sanitização da membrana, cujo procedimento é descrito no *Anexo I*, a fim de recuperar a sua capacidade de permeação original (ou, no mínimo, 95% do fluxo de permeado inicial).

Retentado e permeado foram resfriados e armazenados em câmara fria a 5°C até o dia seguinte. O restante do leite (cerca de 110 kg), a ser utilizado na fabricação do queijo controle (leite não concentrado), permaneceu armazenado em câmara fria até o momento de sua utilização. O fluxograma da etapa de ultrafiltração é apresentado na *Figura 3.3*.

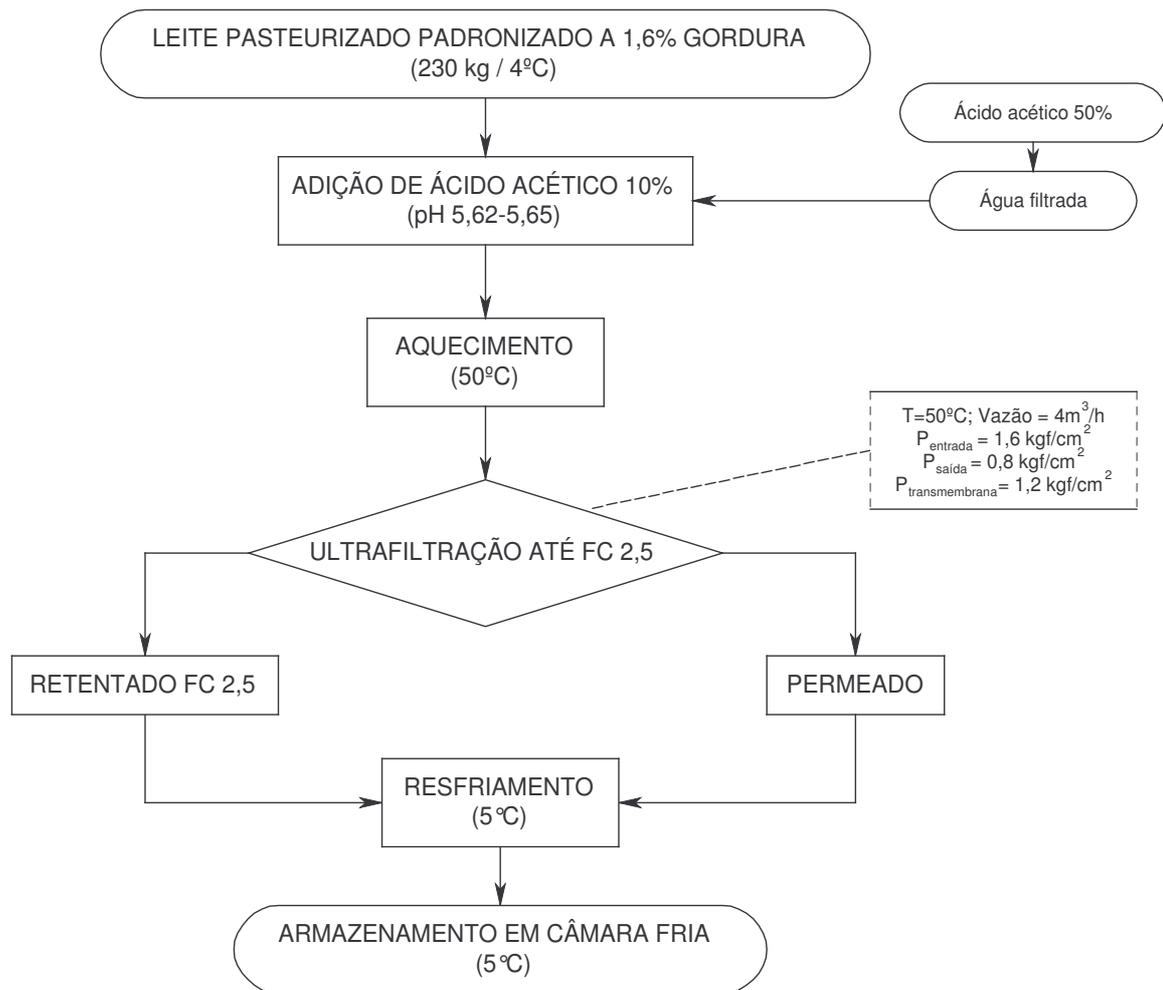


FIGURA 3.3. Fluxograma da etapa de ultrafiltração do leite (2º dia de processo).

3.2. Fabricação do queijo

Foram realizados três experimentos (blocos), cada um englobando os três tratamentos estudados (Controle, FC 1,4 e FC 1,8). Cada experimento foi realizado em triplicata, o que resultou em um total de nove ensaios, previamente aleatorizados dentro de cada bloco para efeito da ordem de execução.

A metodologia empregada para a produção dos queijos foi a proposta por Kosikowski & Mistry (1997), modificada por Viotto & Oliveira (1998). As modificações de Viotto & Oliveira (1998) constituem na agitação da massa a 41°C e a salga na massa em duas etapas, para se obter um queijo de composição constante e homogênea. Com base em experimentos exploratórios realizados, a temperatura de

coagulação foi reduzida de 41°C para 37°C, a fim de se evitar a coagulação praticamente instantânea dos retentados.

O retentado de FC 2,5 foi dividido em duas partes iguais, equivalentes a 110 kg de leite não concentrado, às quais foi adicionado permeado em quantidade suficiente para obtenção dos retentados de FC 1,4 e FC 1,8. Esta operação foi realizada no início da etapa de fabricação das massas dos queijos.

Um dos retentados (FC 1,4 ou FC 1,8) ou leite (controle) era transferido para o tanque de fabricação automático (Queijomatic, da Biasinox[®]), dotado de camisa de aquecimento a vapor, de acordo com a ordem do sorteio previamente realizado. No caso do queijo controle, o leite foi acidificado a 4°C até pH 5,62-5,65 no dia da fabricação do queijo e, após estabilização do pH, transferido para o tanque de fabricação.

Os retentados e o leite (controle) já acidificados foram aquecidos a 37°C e 200 mg/kg de cloreto de cálcio (em solução a 50%) foram adicionados. Para coagular o leite, utilizou-se coalho bovino líquido marca Omega[®] (Pastorinha Produtos Enzimáticos Ltda). A quantidade de coalho adicionada foi equivalente à necessária para coagular o leite padronizado não ultrafiltrado a pH 5,65 em aproximadamente 30 minutos. Após adição do coalho, o leite/retentado foi deixado em repouso absoluto até verificação do “ponto de corte” (fenda retilínea). A coalhada foi cortada em cubos de cerca de 1,5 cm de aresta durante 3 minutos. A velocidade de corte foi aumentada progressivamente a cada minuto devido à fragilidade inicial da coalhada.

Após o corte, procedeu-se a dessoragem rapidamente para se evitar excessiva desmineralização da coalhada. A massa foi então picada manualmente em pedaços de cerca de 8 x 6 x 2 cm, aquecida a 41°C (com aumento de 1°C a cada 3 min) e agitada por 10 minutos, mantendo-se a temperatura a 41°C. A salga foi efetuada na massa (3,8% cloreto de sódio, p/p, marca Cisne[®]) em duas aplicações, agitando-se a massa para incorporação do sal durante 1 minuto, com 3 minutos de intervalo entre as duas aplicações. Durante a salga, a temperatura média da massa foi mantida a 41°C. A massa foi picada em cubos de aproximadamente 1 cm de aresta utilizando-se um picador de legumes e armazenada em recipientes hermeticamente fechados em câmara fria.

O fluxograma da fabricação da massa do queijo é apresentado na *Figura 3.4*.

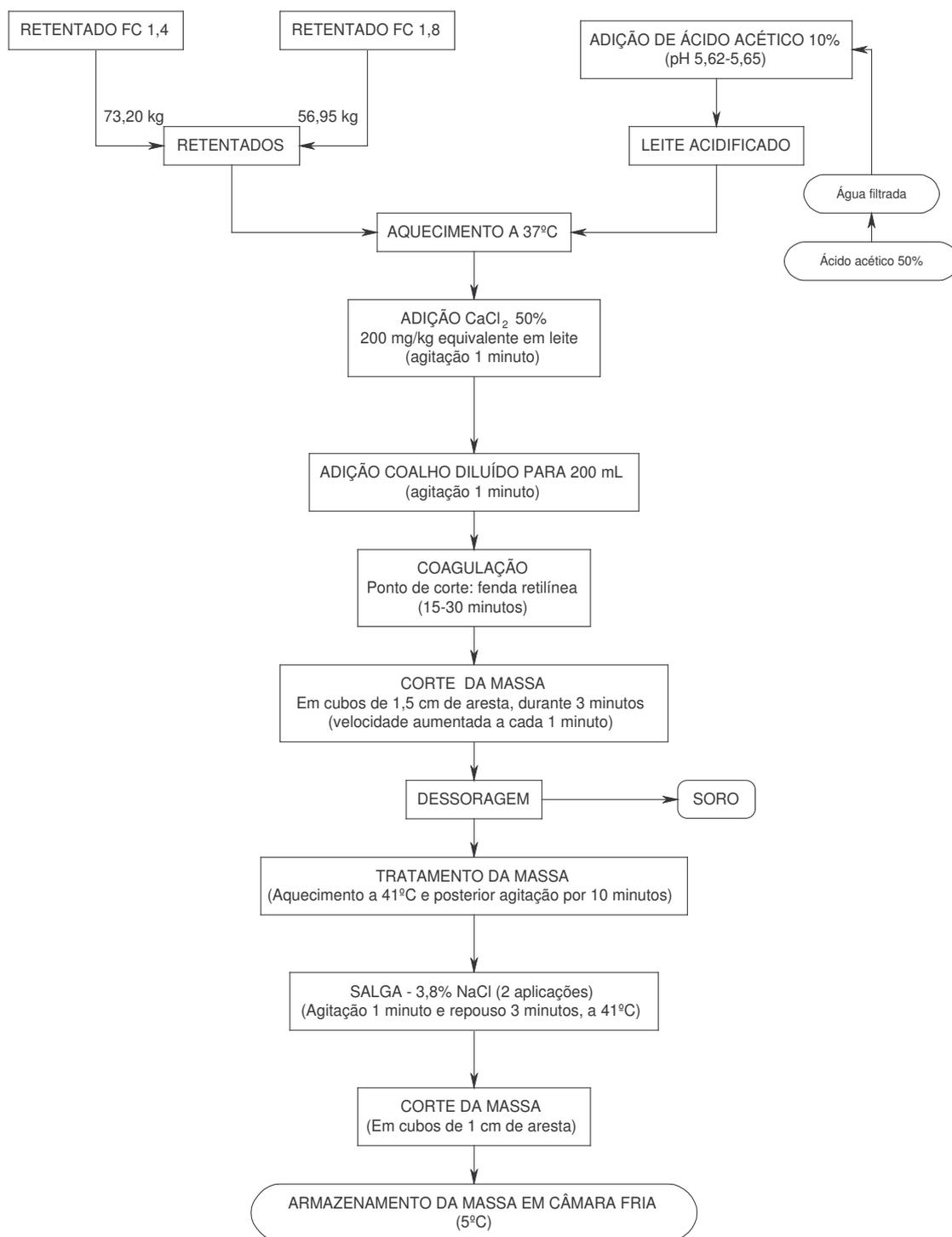


FIGURA 3.4. Fluxograma da etapa de fabricação das massas dos queijos a partir de leite não concentrado e de retentados de baixo fator de concentração (3º dia de processo).

No dia seguinte, procedeu-se a filagem manualmente em água a 78-80°C, até se atingir 60°C no centro da massa. Os queijos foram resfriados em banho de gelo por cerca de 1 hora e mantidos em estufa B.O.D. (Electrolux R360) a 4°C até o dia seguinte (cerca de 16 horas), para secagem. O dia da filagem foi considerado o 1º dia de fabricação. Os queijos foram então colocados em embalagens plásticas Cryovac®, embalados a vácuo em embaladeira Selovac 200B e mantidos a 4°C em B.O.D. até o momento das análises. O fluxograma da etapa final (filagem) de fabricação do queijo é mostrado na *Figura 3.5*.

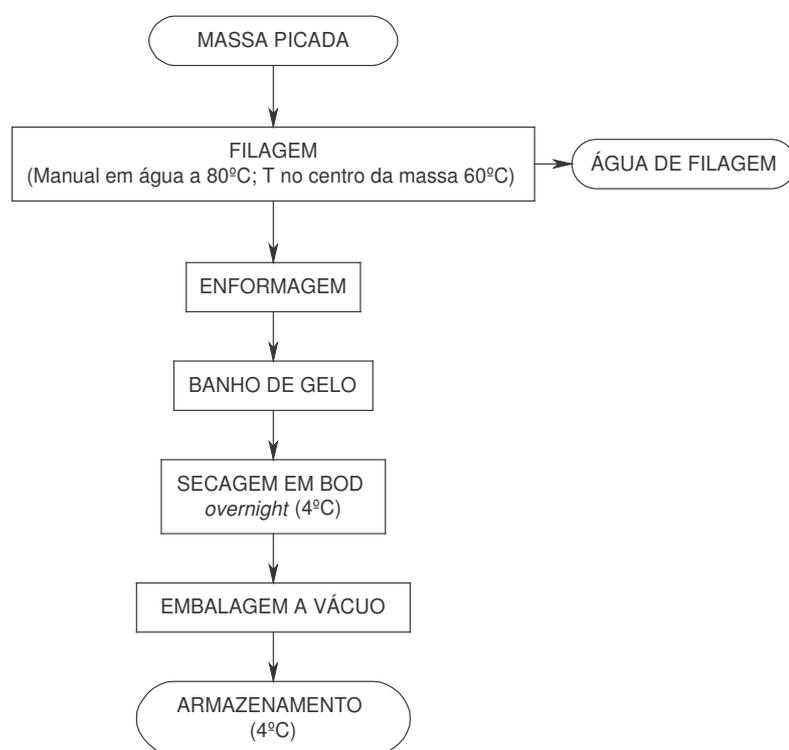


FIGURA 3.5. Fluxograma da etapa de filagem da massa (4º dia de processo).

Todo o soro e água de filagem foram recolhidos e homogeneizados, pesados e amostrados para efeito dos cálculos de rendimento e recuperação de gordura e proteína.

3.3. Preparo das amostras de queijo para as análises

Os queijos foram tomados aleatoriamente. Para todas as análises, foram retiradas e desprezadas fatias de aproximadamente 0,5 cm das laterais e das partes superior e inferior. A parte restante (central) foi preparada em função de cada tipo de análise.

Para as análises de composição química, pH, acidez titulável, proteólise, capacidade de retenção de água, óleo livre e cor do queijo derretido, a parte central da peça foi cortada em cubos de cerca de 1,5 cm e triturada em multiprocessador, até obtenção de partículas de 2-3 mm. O material assim obtido foi homogeneizado manualmente e acondicionado em frascos plásticos, sem espaço livre. As amostras foram mantidas sob refrigeração (4-8°C) até o momento das análises.

Para as análises reológicas, capacidade de derretimento, cor do queijo não derretido, microestrutura e aceitação sensorial do queijo foram adotados preparos diferenciados das amostras, detalhados nos itens 3.7.4., 3.7.5.2., 3.7.5.4., 3.8. e 3.9, respectivamente.

3.4. Análises de composição química

3.4.1. Análises do leite, retentado, permeado, soro e água de filagem

A acidez titulável (Marshall, 1992, método 15.3.B) e o pH do leite, retentado, soro e água de filagem foram monitorados durante o processamento. O pH foi determinado em potenciômetro marca Digimed, modelo DM20, previamente calibrado. Leite, retentado, permeado, soro e água de filagem foram analisados quanto aos teores de: extrato seco total, pelo método gravimétrico, em estufa a 105°C por 16 h (AOAC 925.23); gordura, pelo método de extração etérea de Mojonnier (AOAC 989.05); nitrogênio total, pelo método de Kjeldahl (AOAC 991.20); nitrogênio não protéico, pela metodologia descrita por Aschaffenburg & Drewry (1959), seguida do método de Kjeldahl (AOAC 991.21). Leite e retentado foram analisados também quanto ao teor de nitrogênio não caseíco, usando a metodologia desenvolvida por Rowland (1938), seguida do método de Kjeldahl (AOAC 991.21). Os valores de nitrogênio foram multiplicados por 6,38 para obtenção dos valores equivalentes em proteína. Os teores de cálcio foram determinados no leite, retentado, permeado, soro e água de filagem pelo método de digestão úmida com ácido nítrico, seguida de titulação com EDTA, na presença de murexida (Taras, 1995).

Todas as análises foram realizadas em triplicata, exceto acidez titulável, que foi realizada em duplicata.

3.4.2. Análises do queijo

No 4º dia do armazenamento refrigerado, os queijos foram avaliados quanto aos teores de: extrato seco total, pelo método gravimétrico, em estufa a 105°C por 16 h (AOAC 925.23); gordura, pelo método de Gerber (Kosikowski & Mistry, 1997); sal, pelo método de Volhard (Richardson, 1985); nitrogênio total (AOAC 991.20); nitrogênio não caséico e nitrogênio não protéico conforme descrito por Bynum & Barbano (1985), seguido do método de Kjeldahl (AOAC 991.21). Os valores de nitrogênio total, nitrogênio não caséico e nitrogênio não protéico foram multiplicados por 6,38 para obtenção dos valores equivalente em proteína. O teor de cálcio foi determinado pelo método de digestão úmida com ácido nítrico, seguida de titulação com EDTA, na presença de murexida (Taras, 1995).

Todas as análises foram realizadas em triplicata, exceto acidez titulável e gordura, que foram feitas em duplicata.

3.5. Cálculos de recuperação de gordura e proteína

As recuperações de gordura e proteína são de grande importância na fabricação de queijos, pois além de exercerem influência direta no rendimento, podem vir a afetar características funcionais, reológicas e sensoriais.

A porcentagem de recuperação (%R) de cada componente nas amostras e a recuperação total foram calculadas através das equações (3) e (4), respectivamente:

$$\%R \text{ componente} = \frac{\text{massa amostra} \times \% \text{ componente amostra}}{\text{massa matéria-prima} \times \% \text{ componente matéria-prima}} \times 100 \quad (3)$$

onde *amostra* representa soro, água de filagem ou queijo; *componente*, gordura ou proteína; e *matéria-prima*, leite ou retentado.

A recuperação total (RT) de gordura e proteína foi calculada de acordo com a equação (4):

$$RT = \%R \text{ soro} + \%R \text{ água de filagem} + \%R \text{ queijo} \quad (4)$$

A recuperação total dificilmente é igual a 100% devido ao acúmulo de erros experimentais. Para neutralizar as pequenas diferenças ocorridas de um tanque para outro, a recuperação de gordura e proteína foi recalculada através da padronização dos valores para 100%.

3.6. Cálculos de rendimento

3.6.1. Rendimento real

O rendimento real foi calculado através da equação abaixo:

$$\text{Rendimento Real} = \frac{\text{massa queijo após secagem (kg)}}{\text{massa inicial leite (kg)}} \quad (5)$$

No caso dos retentados, a massa inicial de leite foi obtida pela multiplicação da massa do retentado pelo seu fator de concentração corrigido (FC_R).

3.6.2. Rendimento ajustado

Como há variações nos teores de umidade e sal dos queijos, o rendimento ajustado (RAJ) foi calculado para efeito de comparação entre os tratamentos, como descrito por Lau *et al.* (1990). Foram considerados teores desejados de sal de 1,5% e umidade de 55%.

O rendimento ajustado foi calculado pela equação (6):

$$\text{RAJ} = \frac{(\text{rendimento real}) [100 - (\% \text{ umidade} + \% \text{ sal})]}{100 - (\% \text{ umidade desejada} + \% \text{ sal desejada})} \quad (6)$$

3.7. Mudanças ocorridas durante o armazenamento refrigerado

3.7.1. Avaliação do pH e da acidez titulável

Nos dias 4, 11, 18, 25 e 32 do armazenamento refrigerado a 4°C, o pH e a acidez titulável do queijo foram avaliados.

O pH do queijo foi determinado em triplicata, através de método potenciométrico, utilizando-se pH-metro marca Digimed, modelo DM20, conforme AOAC 935.17.

A determinação da acidez titulável do queijo foi realizada em duplicata, conforme Richardson (1985). A amostra (10 g) foi homogeneizada com 95 mL de água destilada a 60°C por 10 segundos em velocidade mínima e 50 segundos em velocidade máxima com o auxílio de um homogeneizador, para extração do ácido láctico. Em seguida, o material foi deixado por 15 minutos em congelador e filtrado em papel de filtro qualitativo. A partir de uma alíquota de 25 mL do filtrado, determinou-se a acidez por titulação com NaOH 0,1N e o resultado foi expresso em porcentagem de ácido láctico.

3.7.2. Nitrogênio solúvel a pH 4,6 e em TCA 12%

Os teores de nitrogênio solúvel em tampão acetato a pH 4,6 e em ácido tricloroacético 12% foram determinados nos dias 4, 11, 18, 25 e 32 do armazenamento a 4°C. O teste foi realizado em triplicata, de acordo com Bynum & Barbano (1985), seguido por macro Kjeldahl (AOAC 991.21). A eletroforese foi realizada nos dias 4 e 32 do armazenamento refrigerado.

Os índices de extensão e de profundidade da proteólise foram calculados segundo as equações (7) e (8), respectivamente:

$$\text{Extensão da proteólise} = \frac{\% \text{ nitrogênio solúvel a pH 4,6}}{\% \text{ nitrogênio total}} \times 100 \quad (7)$$

$$\text{Profundidade da proteólise} = \frac{\% \text{ nitrogênio solúvel em TCA 12\%}}{\% \text{ nitrogênio total}} \times 100 \quad (8)$$

3.7.3. Eletroforese

A eletroforese em gel de uréia poliacrilamida (uréia-PAGE) foi realizada em uma unidade vertical Protean III xi (Bio-Rad[®]), pelo método descrito por Farkye *et al.* (1991). A concentração do gel de separação foi 12,5% e de concentração, 4%.

Os géis foram corados com Brilliant Blue G, seguindo-se metodologia descrita por Blakesley & Boezi (1977). A quantidade de queijo utilizada no preparo dos extratos para a eletroforese foi calculada para se obter o equivalente a 0,4% de proteína (cerca de 16-18 mg de queijo). Após adição de 1 mL de tampão, as amostras foram mantidas em banho-maria a 37°C durante 1 hora. Em seguida, foram adicionados 5 µL de 2-mercaptoetanol e as amostras foram mantidas por mais 45 minutos a 37°C. Foram aplicados 5 µL de amostra e 5 µL de padrão no gel. O tampão para dissolução da amostra foi preparado a partir de um volume de 200 mL de água destilada, 1,5 g de trishidroximetil aminometano (TRIS), 84 g de uréia, ácido clorídrico concentrado até pH 6,7 e 0,1 g de azul de bromofenol. A separação das amostras foi feita a 200 V até o corante indicador (azul de bromofenol) atingir o final do gel (cerca de 3 a 4 horas). Os géis foram corados por imersão na solução corante durante 1 noite e descorados com água destilada.

3.7.4. Análises reológicas

O comportamento reológico dos queijos foi avaliado nos dias 5, 12, 19, 26 e 33 do armazenamento refrigerado. Foi utilizado texturômetro TA-XT2I, da Texas Instruments, ajustado com célula de carga de 50 kg. Foram realizados testes de compressão uniaxial e relaxação. Durante os ensaios, as amostras foram comprimidas por uma placa de alumínio de 35 mm de diâmetro, não lubrificada. As determinações foram realizadas em seis replicatas.

As amostras consistiram de cilindros retirados com o auxílio de uma sonda de 20 mm de diâmetro interno (*Figura 3.6.-B*) e cortados transversalmente (*Figura 3.6.-A*) para adquirirem uma altura de 24 mm. Os cilindros foram retirados de forma a se ter uma amostra representativa de cada peça de queijo. Os cilindros foram embalados individualmente em filme de PVC e posteriormente em sacos plásticos resistentes à penetração de líquidos e mantidos em banho de água gelada a 10°C durante pelo menos 1 hora e 30 minutos antes do início dos testes.

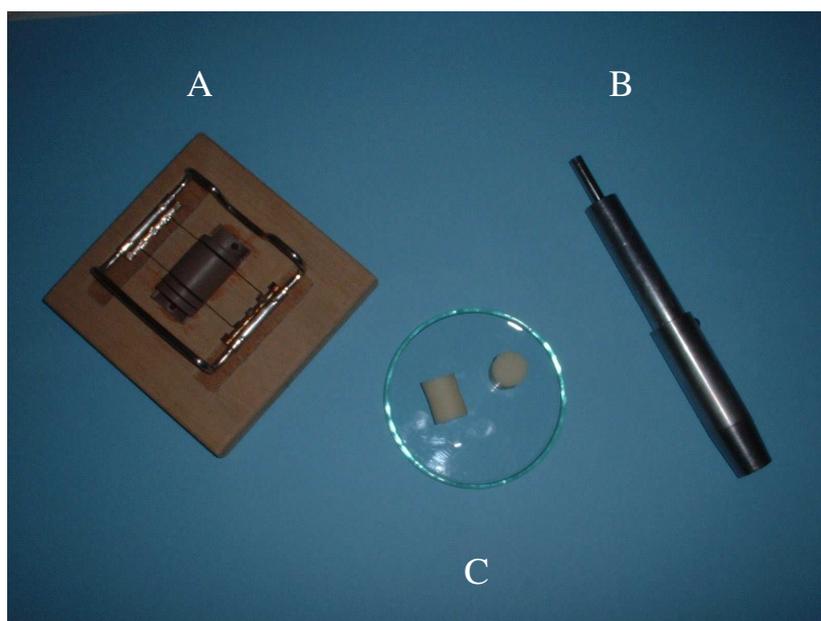


FIGURA 3.6. Material utilizado na amostragem do queijo para as análises reológicas. A) Cortador. B) Sonda de aço inox. C) Amostras de queijo para análise.

3.7.4.1. Teste de compressão uniaxial

As amostras foram comprimidas até 80% de sua altura inicial, com uma velocidade de compressão de 1 mm/s e os valores da força ao longo do tempo de compressão foram coletados.

A partir dos dados obtidos foram calculadas a deformação de Hencky (ϵ_H) e a tensão (σ). A deformação de Hencky (ϵ_H) foi calculada pela equação (9):

$$\epsilon_H = - \ln [(H(t))/H_0], \quad (9)$$

onde t é o tempo contado a partir do contato entre a placa superior e a amostra, $H(t)$ é a altura da amostra no tempo t e H_0 é a altura da amostra antes da deformação.

A tensão (σ) foi calculada pela equação (10):

$$\sigma = F(t)/A(t), \quad (10)$$

onde $F(t)$ e $A(t)$ são, respectivamente, a força aplicada e a área da secção transversal da amostra no tempo t .

Assumindo deformação cilíndrica e a volume constante, temos que:

$$A(t) = A_0.H_0 / [H_0 - \Delta H(t)], \quad (11)$$

onde A_0 é a área inicial da secção transversal da amostra e $\Delta H(t)$, a diferença $H_0 - H(t)$ no tempo t .

Assim, substituindo (11) em (10), temos que a tensão (σ) é dada por:

$$\sigma = [F(t)/A_0] \times [H(t)/H_0] \quad (12)$$

As propriedades mecânicas do queijo: tensão de ruptura (σ_{rup}), deformação de ruptura (ϵ_{Hrup}), módulo de elasticidade (E), tensão máxima ($\sigma_{máx}$), e trabalho de ruptura (W_{rup}) foram obtidas a partir da curva tensão-deformação (σ - ϵ_H).

A tensão de ruptura (σ_{rup}) foi determinada como a tensão no primeiro ponto de máximo da curva σ - ϵ_H e a deformação de ruptura (ϵ_{Hrup}) como a deformação correspondente. A parte inicial da curva apresentou comportamento linear e seu coeficiente linear foi calculado como o módulo de elasticidade (E). A tensão máxima ($\sigma_{máx}$) foi determinada como a tensão quando a amostra foi comprimida a 80% de sua altura inicial. O trabalho de ruptura (W_{rup}) foi determinado como área sob a curva σ - ϵ_H até o ponto de ruptura. A curva foi ajustada para um polinômio de grau 10, com ordenada na origem para facilitar os cálculos:

$$\sigma_{rup} = \sum_{i=1}^{10} a_i . \epsilon^i \quad (13)$$

O trabalho de ruptura (W_{rup}) foi então calculado conforme a equação (14):

$$W_{rup} = \int_0^{\epsilon} \sigma_{rup} . d\epsilon \quad (14)$$

3.7.4.2. Teste de relaxação

No teste de relaxação, as amostras foram comprimidas a 10% de sua altura inicial e a queda da força foi medida durante 10 minutos após a deformação da amostra, considerada instantânea. A velocidade de compressão foi de 1 mm/s.

A curva de relaxação foi expressa adimensionalmente conforme a relação abaixo:

$$F^*(t) = F(t)/F_0, \quad (15)$$

onde $F(t)$ é a força instantânea no tempo t e F_0 é força inicial (imediatamente após a parada do probe).

As curvas de $F^*(t)$ foram então ajustadas a um modelo viscoelástico com dois corpos de Maxwell e um elemento elástico em paralelo conforme a equação a seguir:

$$F^*(t) = S_0 + S_1 \cdot \exp(-t/\tau_1) + S_2 \cdot \exp(-t/\tau_2), \quad (16)$$

onde S_0 , S_1 e S_2 são constantes dependentes das propriedades viscoelásticas do material e τ_1 e τ_2 são os tempos de relaxação.

Os valores E_0 , E_1 e E_2 foram obtidos a partir dos coeficientes S_0 , S_1 e S_2 de acordo com a equação abaixo:

$$E_i = S_i \cdot F_0 / \epsilon \cdot A_0, \quad i = 0, 1, 2 \quad (17)$$

onde A_0 é a área de compressão e $\epsilon = 1 - (H/H_0)$ é a deformação.

O valor E_0 é o módulo de elasticidade de equilíbrio, ou o módulo de elasticidade a um tempo infinito, e os valores E_1 e E_2 , os módulos de elasticidade dos elementos 1 e 2 do modelo.

A equação (16) também pode ser escrita em termos do módulo de elasticidade:

$$E(t) = E_0 + E_1 \cdot \exp(-t/\tau_1) + E_2 \cdot \exp(-t/\tau_2) \quad (18)$$

O valor da viscosidade do elemento i (η_i) foi obtido através da equação abaixo:

$$\eta_i = E_i \cdot \tau_i \quad (19)$$

3.7.5. Propriedades funcionais

Nos dias 4, 11, 18, 25 e 32 de armazenamento refrigerado, os queijos foram avaliados quanto a sua capacidade de derretimento. Nos dias 5, 12, 19, 26 e 33, foram acompanhadas a capacidade de retenção de água, a liberação de óleo livre e a cor dos queijos.

3.7.5.1. Capacidade de retenção de água

A capacidade de retenção de água do queijo foi analisada pelo método descrito por Guo & Kindstedt (1995). O preparo da amostra foi o mesmo que para as análises de composição. A amostra homogeneizada (160 g) foi centrifugada a 12.500 g por 75 min a 25°C em centrífuga de alta velocidade. A fase aquosa foi transferida quantitativamente para um béquer com o auxílio de uma pipeta e, após total remoção da camada de óleo, pesada em balança semi-analítica.

A quantidade de água retida no queijo (AR) foi expressa em função do teor de proteína, conforme a equação (20).

$$AR = \frac{(\text{massa amostra} \times \% \text{ umidade amostra}) - \text{massa água liberada}}{\text{massa amostra} \times \% \text{ proteína amostra}} \quad (20)$$

3.7.5.2. Capacidade de derretimento

O teste foi realizado em sextuplicata segundo o método de Schreiber, conforme descrito por Kosikowski & Mistry (1997).

Para avaliação da capacidade de derretimento, foi retirado um cilindro da parte central da peça com o auxílio de uma sonda de aço inox de 36 mm de diâmetro interno (*Figura 3.7.-B*). O cilindro foi fracionado transversalmente com um fatiador de ovo modificado (*Figura 3.7.-A*) para se obterem cilindros de 6 mm de altura. As fatias das extremidades foram desprezadas.

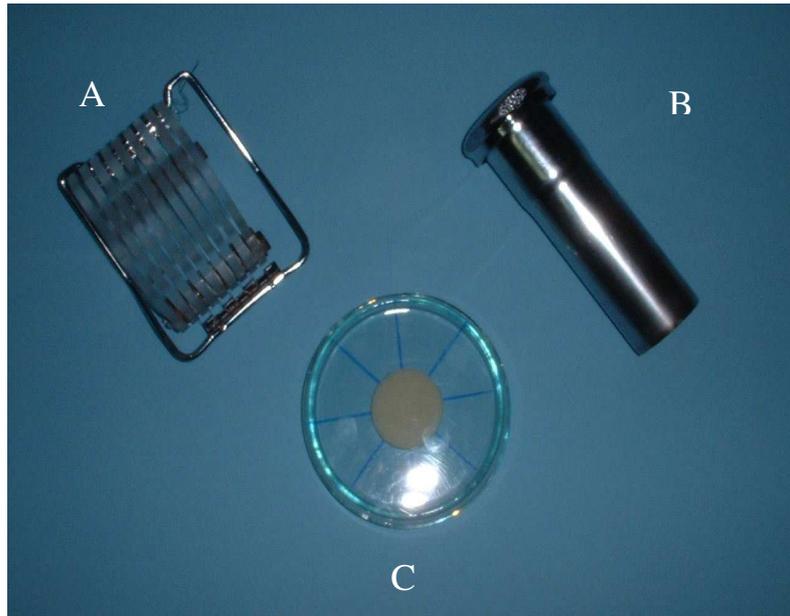


FIGURA 3.7. Material utilizado na amostragem e na análise da capacidade de derretimento do queijo. A) Fatiador. B) Sonda de aço inox. C) Placa de Petri e amostra.

Cada fatia foi colocada no centro de uma placa de Petri (vide *Figura 3.7.-C*) e, após 30 minutos a temperatura ambiente, o diâmetro de cada cilindro foi medido. As amostras de queijo resultantes apresentaram diâmetro interno médio de 33 mm.

As placas foram então levadas a uma estufa com circulação e renovação de ar (Tecnal TE-394/2) a 112°C por 7 minutos e, em seguida, deixadas a temperatura ambiente durante 30 minutos.

Em cada dia de análise, eram avaliados os três tratamentos, o que resultava em um total de dezoito placas, as quais foram divididas em dois grupos. Em cada grupo, as placas foram balanceadas em três fileiras e estas distribuídas aleatoriamente na bandeja, colocada sempre na prateleira central da estufa. Um exemplo de disposição das placas na estufa é mostrada na *Figura 3.8*.

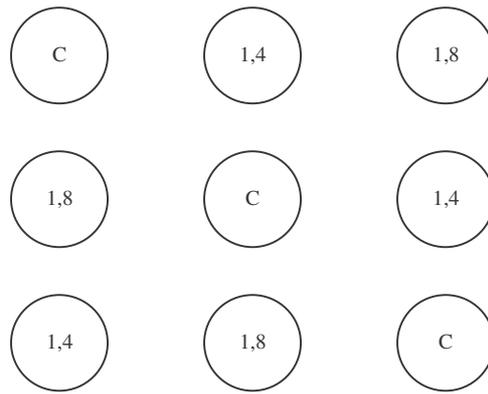


FIGURA 3.8. Exemplo de disposição das placas na estufa para análise da capacidade de derretimento.

O diâmetro do queijo derretido foi determinado em quatro direções diferentes separadas entre si por um ângulo de 45°. O diâmetro de cada amostra (tratamento) foi calculado a partir da média dos diâmetros de cada placa.

3.7.5.3. Óleo livre

A liberação de óleo livre foi avaliada pelo método de Gerber modificado, em duplicata, conforme Kindstedt & Fox (1991). As amostras foram preparadas através do mesmo procedimento utilizado para as análises de composição.

Os resultados foram expressos em função da porcentagem de gordura total do queijo, conforme equação (21):

$$\% \text{ óleo livre} = \frac{\% \text{ óleo livre do queijo}}{\% \text{ gordura do queijo}} \times 100 \quad (21)$$

3.7.5.4. Cor

A cor do queijo não derretido e derretido foi monitorada através de medidas de luminosidade (valor L*), intensidade da cor vermelha (valor a*) e intensidade da cor amarela (valor b*) durante o período de armazenamento. As determinações foram realizadas em sextuplicata.

A cor do queijo não derretido foi determinada em fatias retiradas da face central da peça. Para a determinação da cor do queijo após derretimento, a amostra triturada foi

estabilizada a temperatura ambiente e mantida em estufa a 105°C por uma hora em formas de empadas com revestimento em Teflon®, conforme descrito por Barbano *et al.* (1993).

A cor objetiva foi determinada em espectrofotômetro para cor Colorquest II (Hunter Lab). O aparelho foi calibrado previamente, operando com iluminante D65, ângulo de observação de 10° no modo RSIN, no espaço CIE (Comission Internacionale de L'Eclairage) $L^*a^*b^*$, onde L^* = luminosidade, a^* = intensidade da cor vermelha e b^* = intensidade da cor amarela.

3.8. Microestrutura

As amostras foram equilibradas a temperatura ambiente e cortadas com lâminas de aço inox novas no tamanho 2,5 x 2,5 x 5 mm. A fixação foi feita usando glutaraldeído 2% em solução tampão fosfato de sódio 0,1M pH 7,13 por 20 horas a temperatura ambiente. As amostras foram lavadas em tampão fosfato de sódio 0,1M (2 x 15 min), pós-fixadas em tetróxido de ósmio 1,0% em tampão fosfato 0,1M por 6 horas, lavadas em solução tampão fosfato 0,1M (2 x 15 min) e submetidas ao início da desidratação em série alcoólica (etanol 70% 2 x 15 min).

No dia seguinte, procedeu-se a desidratação gradual das amostras usando soluções de etanol nas concentrações de 70% (1 x 15 min), 90% (2 x 15 min), 95% (2 x 10 min), 100% (3 x 10 min) e acetona 100% (2 x 30 min). As amostras foram completamente desidratadas em secador de ponto crítico CPD 030 da Balzers, depois fraturadas a temperatura ambiente e montadas em *stubbs* de alumínio com cola de prata coloidal. A metalização foi realizada com ouro em metalizador SCD 050 da Balzers.

As amostras foram então observadas ao microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM-5800LV a 15 kV.

3.9. Análise sensorial

O teste de aceitação sensorial foi conduzido no Laboratório de Análise Sensorial do DTA, FEA-Unicamp, com 34 provadores não treinados (alunos e funcionários da Unicamp).

Foi verificada a aceitação sensorial dos queijos mussarela *light* produzidos a partir de leite não ultrafiltrado, de retentados de FC 1,4 e FC 1,8 e de dois queijos mussarela *light* comerciais. A análise sensorial foi realizada para os queijos do terceiro experimento, no 27º dia do armazenamento refrigerado.

Para avaliação dos atributos aparência, aroma, sabor e textura e da impressão global foi utilizada escalada hedônica estruturada de nove pontos e para a intenção de compra, escala hedônica estruturada de cinco pontos. A ficha de aplicação utilizada na avaliação sensorial é apresentada no *Anexo II*.

Os testes foram realizados em cabinas individuais, sob luz branca. As amostras codificadas com números de três dígitos foram apresentadas de forma monádica em pratos descartáveis brancos, cortadas em pedaços de aproximadamente 3 x 2 x 0,5 cm. A temperatura de apresentação foi a de conservação (geladeira). Foi servido água e biscoito água e sal para consumo entre as avaliações das amostras. Para a ordem de apresentação das amostras foi adotado um delineamento de 4 blocos completos balanceados de 10 consumidores, aplicados em ordem aleatória.

3.10. Planejamento experimental e análise estatística dos resultados

O delineamento experimental foi do tipo aleatorizado em blocos. Os três tratamentos foram agrupados em três blocos completos e aleatorizados dentro de cada bloco. Cada bloco foi executado em triplicata, o que resultou em um total de nove ensaios.

O fator estudado foi o fator de concentração do leite (a), nos níveis 1,0 (leite não concentrado), 1,4 e 1,8. Os resultados de composição, recuperação de gordura e proteína e rendimento foram analisados através do procedimento PROC ANOVA do SAS[®] (SAS, 2003). Para verificar diferenças entre as médias foi realizado teste de Duncan.

Para avaliação de pH, acidez, extensão e profundidade da proteólise, propriedades funcionais (capacidade de retenção de água, capacidade de derretimento, óleo livre e cor) e propriedades reológicas do queijo foi adotado um delineamento do tipo split-plot, sendo que a sub-parcela foi obtida pela incorporação do fator tempo de armazenamento refrigerado (b).

As análises de pH, acidez, proteólise e capacidade de derretimento foram realizadas nos dias 4, 11, 18, 25 e 32 e as análises de capacidade de retenção de água, óleo livre, cor e propriedades reológicas, nos dias 5, 12, 19, 26 e 33 do armazenamento refrigerado. Os resultados obtidos foram analisados através do procedimento PROC GLM do SAS[®] (SAS, 2003). Para verificar diferenças entre tratamentos, entre tempos de armazenamento refrigerado e a interação tempo versus tratamento foi analisado o valor F-ANOVA ($p < 0,05$). O teste de Duncan de comparações múltiplas foi realizado para agrupar tratamentos e/ou tempos com médias cujas diferenças não foram estatisticamente significativas.

Os resultados da avaliação sensorial para os atributos aparência, aroma, sabor e textura, impressão global e intenção de compra foram analisados através de Análise de Variância (ANOVA). As diferenças entre as notas médias para cada atributo foram avaliadas ao nível de 5% de significância através do teste de Tukey.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Composição do leite

A *Tabela 4.1.* mostra a composição média do leite padronizado utilizado nos experimentos.

TABELA 4.1. Composição média (n=3) do leite utilizado na ultrafiltração e na fabricação do queijo controle.

Componente	Leite
Sólidos totais, %	10,16 ± 0,16
Gordura, %	1,58 ± 0,05
Proteína total, %	3,16 ± 0,13
Caseína, %	2,42 ± 0,09
C/G ¹	1,53 ± 0,07
NNP ² , %	0,028 ± 0,001
Cálcio, %	0,124 ± 0,011
Acidez, °Dornic	16,71 ± 1,43
pH	6,77 ± 0,08

¹ Relação Caseína/Gordura. ² Nitrogênio Não Protéico.

4.2. Ultrafiltração do leite

A quantidade de leite ultrafiltrado (cerca de 230 kg) foi semelhante em todos os experimentos para que fossem minimizadas as variações decorrentes do tempo de processo.

O tempo médio gasto na ultrafiltração do leite até FC 2,5 foi de 5 horas e 30 minutos. Este tempo foi maior que o encontrado por Cunha (2002), que utilizando a mesma membrana e mesmas condições de operação, obteve um tempo médio de processo de 2 horas e 30 minutos. Esta diferença ocorreu porque o leite foi previamente

acidificado, e o volume de leite ultrafiltrado e o fator de concentração atingido foram maiores no presente estudo.

Em geral, quando se acidifica o leite, o fluxo de permeado diminui (Eckner & Zottola, 1992; St-Gelais *et al.*, 1992), resultando em um maior tempo de processo em relação à ultrafiltração do leite não acidificado. Gigante (1998) também observou um decréscimo na taxa de permeação durante a ultrafiltração de leite a pH 5,2 em comparação com leite a pH 5,7, com um aumento de cerca de 45% no tempo de processo.

A composição média do permeado obtido pela ultrafiltração do leite até fator de concentração 2,5 é apresentada na *Tabela 4.2*.

TABELA 4.2. Composição média (n=3) do permeado obtido pela ultrafiltração do leite pré-acidificado a pH 5,6 até FC 2,5.

Componente	Permeado
Sólidos totais, %	5,38 ± 0,23
Gordura, %	0,00 ± 0,00
Proteína total, %	0,21 ± 0,03
NNP ¹ , %	0,026 ± 0,002
Cálcio, %	0,071 ± 0,001
Acidez, °Dornic	24,37 ± 0,46
pH	5,60 ± 0,04

¹ Nitrogênio Não Protéico.

Não foram detectados traços de gordura no permeado, indicando que houve retenção de 100% de gordura. Isto era esperado, visto que quando se trabalha com membranas de peso molecular de corte de 10 kDa não há passagem de gordura para o permeado (Cunha, 2002; St-Gelais *et al.*, 1992; Bastian *et al.*, 1991).

Os valores de sólidos totais e de proteína total no permeado foram maiores que os reportados por Cunha (2002), que obteve teores de 4,91% e 0,05% destes componentes no permeado obtido pela ultrafiltração de leite até FC 1,8. Em geral, conforme se aumenta o fator de concentração, ocorre um aumento no teor de sólidos

totais e de proteína no permeado (El-Gazzar & Marth, 1991), o pode que explicar as diferenças observadas.

Na *Tabela 4.3.* é apresentada a composição do leite e dos retentados de baixo fator de concentração utilizados na fabricação dos queijos.

TABELA 4.3. Composição média (n=3) do leite e dos retentados de baixo fator de concentração utilizados na fabricação dos queijos.

Componente	Leite	Retentado FC 1,4	Retentado FC 1,8
Sólidos totais, %	10,16 ± 0,16 ^c	11,80 ± 0,24 ^b	13,56 ± 0,30 ^a
Gordura, %	1,58 ± 0,05 ^c	2,15 ± 0,04 ^b	2,81 ± 0,06 ^a
Proteína total, %	3,16 ± 0,13 ^c	4,38 ± 0,30 ^b	5,36 ± 0,16 ^a
Caseína, %	2,42 ± 0,09 ^c	3,44 ± 0,25 ^b	4,21 ± 0,13 ^a
C/G ¹	1,53 ± 0,07 ^a	1,60 ± 0,11 ^a	1,50 ± 0,07 ^a
C/PT ²	0,764 ± 0,004 ^a	0,786 ± 0,004 ^b	0,787 ± 0,008 ^b
NNP ³ , %	0,028 ± 0,001 ^a	0,028 ± 0,002 ^a	0,029 ± 0,002 ^a
Cálcio, %	0,124 ± 0,011 ^a	0,136 ± 0,013 ^a	0,154 ± 0,012 ^a
Ca/C ⁴ , %	0,051 ± 0,003 ^a	0,040 ± 0,005 ^b	0,036 ± 0,003 ^b
Acidez, °Dornic	16,71 ± 1,43 ^c	44,75 ± 2,017 ^b	49,94 ± 1,049 ^a
pH	6,77 ± 0,08 ^a	5,75 ± 0,09 ^b	5,78 ± 0,09 ^b

^{a,b,c} Médias seguidas de letras iguais, numa mesma linha, não diferem significativamente entre si (p > 0,05).

¹ Relação Caseína/Gordura. ² Relação Caseína/Proteína Total. ³ Nitrogênio Não Protéico. ⁴ Relação Cálcio/Caseína.

Os teores de sólidos totais, gordura, proteína total e caseína aumentaram significativamente (p<0,0001) com o aumento do fator de concentração, o que era esperado, visto que no processo de ultrafiltração compostos de alto peso molecular, como gordura e quase toda proteína, são retidos (El-Gazzar & Marth, 1991). Bastian *et al.* (1991) observaram um aumento da retenção de nitrogênio total com o aumento do fator de concentração durante a ultrafiltração de leite não acidificado, e ultrafiltração seguida de diafiltração de leite não acidificado e acidificado.

A acidez titulável dos retentados aumentou significativamente (p<0,0001) com o aumento do fator de concentração devido ao maior teor de proteína, que resulta em

maior acidez aparente e maior poder tamponante (Cunha, 2002; Lelièvre & Lawrence, 1988). Não houve diferença significativa entre os retentados FC 1,4 e FC 1,8 quanto ao pH, evidência do aumento da capacidade tamponante em virtude da concentração de proteínas pelo processo de ultrafiltração.

A relação caseína/proteína total dos retentados foi significativamente maior ($p=0,009$) em relação ao leite. Isto sugere que o nitrogênio que permeou a membrana durante a ultrafiltração foi não caseíco, ou seja, provavelmente houve passagem de proteínas do soro para o permeado. A relação caseína/proteína total foi similar para os retentados de FC 1,4 e 1,8. Bastian *et al.* (1991), Barbano *et al.* (1988) e Pompei *et al.* (1973) reportaram a presença de α -lactoalbumina e β -lactoglobulina no permeado utilizando membranas de peso molecular de corte de 10 kDa. Bastian *et al.* (1991) detectaram ausência de caseína no gel de eletroforese do permeado, o que levou os autores a sugerirem a existência de poros suficientemente grandes para permitir a passagem de algumas proteínas do soro.

Leite e retentados não apresentaram diferença significativa quanto ao teor de nitrogênio não protéico e relação caseína/gordura ($p=0,178$ e $p=0,229$, respectivamente). A padronização da relação caseína/gordura é de grande importância para a obtenção de queijos com composição semelhante (Fox *et al.*, 2000b).

Não houve diferença significativa entre os teores de cálcio do leite e dos retentados ($p=0,115$). Apesar da diferença não ser estatisticamente significativa, o teor de cálcio apresentou uma tendência de aumento conforme se aumentou o fator de concentração. Em geral, a retenção de cálcio aumenta ao longo da ultrafiltração e diafiltração (Bastian *et al.*, 1991; Peri *et al.*, 1973), o que pode ser explicado pelo fato de que uma parte do cálcio está ligada à micela de caseína (Fox & McSweeney, 1998) e assim sua concentração aumenta à medida que esta é concentrada.

Como o leite foi acidificado (pH 5,65) antes da ultrafiltração, os teores de cálcio dos retentados foram inferiores aos encontrados por Cunha (2002) para retentados com fatores de concentração semelhantes obtidos a partir de leite não acidificado. Os teores de cálcio obtidos pela autora foram 0,14%, 0,17% e 0,19%, para retentados com FC 1,2, 1,5 e 1,8, respectivamente. Conforme o pH do leite é reduzido, ocorre uma progressiva solubilização do fosfato de cálcio coloidal (van Hooydonk *et al.*, 1986), com conseqüente aumento na concentração de cálcio solúvel, iônico e não iônico, que pode

ser removido juntamente com o permeado. Bastian *et al.* (1991); Sutherland & Jameson (1987) **apud** Bastian *et al.* (1991) e Green *et al.* (1984) observaram redução na retenção de cálcio em retentados de ultrafiltração obtidos a partir de leite acidificado quando comparado ao leite não acidificado. Os retentados apresentaram relação cálcio/caseína significativamente inferior ($p=0,043$) à do leite, em virtude da pré-acidificação do leite antes da ultrafiltração.

4.3. Fabricação do queijo

Na *Tabela 4.4.* são apresentados os tempos médios gastos nas etapas de coagulação e dessoragem dos queijos.

TABELA 4.4. Tempo médio (n=3) gasto nas etapas de coagulação e dessoragem durante a fabricação dos queijos.

Tempo (min)	Controle	FC 1,4	FC 1,8
Adição de coalho – ponto de corte	21 ± 9,0 ^a	14 ± 3,6 ^a	16 ± 2,5 ^a
Dessoragem	17 ± 6,8 ^a	17 ± 1,7 ^a	16 ± 3,0 ^a

^{a, b, c} Médias seguidas de letras iguais, numa mesma linha, não diferem significativamente entre si ($p > 0,05$).

A coagulação do leite e dos retentados foi realizada utilizando-se a mesma porcentagem de coalho bovino, a qual foi calculada para coagular o leite pré-acidificado a pH 5,6 em 30 minutos a 37°C.

Para manter uma relação coalho:caseína semelhante para todos os tratamentos, a quantidade de coalho a ser adicionado aos retentados foi calculada considerando-se a massa equivalente em leite, obtida pela multiplicação da massa de retentado pelo seu fator de concentração.

A utilização de retentados com os fatores de concentração estudados não provocou diferença significativa ($p=0,099$) no tempo de coagulação, porém houve uma tendência de redução quando da utilização dos retentados. Talvez com um maior número de repetições dos experimentos essa diferença pudesse ser estatisticamente observada. Ao se manter a relação coalho:caseína constante, o aumento do teor de

caseína leva a uma redução do tempo de coagulação quando se trabalha com retentados de ultrafiltração, pois a porcentagem de hidrólise de κ -caseína necessária para induzir a agregação é menor (Fox *et al*, 2000a; Garnot, 1985). Isto representa uma vantagem sob o ponto de vista econômico, pois a quantidade de coalho necessária para a fabricação do queijo é menor.

Para efeito de comparação, a quantidade de coalho necessária para coagular o leite não acidificado nas mesmas condições foi calculada. Observou-se uma redução da quantidade de coalho de cerca de 90% quando da utilização de leite pré-acidificado a pH 5,65, o que representa uma grande vantagem econômica. Isto levou à utilização de pequena quantidade de coalho na fabricação dos queijos.

A coalhada foi cortada quando se verificou o “ponto de corte” (fenda retilínea), e não após um tempo pré-determinado, com a finalidade de minimizar os efeitos do progressivo aumento da força do gel. Ao se aumentar o teor de proteína, de uma forma geral, aumenta-se a firmeza da coalhada (Hinrichs, 2001; Sachdeva *et al*, 1995) em virtude de uma maior concentração de caseína disponível para formar a rede protéica que tende a ser mais fechada, mais grosseira, com menor capacidade de retenção de água e gordura (Lelièvre & Lawrence, 1988).

O tempo de dessoragem foi estatisticamente similar ($p=0,588$) para os três tratamentos estudados. Em geral, quando se concentra o leite, a sinérese tende a ser suprimida, induzindo a uma maior capacidade de retenção de água na coalhada (Fox *et al.*, 2000d).

4.4. Composição do soro

Na Tabela 4.5. é apresentada a composição dos soros obtidos na fabricação dos queijos.

TABELA 4.5. Composição média (n=3) dos soros resultantes da fabricação dos queijos feitos a partir de leite não ultrafiltrado e de retentados de baixo fator de concentração.

Componente	Soro		
	Controle	FC 1,4	FC 1,8
Sólidos totais, %	6,49 ± 0,15 ^b	7,28 ± 0,05 ^a	7,68 ± 0,34 ^a
Gordura, %	0,32 ± 0,11 ^b	0,60 ± 0,14 ^a	0,55 ± 0,10 ^a
Proteína total, %	0,92 ± 0,13 ^c	1,18 ± 0,07 ^b	1,56 ± 0,24 ^a
NNP ¹ , %	0,033 ± 0,003 ^b	0,038 ± 0,003 ^a	0,040 ± 0,002 ^a
Cálcio, %	0,077 ± 0,007 ^b	0,096 ± 0,017 ^a	0,093 ± 0,010 ^a
Acidez, °Dornic	27,61 ± 1,28 ^c	30,90 ± 0,26 ^b	32,89 ± 1,59 ^a
pH	5,66 ± 0,04 ^a	5,66 ± 0,04 ^a	5,65 ± 0,03 ^a

^{a,b,c} Médias seguidas de letras iguais, numa mesma linha, não diferem significativamente entre si (p > 0,05).

¹ Nitrogênio Não Protéico.

Como era esperado, tendo em vista a maior concentração de sólidos nos retentados, os soros dos queijos produzidos a partir destes tiveram teores de sólidos totais, proteína, gordura, nitrogênio não protéico e cálcio significativamente maiores (p<0,05) que o soro do queijo controle. O teor de proteína aumentou significativamente (p=0,006) conforme se aumentou o fator de concentração.

Apesar das quantidades de retentado terem sido equivalentes a um volume de leite inicial semelhante, e o volume de soro liberado ter sido menor com o aumento do fator de concentração, a diferença entre a concentração dos componentes foi estatisticamente significativa somente em relação ao teor de proteína.

A acidez titulável dos retentados aumentou significativamente (p=0,010) com o aumento do fator de concentração, provavelmente em função do aumento do teor de proteína que contribui para um aumento da acidez aparente.

Estatisticamente, não houve diferença significativa ($p=0,756$) em relação ao pH dos diferentes soros, o que pode ter ocorrido em virtude de um aumento da capacidade tampão dos retentados.

4.5. Composição da água de filagem

A composição das águas de filagem obtidas na fabricação dos queijos é apresentada na *Tabela 4.6*.

TABELA 4.6. Composição média ($n=3$) das águas de filagem resultantes da fabricação dos queijos feitos a partir de leite não ultrafiltrado e de retentados de baixo fator de concentração.

Componente	Água de filagem		
	Controle	FC 1,4	FC 1,8
Sólidos totais, %	0,755 ± 0,041 ^a	0,731 ± 0,067 ^a	0,696 ± 0,082 ^a
Gordura, %	0,372 ± 0,029 ^a	0,267 ± 0,035 ^b	0,296 ± 0,029 ^b
Proteína total, %	0,090 ± 0,007 ^a	0,108 ± 0,013 ^a	0,097 ± 0,022 ^a
NNP ¹ , %	0,003 ± 0,002 ^a	0,004 ± 0,003 ^a	0,003 ± 0,002 ^a
Cálcio, %	0,007 ± 0,000 ^a	0,007 ± 0,001 ^a	0,007 ± 0,001 ^a

^{a,b,c} Médias seguidas de letras iguais, numa mesma linha, não diferem significativamente entre si ($p > 0,05$).

¹ Nitrogênio Não Protéico.

As águas de filagem dos queijos obtidos a partir de retentados de FC 1,4 e FC 1,8 apresentaram teor de gordura estatisticamente menor ($p=0,049$) que a do queijo controle. Essa diferença, embora estatisticamente significativa, foi pequena e, como podem ocorrer variações entre a relação água utilizada na filagem: massa de queijo, é necessário avaliar os resultados de recuperação de gordura para maiores conclusões, os quais são apresentados no item 4.7.

Estatisticamente, não houve diferença significativa entre os teores de sólidos totais ($p=0,114$), proteína total ($p=0,233$), nitrogênio não protéico ($p=0,144$) e cálcio ($p=0,775$) das águas de filagem dos diferentes tratamentos.

Os teores dos componentes presentes na água de filagem dos queijos obtidos neste trabalho foram inferiores aos obtidos por Oliveira (2001). Isto se deve ao fato de que a massa foi fabricada e armazenada sob refrigeração para filagem no dia seguinte, sendo necessário um maior volume de água para o aquecimento da massa até 60°C (temperatura no centro da massa), o que levou à diluição de seus componentes. Assim, para efeito de comparação, faz-se necessária a análise dos resultados de recuperação dos mesmos, apresentada no item 4.7.

4.6. Composição do queijo

A composição dos queijos fabricados a partir de leite não concentrado e de retentados de FC 1,4 e FC 1,8 é mostrada na *Tabela 4.7*. Os dados referem-se à composição do queijo no 4º dia de fabricação.

TABELA 4.7. Composição média (n=3) dos queijos feitos a partir de leite não ultrafiltrado e de retentados de baixo fator de concentração.

Componente	Queijo		
	Controle	FC 1,4	FC 1,8
Umidade, %	54,43 ± 0,82 ^a	56,49 ± 1,64 ^a	55,36 ± 0,846 ^a
Gordura, %	12,67 ± 1,04 ^a	12,50 ± 1,32 ^a	13,00 ± 1,00 ^a
GBS ¹ , %	27,80 ± 2,77 ^a	28,73 ± 2,15 ^a	29,12 ± 1,86 ^a
UMNG ² , %	62,34 ± 1,68 ^a	64,56 ± 1,15 ^a	63,63 ± 0,63 ^a
Proteína total, %	27,52 ± 0,94 ^c	26,79 ± 0,80 ^b	26,16 ± 0,54 ^a
Caseína, %	26,96 ± 1,04 ^c	26,17 ± 0,91 ^b	25,53 ± 0,56 ^a
C/G ³	2,129 ± 0,251 ^a	2,093 ± 0,28 ^a	1,964 ± 0,195 ^a
NNP ⁴ , %	0,023 ± 0,003 ^a	0,023 ± 0,003 ^a	0,024 ± 0,000 ^a
Cálcio, %	0,653 ± 0,019 ^a	0,555 ± 0,033 ^b	0,535 ± 0,038 ^b
Ca/PT ⁵ , %	2,374 ± 0,106 ^a	2,071 ± 0,118 ^a	2,046 ± 0,169 ^a
Ca/C ⁶ , %	2,423 ± 0,116 ^a	2,120 ± 0,114 ^a	2,096 ± 0,171 ^a
Sal, %	0,966 ± 0,161 ^a	1,068 ± 0,134 ^a	1,117 ± 0,133 ^a
S/U ⁷ , %	1,776 ± 0,308 ^a	1,890 ± 0,294 ^a	2,018 ± 0,216 ^a
Acidez, % ác. láctico	0,191 ± 0,024 ^a	0,179 ± 0,019 ^a	0,178 ± 0,022 ^a
pH	5,79 ± 0,09 ^a	5,78 ± 0,04 ^a	5,77 ± 0,04 ^a

^{a,b,c} Médias seguidas de letras iguais, numa mesma linha, não diferem significativamente entre si (p > 0,05).

¹ Gordura em Base Seca. ² Umidade em Matéria Não Gordurosa. ³ Relação Caseína/Gordura. ⁴ Nitrogênio Não Protéico. ⁵ Relação Cálcio/Proteína Total. ⁶ Relação Cálcio/Caseína. ⁷ Relação Sal/Umidade

Os queijos feitos a partir de retentados não apresentaram diferença significativa (p>0,05) em relação ao queijo controle quanto a umidade, gordura, gordura em base

seca, umidade em matéria não gordurosa, caseína/gordura, nitrogênio não protéico, cálcio/proteína, cálcio/caseína, sal, sal/umidade, acidez titulável e pH.

Os teores de proteína total, caseína e cálcio dos queijos feitos com retentados foram significativamente inferiores ($p < 0,05$) aos do queijo controle. Os teores de proteína e caseína diminuíram significativamente ($p = 0,025$ e $p = 0,023$, respectivamente) com o aumento do fator de concentração. Em termos de composição, estas foram as únicas diferenças estatisticamente observadas entre os queijos feitos com retentados.

Quando foram utilizados retentados, os queijos apresentaram tendência de menores relações cálcio/proteína ($p = 0,073$) e cálcio/caseína ($p = 0,076$) em comparação ao queijo controle.

De acordo com o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Queijo Mussarela (BRASIL, 1997), quanto ao teor de umidade, os queijos obtidos a partir de retentados seriam classificados como “queijos de muito alta umidade” ($U \geq 55\%$) e o queijo controle como “queijo de alta umidade” ($46\% \leq U \leq 54,9\%$). Os teores de umidade de todos os queijos foram superiores aos valores médios encontrados para a mussarela brasileira, que se situa na faixa de 43-46% (Furtado & Lourenço Netto, 1994). Isto se deve, em parte, à redução do teor de gordura do queijo que altera o balanço de seus componentes, aumentando os teores de umidade e de proteína. Além disso, queijos fabricados por acidificação direta, em geral, apresentam maior teor de umidade que queijos feitos com fermento (Oliveira, 2001).

Os queijos tiveram em média 12,75% de gordura, uma redução de quase 45% em relação ao teor de gordura médio da mussarela brasileira, que é de 22-24% (Furtado & Lourenço Netto, 1994). Assim, os queijos obtidos podem ser classificados como queijos *light* de reduzido teor de gordura (BRASIL, 1998).

4.7. Recuperação de gordura e proteína

A Tabela 4.8. mostra a recuperação média de gordura no soro, água de filagem e queijo para os diferentes tratamentos.

Não houve diferença significativa quanto à recuperação de gordura no soro e no queijo para os tratamentos estudados ($p=0,235$ e $p=0,309$, respectivamente).

Estatisticamente, houve menor perda de gordura na água de filagem dos queijos fabricados com retentados ($p=0,025$). Entretanto, o aumento do fator de concentração de 1,4 para 1,8 não influenciou a recuperação de gordura na água de filagem de forma significativa.

TABELA 4.8. Recuperação corrigida de gordura ($n=3$) obtida na fabricação dos queijos feitos a partir de leite não ultrafiltrado e de retentados de baixo fator de concentração.

Recuperação de gordura	Queijo		
	Controle	FC 1,4	FC 1,8
Soro, %	20,11 \pm 7,55 ^a	24,78 \pm 5,91 ^a	17,40 \pm 3,43 ^a
Água de filagem, %	11,16 \pm 1,37 ^a	7,02 \pm 0,64 ^b	8,50 \pm 0,77 ^b
Queijo, %	68,73 \pm 7,12 ^a	68,21 \pm 6,51 ^a	74,10 \pm 3,67 ^a

^{a,b,c} Médias seguidas de letras iguais, numa mesma linha, não diferem significativamente entre si ($p > 0,05$).

Durante a filagem, observou-se que as massas obtidas a partir de retentados apresentaram capacidades de fusão e de estiramento superiores às da massa do queijo controle. Assim, o tempo em que a massa precisava ser trabalhada em água quente para atingir a temperatura de 60°C (centro da massa) era menor, o que pode explicar as menores recuperações de gordura observadas. A maior facilidade para a filagem das massas dos queijos feitos com retentados pode ser resultado de suas menores relações cálcio:proteína ($p=0,073$) em comparação ao queijo controle, visto que o cálcio favorece as interações entre as proteínas. Metzger *et al.* (2000) reportaram que quanto menor a relação cálcio:proteína da coalhada, maior a facilidade para filar a massa e maior sua maciez.

A recuperação de gordura nos queijos foi baixa em virtude das elevadas perdas de gordura no soro e na água de filagem, as quais foram maiores no soro. Em geral, queijos de reduzido teor de gordura apresentam menores recuperação de gordura no soro que queijos integrais (Rudan *et al.*, 1999). Além disso, o uso da acidificação direta (Metzger *et al.*, 2000) e a utilização de pequena quantidade de coagulante (Oliveira, 2001) levam à formação de um coágulo mais grosseiro e poroso, com uma menor capacidade de retenção da gordura.

A *Tabela 4.9.* mostra a recuperação média de proteína no soro, na água de filagem e no queijo para os diferentes tratamentos.

As porcentagens de recuperação de proteína no soro, água de filagem e queijo não foram influenciadas de forma significativa ($p > 0,05$) pelo uso de retentados. Houve uma tendência de menor recuperação de proteína no soro ($p = 0,117$) e de maior recuperação nos queijos ($p = 0,119$) quando estes foram fabricados a partir de retentados.

As porcentagens de recuperação de proteína no soro e no queijo foram similares às reportadas na literatura para queijo mussarela de reduzido teor de gordura (Metzger *et al.*, 2000; Rudan *et al.*, 1999).

TABELA 4.9. Recuperação corrigida de proteína ($n=3$) obtida na fabricação dos queijos feitos a partir de leite não ultrafiltrado e de retentados de baixo fator de concentração.

Recuperação de proteína	Queijo		
	Controle	FC 1,4	FC 1,8
Soro, %	27,47 ± 3,24 ^a	24,53 ± 0,75 ^a	24,25 ± 2,93 ^a
Água de filagem, %	1,29 ± 0,18 ^a	1,43 ± 0,07 ^a	1,37 ± 0,16 ^a
Queijo, %	71,25 ± 3,09 ^a	74,04 ± 0,70 ^a	74,38 ± 3,02 ^a

^{a,b,c} Médias seguidas de letras iguais, numa mesma linha, não diferem significativamente entre si ($p > 0,05$).

4.8. Rendimento do queijo

O rendimento de fabricação dos queijos fabricados a partir de leite não ultrafiltrado e de retentados de baixo fator de concentração é mostrado na *Tabela 4.10*.

A utilização dos retentados com baixo fator de concentração promoveu um aumento significativo ($p=0,009$) no rendimento real dos queijos. Isto é explicado pelo fato destes queijos terem apresentado menor perda de gordura na água de filagem e tendências de maior retenção de umidade, menor recuperação de proteína no soro e maior recuperação de proteína no queijo.

A tendência de maior retenção de umidade dos queijos feitos com retentados pode ser explicada em termos da menor susceptibilidade da coalhada à sinérese que ocorre quando o leite é concentrado (Fox *et al.*, 2000b) e do menor teor de cálcio, que está associado à formação de uma rede protéica menos compacta, com menor tendência a expulsar o soro (Sheehan *et al.*, 2003).

Um outro fator que poderia contribuir para um aumento da retenção de umidade no queijo é a incorporação de proteínas do soro, principalmente na forma desnaturada (Hinrichs, 2001). Entretanto, a pasteurização do leite a $72^{\circ}\text{C}/15$ s (utilizada neste estudo), promove um baixo grau de desnaturação das soroproteínas ($\leq 5\%$) (Fox *et al.*, 2000b). Como os teores de caseína de todos queijos representaram $97,75\% \pm 0,22\%$ da proteína total, mesmo que tenha ocorrido uma pequena incorporação de soroproteínas, esta foi similar para todos os tratamentos e provavelmente não foi a causa da tendência de maior retenção de umidade quando se utilizaram retentados.

Estatisticamente, o rendimento ajustado dos queijos feitos com retentados foi similar ($p=0,216$) ao do queijo controle, porém houve uma tendência de aumento com o aumento do fator de concentração. Talvez com um maior número de repetições seria possível confirmar estatisticamente as tendências observadas.

Em geral, queijos de baixo teor de gordura apresentam rendimento inferior aos integrais, visto que a gordura representa 50% ou mais do extrato seco total (Drake & Swason, 1995). Oliveira (2001) obteve rendimento real e ajustado na faixa de 9,5 kg de queijo/100 kg de leite para queijo mussarela integral feito por acidificação direta.

TABELA 4.10. Rendimento médio (n=3) dos queijos feitos a partir de leite não ultrafiltrado e de retentados de baixo fator de concentração.

Rendimento (kg queijo/100 kg leite)	Queijo		
	Controle	FC 1,4	FC 1,8
Rendimento Real	7,87 ± 0,33 ^a	8,42 ± 0,15 ^b	8,46 ± 0,16 ^b
Rendimento Ajustado	8,06 ± 0,23 ^a	8,22 ± 0,43 ^a	8,47 ± 0,08 ^a

^{a,b,c} Médias seguidas de letras iguais, numa mesma linha, não diferem significativamente entre si (p > 0,05).

4.9. Mudanças ocorridas durante o armazenamento refrigerado

4.9.1. Evolução do pH e acidez titulável

Os queijos apresentaram pH relativamente elevado, o que era esperado, pelo fato dos queijos terem sido fabricados por acidificação direta em substituição ao fermento láctico. Como pode ser visto na *Tabela 4.11.*, o uso de retentados de baixo fator de concentração (p=0,848) e o tempo de armazenamento (p=0,518) não influenciaram o pH dos queijos.

A acidez titulável, assim como o pH, não foi afetada significativamente pelo uso de retentados (p=0,283) e pelo tempo de armazenamento (p=0,058).

As *Figuras 4.1. e 4.2.* mostram, respectivamente, o comportamento do pH e da acidez titulável dos queijos durante 32 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

A manutenção do pH e da acidez titulável praticamente constantes ao longo do tempo de armazenamento era esperada, tendo em vista a fabricação dos queijos por acidificação direta. Alterações no pH e na acidez titulável ocorrem fundamentalmente pela ação do fermento utilizado na fabricação do queijo, que produz ácido láctico a partir da degradação da lactose residual.

TABELA 4.11. Quadrados médios e probabilidades para a evolução do pH, da acidez titulável, da extensão da proteólise e da profundidade da proteólise do queijo mussarela *light* produzido por acidificação direta durante 32 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

Fatores	pH			Acidez titulável		Nitrogênio solúvel			
	GL	QM	p	QM	p	pH 4,6		TCA 12%	
						QM	p	QM	p
Fator de concentração (A)	2	0,0024	0,848	0,0011	0,283	0,4977	0,648	0,0014	0,761
Erro (a)	4	0,0139		0,0006		1,0250		0,0046	
Tempo de armazenamento (B)	4	0,0010	0,518	0,0005	0,058	6,2087	0,000*	0,0389	0,022*
Interação A*B	8	0,0003	0,960	0,0002	0,289	0,4426	0,238	0,0032	0,965
Erro (b)	24	0,0012		0,0002		0,3112		0,0111	

GL = grau de liberdade; p = probabilidade; QM = quadrado médio

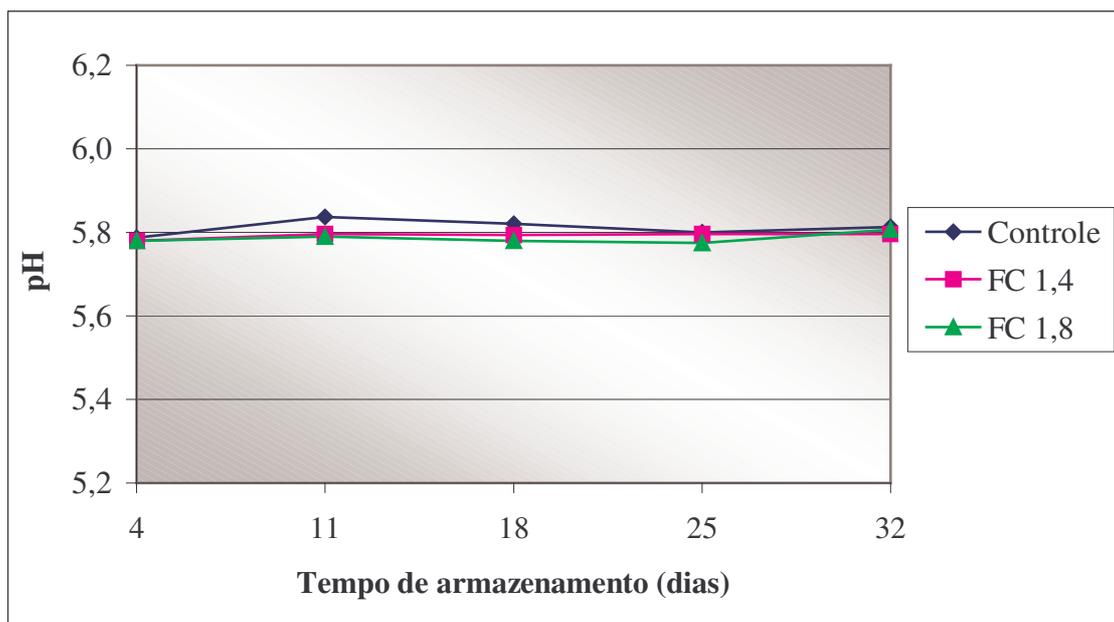


FIGURA 4.1. Evolução do pH dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 32 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

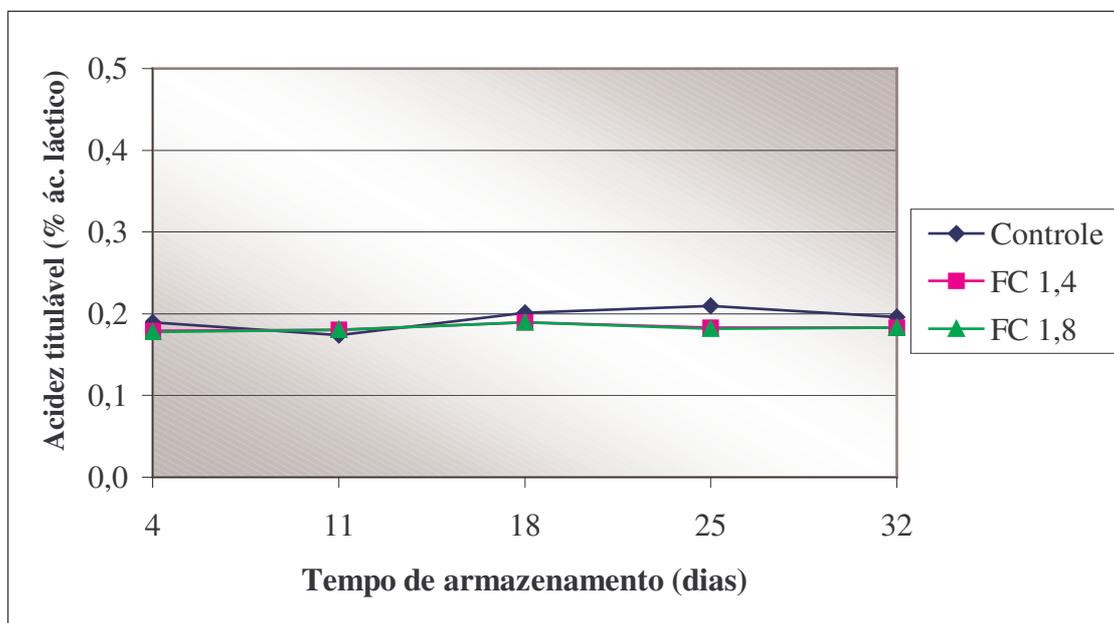


FIGURA 4.2. Evolução da acidez titulável dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 32 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

4.9.2. Evolução da proteólise

4.9.2.1. Extensão da proteólise

A evolução dos níveis de nitrogênio solúvel a pH 4,6 é um indicativo da proteólise primária e, na mussarela, ocorre fundamentalmente pela ação proteolítica do coalho ou coagulante residual no queijo, em especial sobre a α_{s1} -caseína, levando à formação de peptídeos de alto e médio peso molecular. Estes são os principais responsáveis pelo nitrogênio solúvel a pH 4,6 e sua quantificação é bastante utilizada para se avaliar a extensão da proteólise em queijos.

A *Figura 4.3.* mostra a evolução da extensão da proteólise para os queijos fabricados a partir de leite não ultrafiltrado e de retentados de baixo fator de concentração. O uso de retentados não influenciou significativamente ($p=0,648$) a extensão da proteólise dos queijos. Para os três tratamentos, os níveis de nitrogênio solúvel a pH 4,6 em relação ao nitrogênio total aumentaram significativamente ($p=0,000$) ao longo do tempo, com um aumento mais pronunciado nos primeiros onze dias de armazenamento. Após esse período ocorreu um leve aumento, porém este não foi estatisticamente significativo.

Queijos produzidos a partir de retentados de ultrafiltração, dependendo do nível de inclusão de proteínas do soro, apresentam menores níveis de proteólise primária em virtude da inibição do coalho e da plasmina por essas proteínas (Benfeldt *et al.*, 1998; Bech, 1993; Creamer *et al.*, 1987). No entanto, o uso de retentados de baixo fator de concentração não promoveu um aumento significativo da incorporação de proteínas do soro, o que pode ser constatado pela similaridade entre os teores de caseína em relação aos de proteína total de todos os queijos.

A pequena evolução da extensão da proteólise ao longo do tempo de armazenamento pode ser explicada em função da pequena quantidade de coalho que foi utilizada na fabricação dos queijos, já que o coalho é o principal responsável pela proteólise primária. Oliveira (2001) observou que praticamente não houve proteólise durante o armazenamento em queijo mussarela integral feito por acidificação direta utilizando pequena quantidade de coagulante.

Além disso, menores índices de proteólise primária em queijos mussarela de reduzido teor de gordura têm sido associados, em parte, a suas menores relações

umidade:matéria não gordurosa em comparação aos queijos integrais (Dave *et al.*, 2003; Fenelon *et al.*, 2000; Rudan *et al.*, 1999).

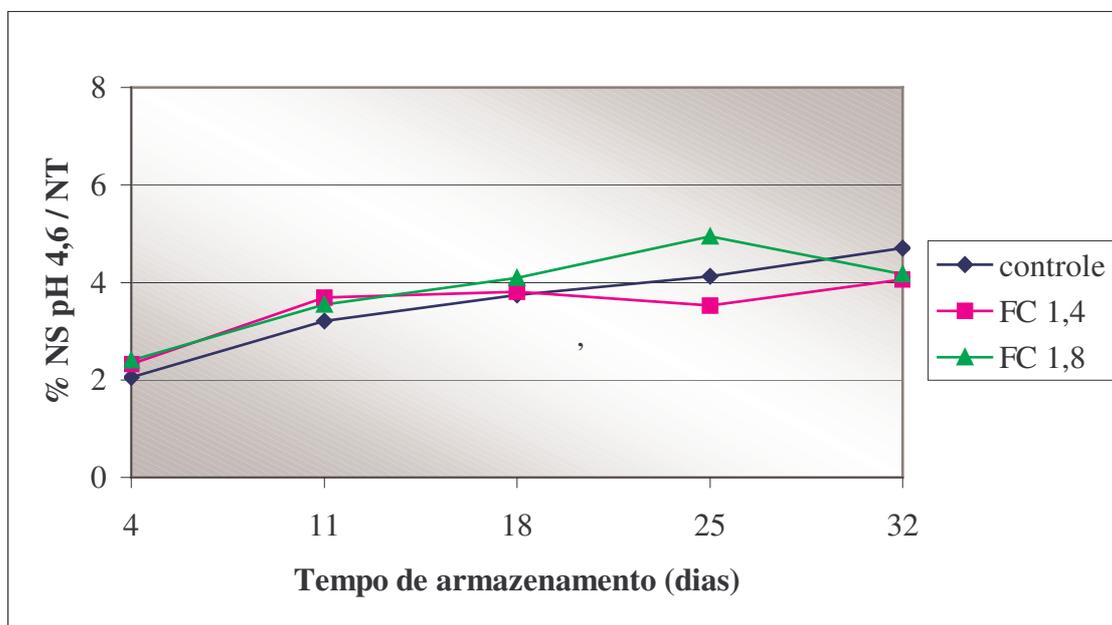


FIGURA 4.3. Evolução da extensão da proteólise (% nitrogênio solúvel a pH 4,6 / nitrogênio total) dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 32 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

4.9.2.2. Profundidade da proteólise

A *Figura 4.4.* mostra os níveis de nitrogênio solúvel em TCA 12% em relação ao nitrogênio total para os diferentes queijos. Os principais compostos responsáveis por esses índices são peptídeos de baixo peso molecular e substâncias nitrogenadas, oriundos principalmente da ação de exo e endopeptidases de microorganismos. Os níveis de nitrogênio solúvel em TCA 12% são indicativos da profundidade da proteólise e são úteis para se avaliar a atividade de enzimas do fermento láctico e de outros microorganismos presentes no queijo.

Os queijos não apresentaram diferença significativa ($p=0,761$) entre si em relação à profundidade da proteólise. Houve um aumento significativo ($p=0,022$) dos níveis de nitrogênio solúvel em TCA 12% em relação ao nitrogênio total ao longo do tempo de armazenamento, mais pronunciado até o 18º dia, que pode estar associado a

alguma atividade de microorganismos sobreviventes à pasteurização. Contudo, uma possível ação de microorganismos foi pequena tendo em vista o leve aumento nos níveis de profundidade da proteólise e a manutenção do pH e da acidez titulável dos queijos praticamente constantes ao longo do tempo de armazenamento (*Figuras 4.1 e 4.2*).

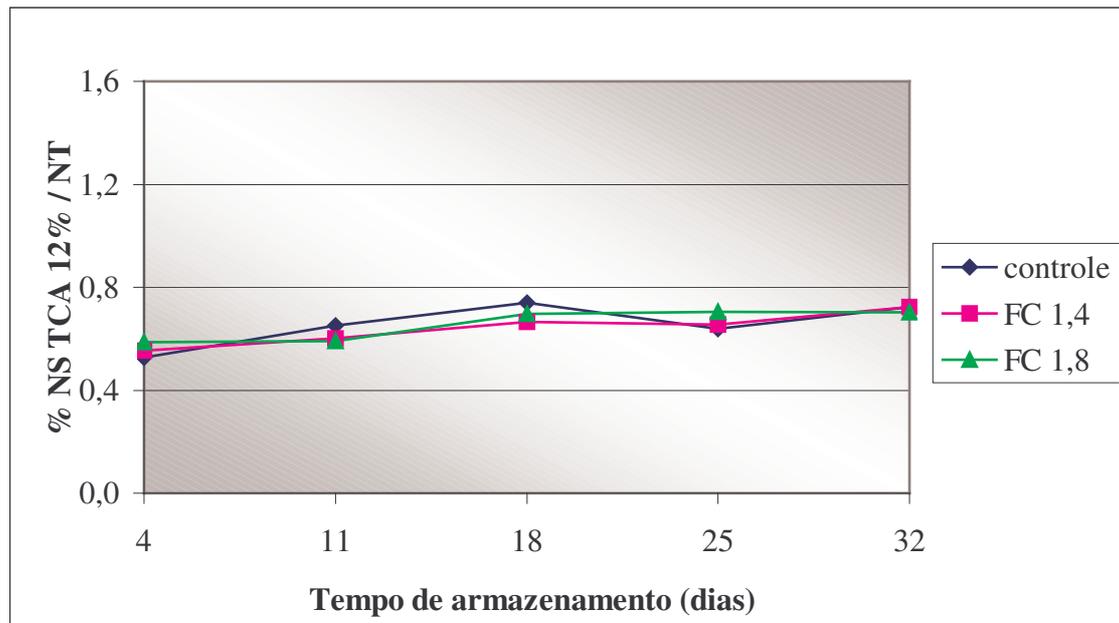


FIGURA 4.4. Evolução da profundidade da proteólise (% nitrogênio solúvel em TCA 12% / nitrogênio total) dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados baixo fator de concentração durante 32 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

4.9.2.3. Eletroforese

O eletroforetograma dos diferentes queijos no 4° e no 32° dia do armazenamento refrigerado é mostrado na *Figura 4.5.* Pelo eletroforetograma, observa-se que houve degradação da α_{S1} -caseína durante o tempo de armazenamento com formação de α_{S1} -I-caseína, a qual foi similar para todos os queijos. O pequeno desdobramento da α_{S1} -caseína observado na eletroforese é consistente com os resultados dos níveis de extensão da proteólise dos diferentes queijos. Aparentemente, houve uma pequena degradação da β -caseína que pode ser atribuída ao elevado pH dos queijos, o que favoreceria a ação da plasmina. Esta enzima possui pH ótimo de ação ao redor de 7,5. No entanto, como a degradação da β -caseína foi muito pequena, fica evidenciado que a proteólise ocorrida nos queijos deveu-se fundamentalmente à ação do coalho residual.

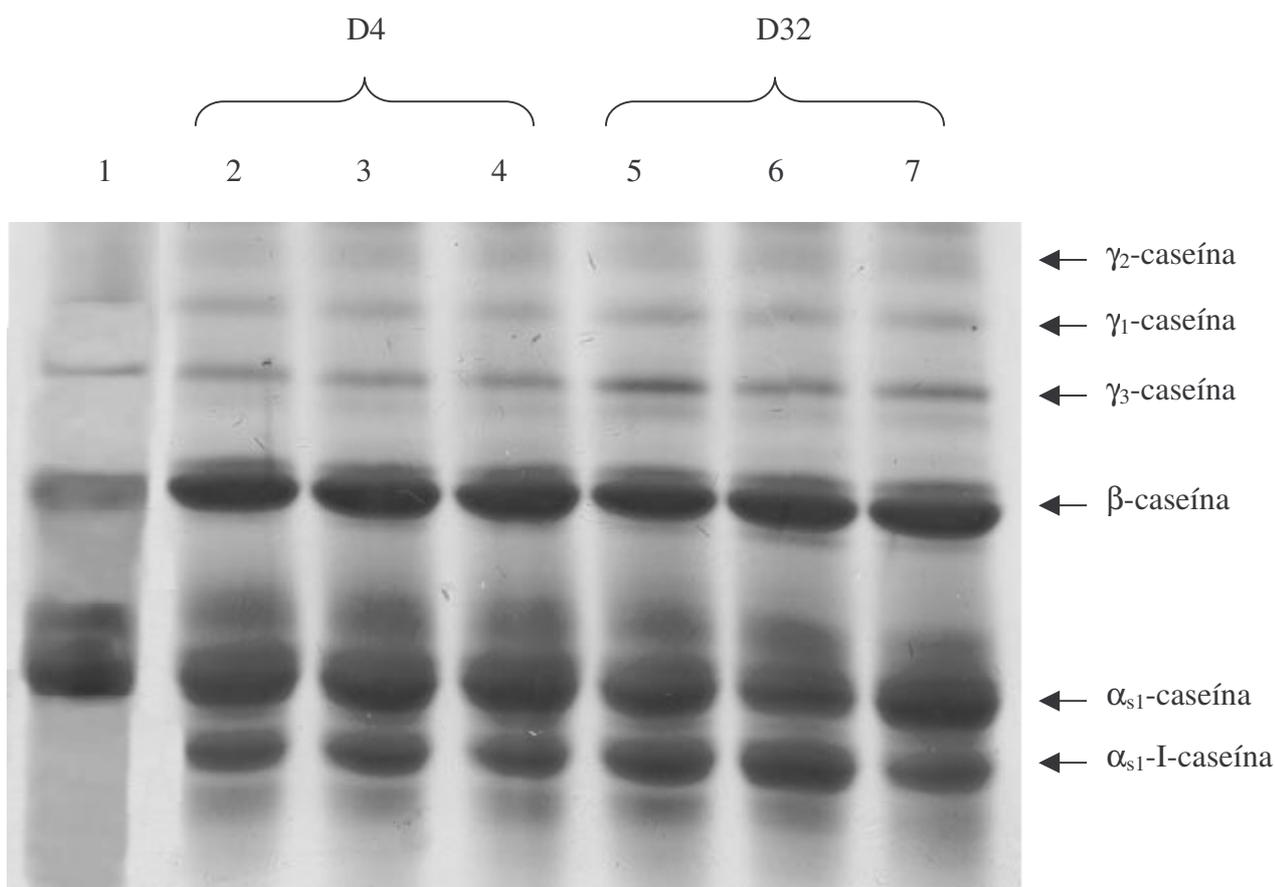


FIGURA 4.5. Eletroforetograma dos queijos produzidos a partir de leite não ultrafiltrado e de retentados de baixo fator de concentração. Banda 1 = Caseinato de sódio (padrão). Bandas 2 e 5 = queijo controle (4° e 32° dias). Bandas 3 e 6 = queijo FC 1,4 (4° e 32° dias). Bandas 4 e 7 = queijo FC 1,8 (4° e 32° dias).

4.9.3. Propriedades reológicas

4.9.3.1. Teste de compressão uniaxial

As Figuras 4.6., 4.7., 4.8., 4.9. e 4.10. mostram, respectivamente, o comportamento dos diferentes queijos durante o armazenamento refrigerado em relação a tensão de ruptura (σ_{rup}), deformação de ruptura (ϵ_{Hrup}), trabalho de ruptura (W_{rup}), elasticidade (E) e tensão máxima ($\sigma_{m\acute{a}x}$). No Anexo III, é apresentada, a título de exemplo, a curva de compressão uniaxial para um dia de análise de um dos experimentos realizados.

Como pode ser visto nas Tabelas 4.12. e 4.13., o uso de retentados influenciou significativamente ($p < 0,05$) as propriedades reológicas avaliadas no teste de compressão uniaxial, exceto a deformação de ruptura ($p = 0,801$). Para todas as propriedades, as variações ocorridas ao longo do tempo de armazenamento não foram significativas ($p > 0,05$).

Os queijos fabricados a partir de retentados apresentaram valores de tensão de ruptura, trabalho de ruptura, elasticidade e tensão máxima significativamente inferiores ($p < 0,05$) aos apresentados pelo queijo controle. O fator de concentração não afetou significativamente estas propriedades. A tensão de ruptura e a tensão máxima estão relacionadas à dureza e à firmeza do queijo, respectivamente.

Os queijos feitos com retentados não apresentaram diferença significativa ($p = 0,801$) em relação ao queijo controle quanto à deformação máxima de Hencky ou deformação de ruptura (ϵ_{Hrup}). Esta propriedade mede a deformação que o queijo pode sofrer antes que ocorra sua ruptura e indica o quão quebradiço é o queijo. Assim, quanto menor a deformação de ruptura, mais quebradiço é o queijo.

A menor dureza (resistência à ruptura), menor elasticidade e menor firmeza dos queijos feitos a partir de retentados podem ser explicadas em função de seus menores teores de caseína e menores relações cálcio:caseína ($p = 0,076$) e de sua tendência de maior retenção de umidade se comparados ao queijo controle. A caseína é o principal componente estrutural do queijo e à medida que sua concentração na matriz do queijo diminui, as interações inter e intramoleculares se tornam menos numerosas e por conseqüência a matriz protéica tende a ser menos compacta, menos rígida e menos elástica (Fox *et al.*, 2000c). O cálcio está envolvido em ligações cruzadas entre as caseínas e sua redução também está associada à formação de uma rede protéica mais

frágil (Pastorino *et al.*, 2003; Metzger *et al.*, 2001). Como a água atua como lubrificante, um maior teor de umidade também contribui para uma rede protéica menos elástica e mais macia (Fox *et al.*, 2000c).

A manutenção de todas as propriedades reológicas praticamente inalteradas durante o tempo de armazenamento, tanto para os queijos feitos com retentados como para o controle, é um reflexo da pequena evolução da extensão da proteólise. Isto porque a proteólise primária é o principal fator responsável pelo enfraquecimento da rede protéica e assim pela diminuição da dureza, elasticidade e firmeza do queijo ao longo do tempo.

TABELA 4.12. Quadrados médios e probabilidades para a tensão de ruptura, deformação de ruptura e trabalho de ruptura para o queijo mussarela *light* produzido por acidificação direta durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

Fatores	Tensão de ruptura			Deformação de ruptura		Trabalho de ruptura	
	GL	QM	p	QM	p	QM	p
Fator de concentração (A)	2	5228075086	0,013*	0,0030	0,801	1825070314	0,002*
Erro (a)	4	341479284		0,0128		46359978	
Tempo de armazenamento (B)	4	170022001	0,328	0,0042	0,186	101768044	0,230
Interação A*B	8	70046062	0,842	0,0010	0,896	40158691	0,771
Erro (b)	24	139070529		0,0025		67273612	

GL = grau de liberdade; p = probabilidade; QM = quadrado médio

TABELA 4.13. Quadrados médios e probabilidades para o módulo de elasticidade e tensão máxima para o queijo mussarela *light* produzido por acidificação direta durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

Fatores	Módulo de elasticidade			Tensão máxima	
	GL	QM	p	QM	p
Fator de concentração (A)	2	8843410620	0,065*	1041939092	0,015*
Erro (a)	4	1508926475		71799571	
Tempo de armazenamento (B)	4	192898709	0,316	32420650	0,285
Interação A*B	8	121449925	0,618	15443957	0,739
Erro (b)	24	154115374		24224518	

GL = grau de liberdade; p = probabilidade; QM = quadrado médio

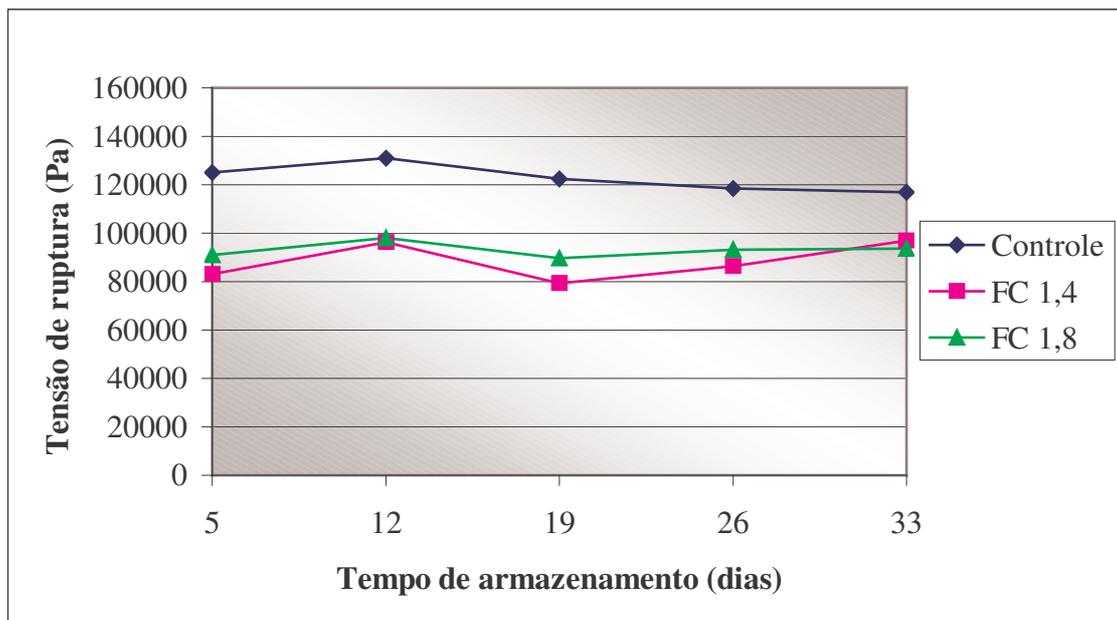


FIGURA 4.6. Tensão de ruptura para os queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

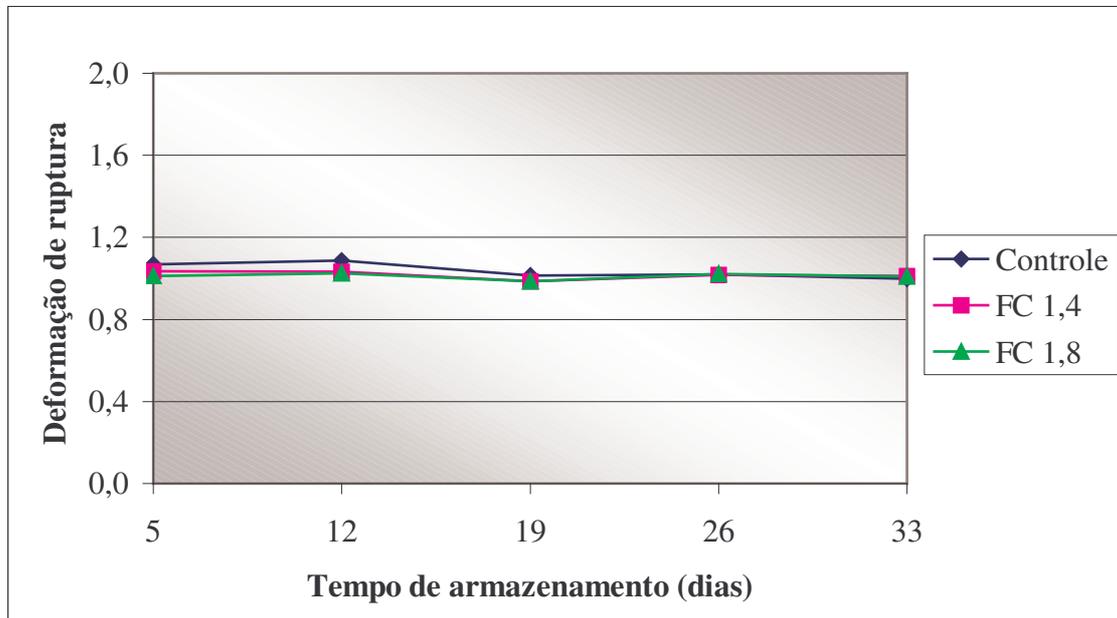


FIGURA 4.7. Deformação na ruptura dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

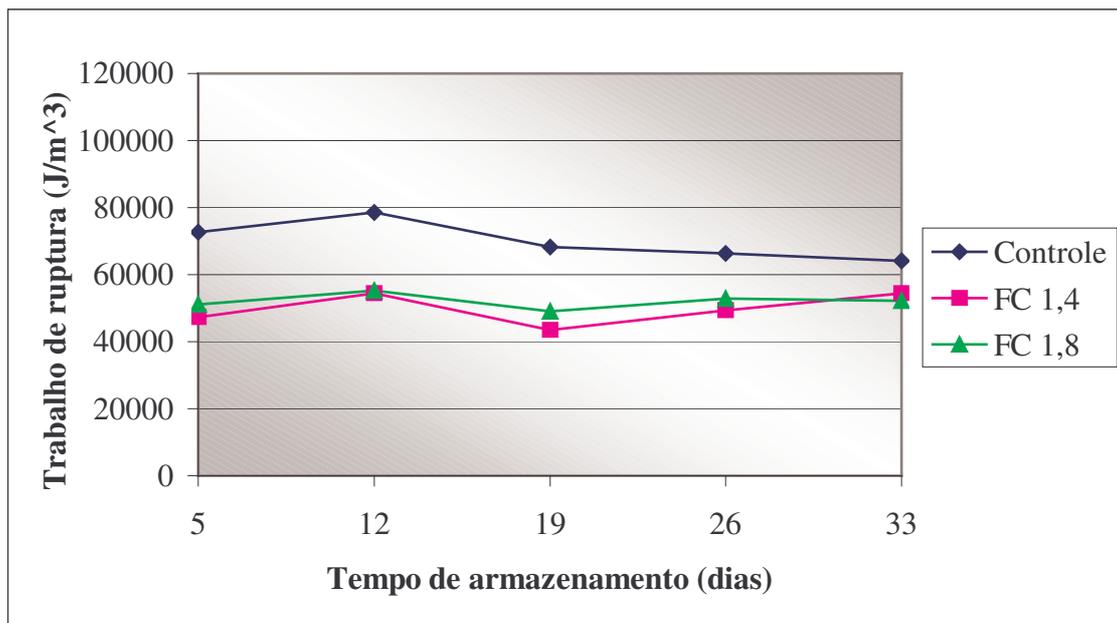


FIGURA 4.8. Trabalho de ruptura dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

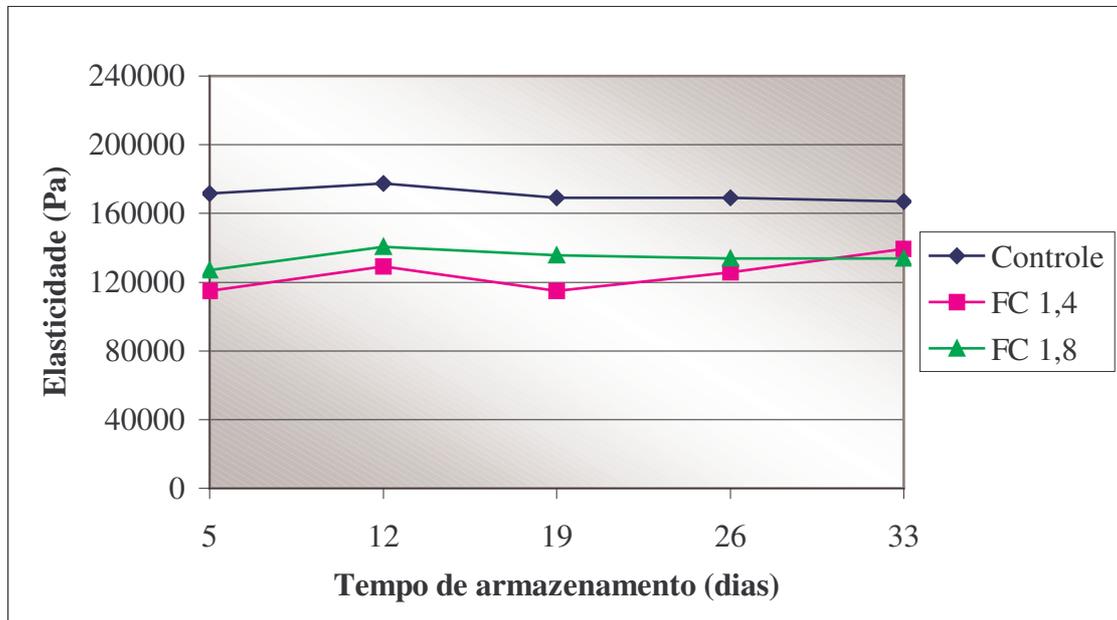


FIGURA 4.9. Módulo de elasticidade dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

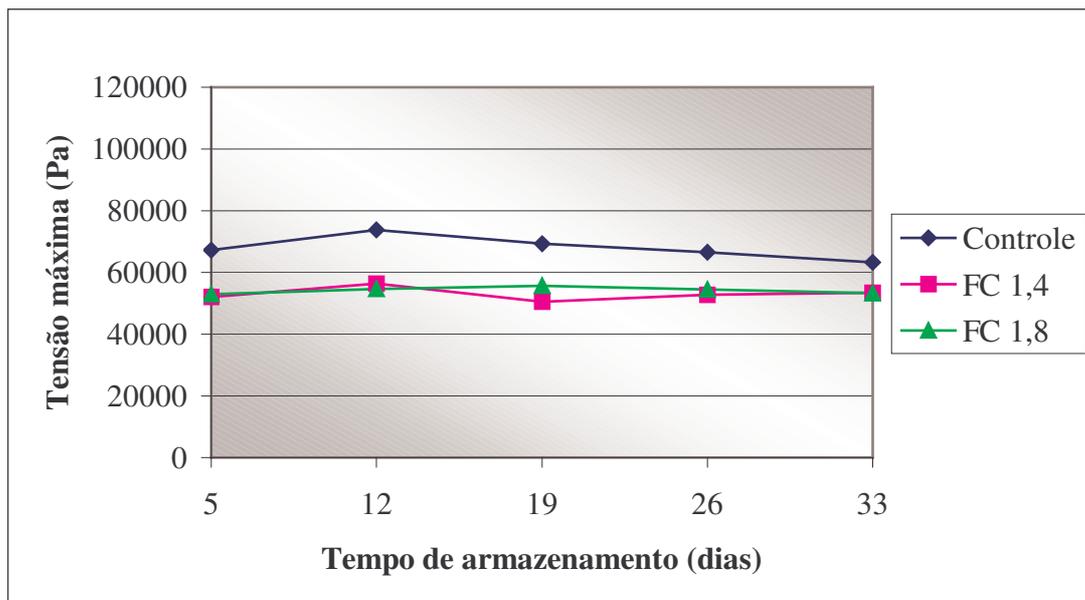


FIGURA 4.10. Tensão máxima dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

4.9.3.2. Teste de relaxação

O modelo generalizado de Maxwell com cinco elementos (dois corpos de Maxwell com um elemento elástico em paralelo) apresentou boa correlação com as curvas experimentais obtidas ($R^2 > 0,99$). Isto indica que o modelo é capaz de descrever satisfatoriamente o comportamento viscoelástico dos queijos.

O ajuste exponencial das curvas experimentais foi realizado através do programa Statistica®. No *Anexo IV*, são apresentados os parâmetros S_0 , S_1 , S_2 , τ_1 , τ_2 obtidos pela análise de regressão não-linear. Os dados obtidos em um dos testes de relaxação e a sua respectiva curva ajustada são apresentados no *Anexo V*.

Os módulos de elasticidade E_0 , E_1 e E_2 e as viscosidades η_1 e η_2 foram calculados a partir dos parâmetros S_0 , S_1 , S_2 , τ_1 e τ_2 , respectivamente, conforme descrito no item 3.7.4.2.

As *Figuras 4.11.*, *4.12.*, *4.13.*, *4.14.* e *4.15.* mostram, respectivamente, os módulos de elasticidade E_0 , E_1 e E_2 e as viscosidades η_1 e η_2 para os diferentes queijos durante o tempo de armazenamento refrigerado. O uso de retentados influenciou significativamente ($p < 0,05$) todos os parâmetros viscoelásticos dos queijos (*Tabelas 4.14.* e *4.15.*). Durante o tempo de armazenamento não ocorreram variações significativas ($p > 0,05$) dos módulos de elasticidade E_1 e E_2 e das viscosidades η_1 e η_2 . Em relação ao módulo de elasticidade de equilíbrio E_0 , houve um aumento significativo ($p < 0,05$) apenas do 5° para o 12° dia do armazenamento para todos os queijos. Após o 12° dia, a variação não foi significativa.

O uso de retentados causou uma redução significativa ($p < 0,05$) dos módulos de elasticidade de todos os elementos do modelo em comparação ao queijo controle. Isto significa que os queijos feitos a partir de retentados apresentaram menor elasticidade, ou seja, quando a tensão aplicada a estes queijos é removida, eles apresentam menor tendência a recuperar sua forma original. O fator de concentração dos retentados não influenciou significativamente a elasticidade dos queijos.

As viscosidades dos dois elementos do modelo para os queijos feitos com retentados foram significativamente inferiores ($p < 0,05$) às do queijo controle, ou seja, quando os queijos feitos com retentados são submetidos a uma certa tensão, sua resistência à deformação é menor. Como uma menor resistência à deformação reflete

uma maior maciez do queijo (Fox *et al.*, 2000c), pode-se dizer que os queijos feitos com retentados apresentaram maior maciez que o queijo controle. O aumento do fator de concentração de 1,4 para 1,8 não afetou significativamente a viscosidade dos queijos.

A menor elasticidade e a maior maciez dos queijos feitos a partir de retentados também podem ser explicadas em função dos mesmos fatores de composição dos queijos discutidos no item referente ao teste de compressão uniaxial (item 4.9.3.1.).

A manutenção dos módulos de elasticidade e das viscosidades dos queijos praticamente inalterados durante o tempo de armazenamento é decorrente da pequena evolução da extensão da proteólise. A variação no comportamento viscoelástico de queijos ao longo do tempo está associada fundamentalmente à hidrólise da α_{s1} -caseína pelo coalho residual, que leva ao enfraquecimento da rede protéica, com conseqüente redução da elasticidade e da firmeza do queijo (Tunick & Shieh, 1995; Yun *et al.*, 1994; Bertola *et al.*, 1991).

TABELA 4.14. Quadrados médios e probabilidades para os módulos de elasticidade E_0 , E_1 e E_2 para o queijo mussarela *light* produzido por acidificação direta durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

Fatores	GL	E_0		E_1		E_2	
		QM	p	QM	p	QM	p
Fator de concentração (A)	2	438061078,13	0,031*	1590855256,44	0,017*	989824589,44	0,033*
Erro (a)	4	46775943,46		118138958,69		109735753,91	
Tempo de armazenamento (B)	4	138914987,99	0,000*	31294284,50	0,496	29889567,57	0,475
Interação A*B	8	4430238,50	0,844	17472635,98	0,854	28638892,87	0,554
Erro (b)	24	8844279,05		35977211,87		32914287,01	

GL = grau de liberdade; p = probabilidade; QM = quadrado médio

TABELA 4.15. Quadrados médios e probabilidades para as viscosidades η_1 e η_2 para o queijo mussarela *light* produzido por acidificação direta durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

Fatores	GL	η_1		η_2	
		QM	p	QM	p
Fator de concentração (A)	2	210314835454	0,017*	33677251640858	0,027*
Erro (a)	4	15838004385		3300130308190	
Tempo de armazenamento (B)	4	4890897779	0,530	2575789059438	0,145
Interação A*B	8	4892640893	0,599	1432736943751	0,428
Erro (b)	24	6023451624		1363116332627	

GL = grau de liberdade; p = probabilidade; QM = quadrado médio

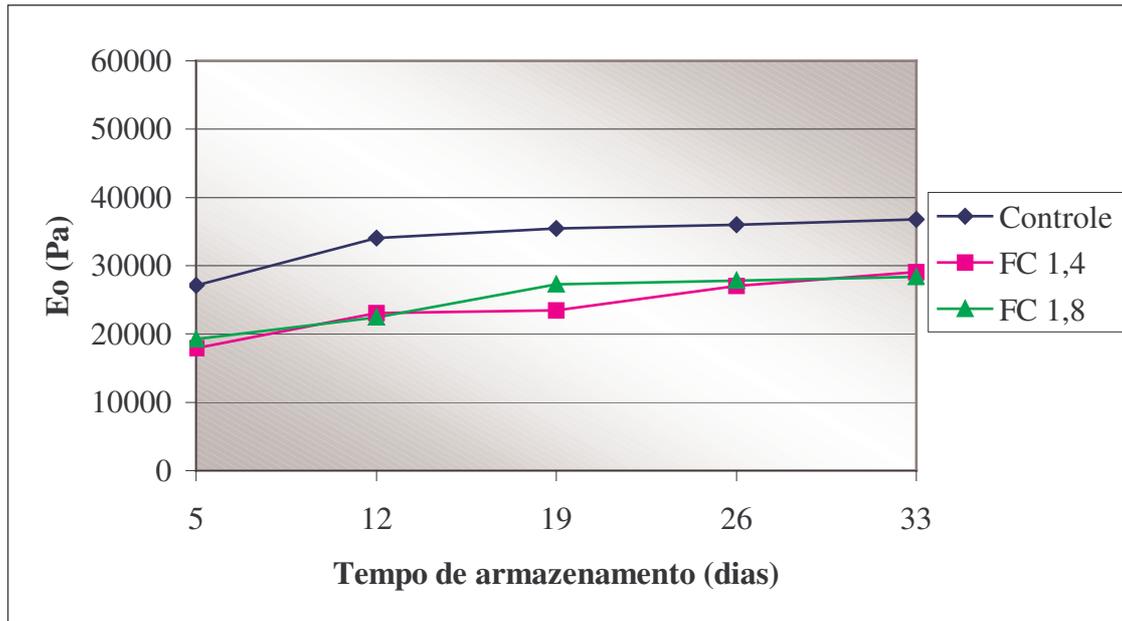


FIGURA 4.11. Módulo elástico de equilíbrio dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

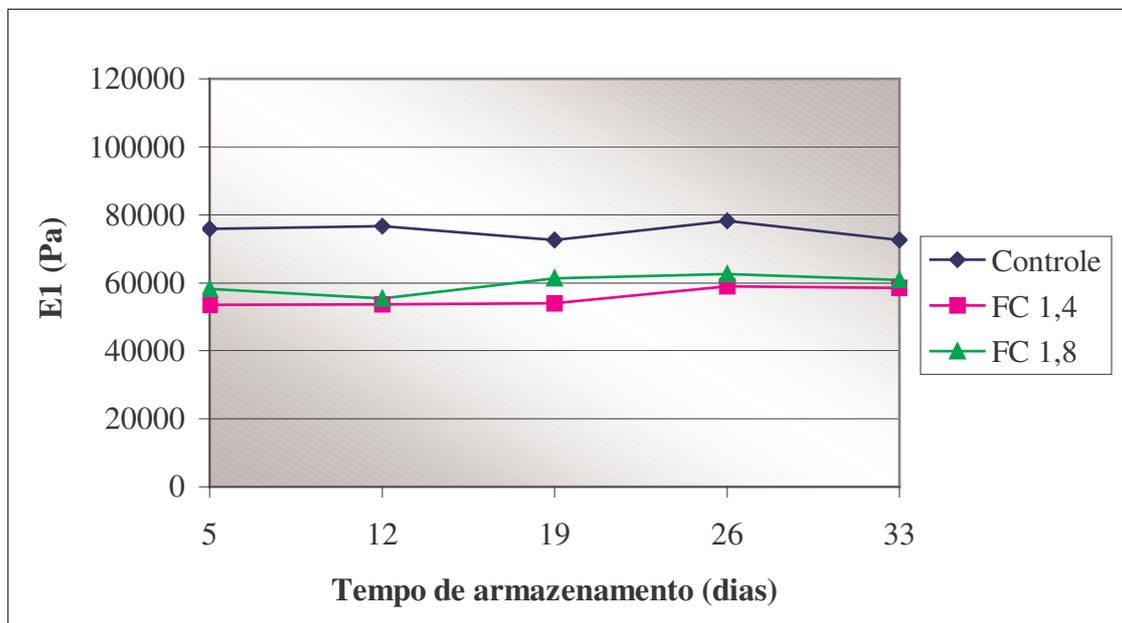


FIGURA 4.12. Módulo de elasticidade do elemento com menor tempo de relaxação dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

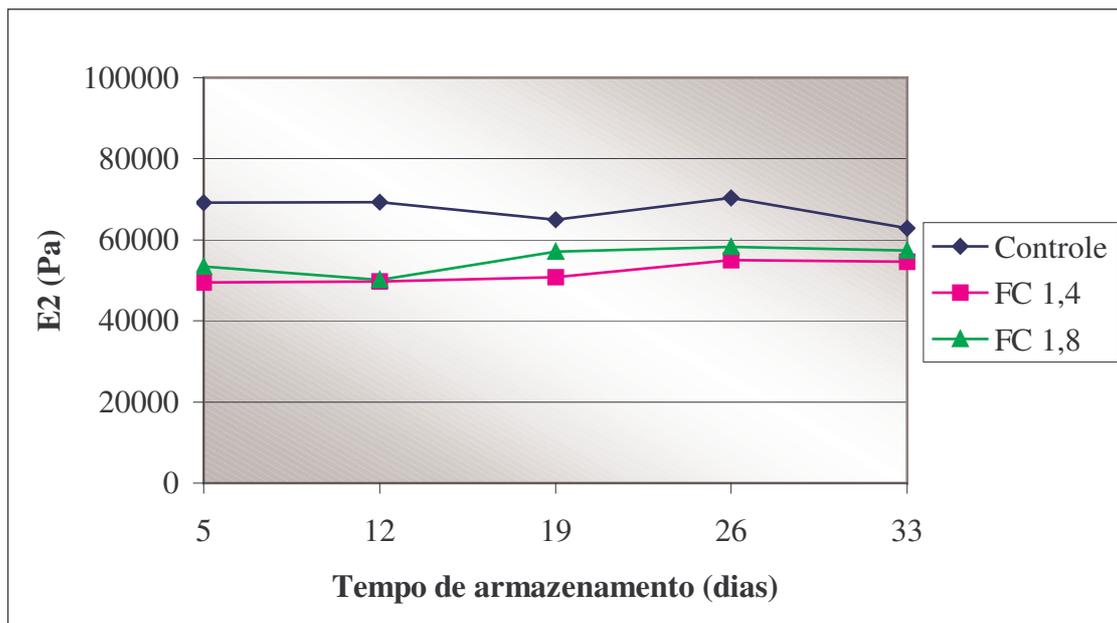


FIGURA 4.13. Módulo de elasticidade do elemento com maior tempo de relaxação dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

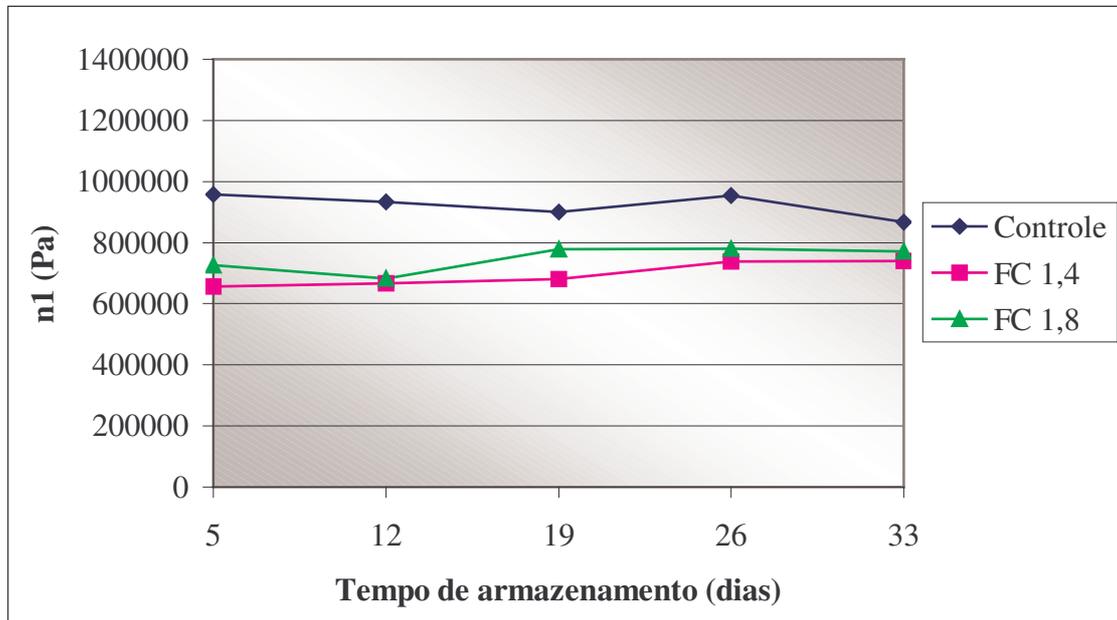


FIGURA 4.14. Viscosidade do elemento com menor tempo de relaxação dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

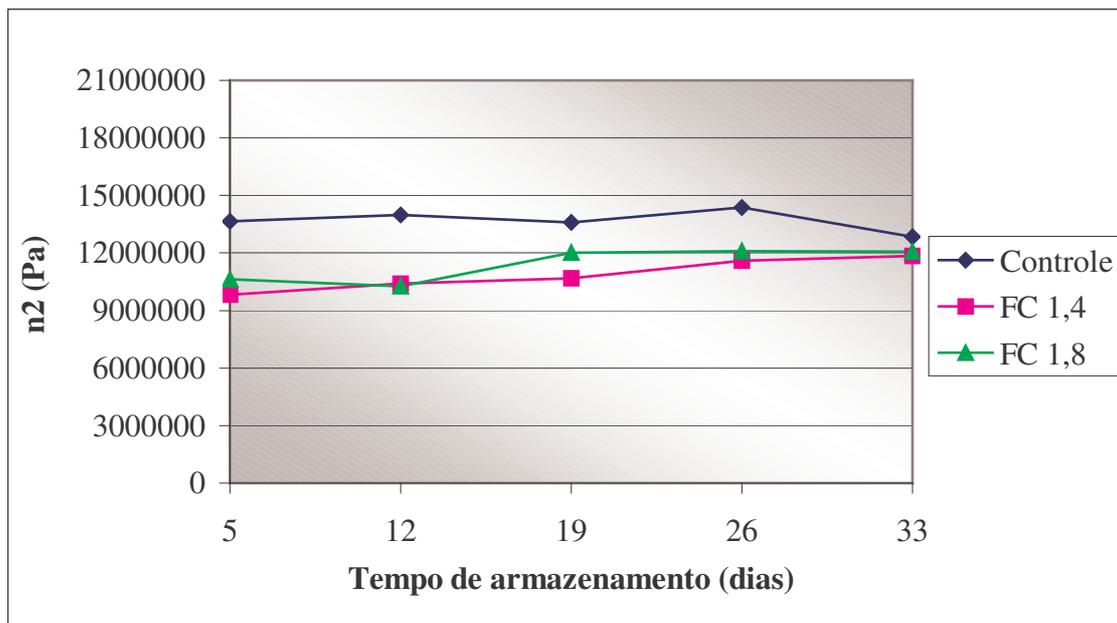


FIGURA 4.15. Viscosidade do elemento com maior tempo de relaxação dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

4.9.4. Propriedades funcionais

4.9.4.1. Capacidade de retenção de água

O aumento do teor de umidade pode melhorar a maciez de queijos de baixo teor de gordura; entretanto, é importante que a matriz protéica seja capaz de reter essa umidade (Paulson *et al.*, 1998).

A capacidade de retenção de água dos queijos ao longo do tempo de armazenamento é apresentada na *Figura 4.16*. O uso de retentados de baixo fator de concentração ($p=0,096$) e o tempo de armazenamento ($p=0,528$) não influenciaram a capacidade de retenção de água dos queijos (*Tabela 4.16*). No entanto, percebe-se que há uma tendência de maior capacidade de retenção de água para os queijos produzidos com retentados. A incorporação de proteínas do soro no queijo, principalmente sob a forma desnaturada, pode aumentar sua capacidade de retenção de água. Entretanto, a incorporação de soroproteínas ao queijo foi similar para todos os tratamentos. Isto pode ser verificado através da porcentagem de caseína em relação a proteína total, que foi similar para todos os queijos. Assim, pode-se dizer que a tendência ($p=0,096$) de maior retenção de água dos queijos feitos com retentados não é devida a este fator. Esta tendência se deve provavelmente ao seu menor teor de cálcio em relação ao queijo controle, visto que a redução do teor de cálcio promove uma maior hidratação da matriz protéica (Sheenan & Guinee, 2003; Guinee *et al.*, 2002; Metzger *et al.*, 2001).

Era esperado um progressivo aumento da capacidade de retenção de água dos queijos durante as primeiras semanas após a fabricação em virtude do aumento da hidratação da matriz de paracaseína (Kindstedt, 1995). As mudanças na matriz protéica da mussarela estão associadas ao desenvolvimento de suas propriedades funcionais e têm sido fundamentalmente atribuídas à proteólise primária que ocorre nesse período (McMahon, 1995). Assim, a lenta evolução da extensão da proteólise ocorrida nos queijos é provavelmente o fator responsável pela manutenção de sua capacidade de retenção de água praticamente constante durante o tempo de armazenamento.

Observou-se que todos os queijos ao serem cortados sofriam um pouco de sinérese se deixados à temperatura ambiente (22-25°C).

TABELA 4.16. Quadrados médios e probabilidades para a retenção de água, derretimento e óleo livre para o queijo mussarela *light* produzido por acidificação direta durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

Fatores	GL	Retenção de água		Derretimento		Óleo livre	
		QM	p	QM	p	QM	p
Fator de concentração (A)	2	0,0257	0,096	0,3820	0,825	197,1417	0,010*
Erro (a)	4	0,0058		1,8953		11,2370	
Tempo de armazenamento (B)	4	0,0013	0,528	4,5339	0,013*	13,1826	0,088
Interação A*B	8	0,0017	0,379	0,8306	0,669	1,2566	0,984
Erro (b)	24	0,0015		1,1465		5,7336	

GL = grau de liberdade; p = probabilidade; QM = quadrado médio

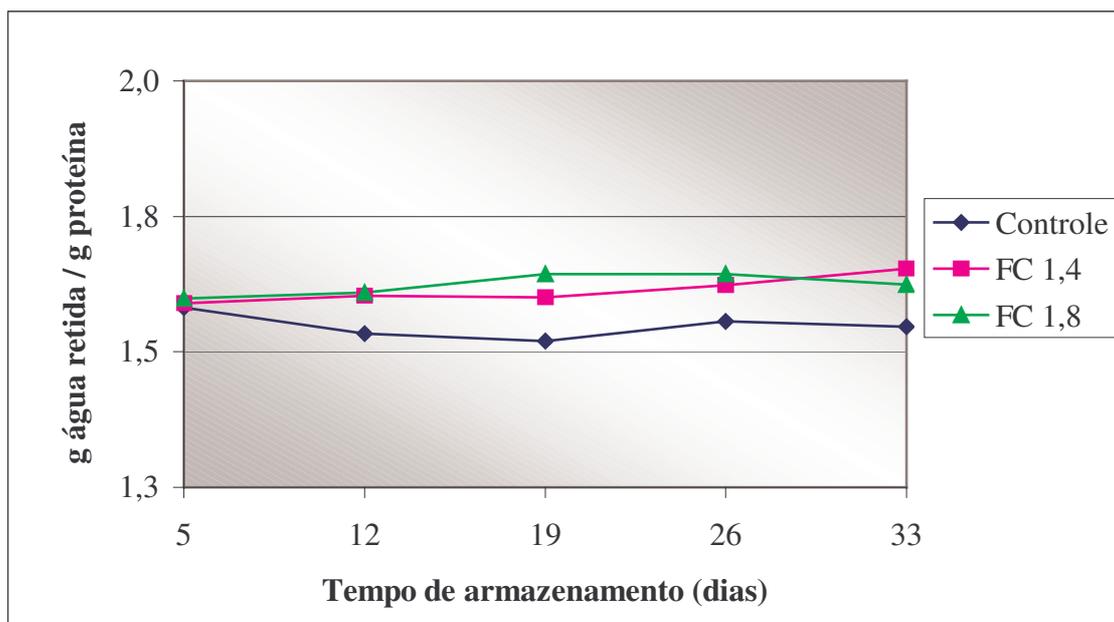


FIGURA 4.16. Evolução da capacidade de retenção de água dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados baixo fator de concentração durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

4.9.4.2. Capacidade de derretimento

A capacidade de derretimento é um importante atributo do queijo mussarela, tendo em vista sua grande utilização como ingrediente culinário, principalmente em pizzas.

Na *Figura 4.17*, é apresentada a evolução da capacidade de derretimento dos queijos ao longo do tempo de armazenamento refrigerado a 4°C. O uso de retentados com os fatores de concentração estudados não afetou significativamente ($p=0,825$) a capacidade de derretimento dos queijos. Estatisticamente, houve diferença significativa ($p=0,013$) para o derretimento devido ao tempo de armazenamento, porém as diferenças foram entre dias de análise isolados. Essas diferenças estão associadas à pequena variação entre os valores de diâmetro derretido ($\pm 1,03$; $\pm 1,08$ e $\pm 0,97$ para os queijos controle, FC 1,4 e FC 1,8, respectivamente). Assim, do ponto de vista prático, a capacidade de derretimento dos queijos não sofreu alterações ao longo do tempo de armazenamento.

A capacidade de derretimento dos queijos foi relativamente baixa em relação à de queijo mussarela integral feito por acidificação direta (Oliveira, 2001). A redução do teor de gordura acarretou em prejuízo do derretimento do queijo, pois este está intimamente ligado à estrutura protéica do queijo e, com a remoção de gordura, o teor de proteína aumenta e assim a matriz protéica se torna mais rígida e mais compacta, com menor tendência a derreter e fluir (Mistry, 2001; Rudan et al., 1999; Fife et al., 1996; Tunick et al., 1993). Os queijos apresentaram composição semelhante, exceto quanto aos teores de proteína e cálcio que foram significativamente diferentes, porém estas diferenças não influenciaram a capacidade de derretimento dos diferentes queijos.

A proteólise, cujo principal responsável é o coalho ou coagulante residual, está relacionada positivamente com o aumento da capacidade de derretimento do queijo mussarela, em virtude do enfraquecimento da matriz protéica (Kindstedt, 1993; Oberg *et al*, 1993) e aumento de sua hidratação, observado pelo aumento da capacidade de retenção de água durante as primeiras semanas após a fabricação do queijo (McMahon & Oberg, 1998; Guo & Kindstedt, 1995). Isto sugere que o comportamento dos queijos em relação ao derretimento é um reflexo da pequena extensão da proteólise ocorrida nos queijos e da manutenção de sua capacidade de retenção de água constante durante o armazenamento. O uso de pequenas quantidades de coagulante tem sido associado a baixa evolução da capacidade de derretimento de queijo mussarela ao longo do armazenamento (Dave *et al*, 2003; Oliveira, 2001).

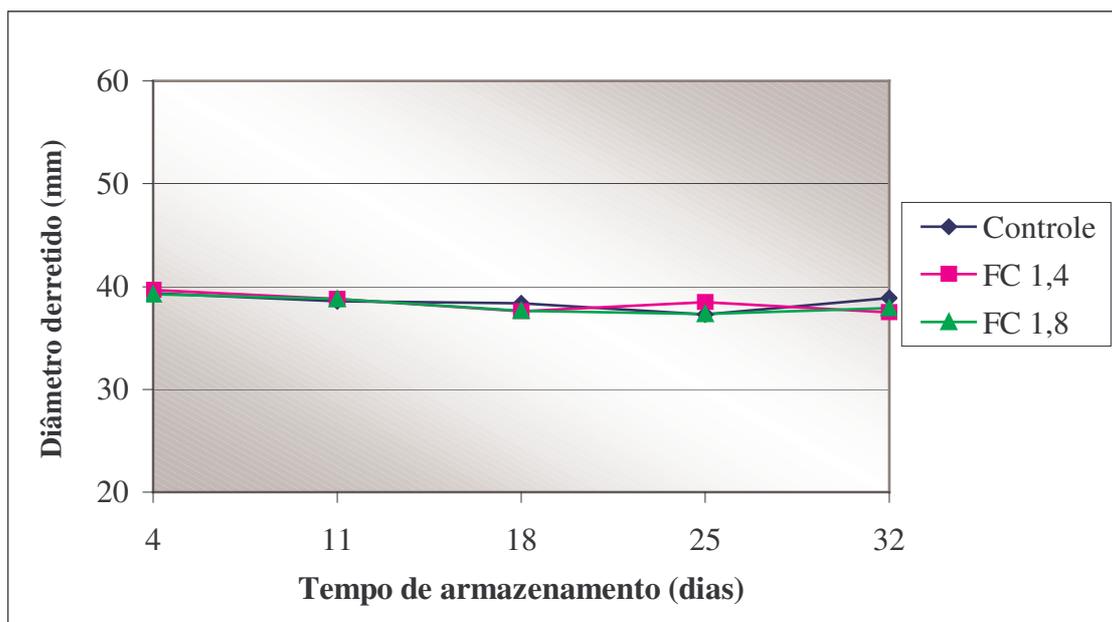


FIGURA 4.17. Evolução da capacidade de derretimento dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 32 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

4.9.4.3. Óleo livre

Na *Figura 4.18.* é apresentada a evolução da formação de óleo livre como porcentagem da gordura total dos queijos ao longo do tempo de armazenamento refrigerado.

A utilização de retentados de baixo fator de concentração promoveu uma redução significativa ($p=0,010$) na liberação de óleo do queijo, o que é um benefício, já que a formação de óleo livre é indesejável na mussarela. Entretanto, o aumento do fator de concentração de 1,4 para 1,8 não influenciou significativamente esta propriedade.

A quantidade de óleo livre formada depende da interação entre gordura e caseína e assim, os menores índices apresentados pelos queijos feitos com retentados podem estar associados ao efeito de homogeneização dos glóbulos de gordura que pode ocorrer durante a ultrafiltração do leite. A homogeneização do leite está relacionada a uma menor liberação de óleo em queijo mussarela (Rowney *et al.*, 2003; Rudan *et al.*, 1998a; Oberg *et al.*, 1993), pois a camada protéica que recobre os novos glóbulos de gordura pode interagir mais fortemente com a matriz de caseína do que a membrana natural do glóbulo de gordura, resultando em um efeito de emulsificação da gordura.

O tempo de armazenamento não exerceu influência significativa ($p=0,088$) na formação de óleo livre dos diferentes queijos. Este comportamento pode estar relacionado ao pequeno aumento nos níveis de extensão da proteólise dos queijos ao longo do armazenamento, visto que a proteólise leva à desestruturação da matriz protéica, que atua como barreira física, evitando a coalescência dos glóbulos de gordura.

Todos os queijos apresentaram uma menor liberação de óleo em comparação a queijos mussarela integrais (Oliveira, 2001, Yun *et al.*, 1995), o que era esperado, visto que a liberação de óleo diminui consideravelmente conforme se reduz o teor de gordura do queijo.

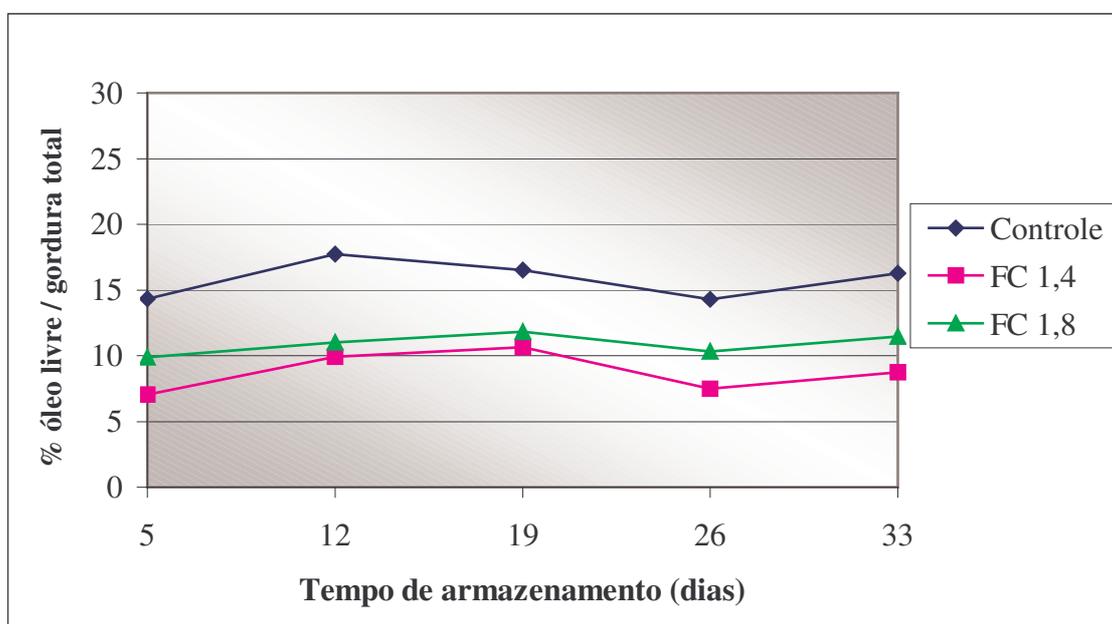


FIGURA 4.18. Evolução da formação de óleo livre dos queijos produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

4.9.4.4. Cor

O valor L^* é uma medida da luminosidade da amostra, ou seja, quanto maior o valor L^* , mais claro é o queijo.

As *Figuras 4.19. e 4.20.* mostram a luminosidade (valor L^*) dos queijos não derretidos e derretidos, respectivamente, ao longo do tempo de armazenamento refrigerado. Em relação ao queijo não derretido, o uso de retentados ($p=0,186$) e o tempo de armazenamento ($p=0,310$) não influenciaram significativamente a luminosidade das amostras, porém percebe-se uma tendência dos queijos produzidos a partir dos retentados serem mais claros que o queijo controle. Esta tendência também foi observada visualmente. Isto pode ser devido ao efeito de homogeneização que pode ocorrer durante a ultrafiltração do leite. A homogeneização do leite ou creme tem sido associada ao aumento da luminosidade em queijo mussarela de reduzido teor de gordura (Rudan *et al.*, 1998b).

O derretimento do queijo levou a um escurecimento das amostras, demonstrado pela diminuição do valor L^* . Entretanto, o uso de retentados não influenciou significativamente ($p=0,176$) a luminosidade dos queijos derretidos. Os queijos feitos com retentados apresentaram uma tendência de serem mais claros que o controle também quando derretidos. Houve diferença significativa ($p=0,000$) devido ao tempo de armazenamento em relação à luminosidade, a qual aumentou entre o 5° e o 12° e então manteve-se constante.

As *Figuras 4.21. e 4.22.* mostram a intensidade da cor vermelha (valor a^*) dos queijos não derretidos e derretidos, respectivamente, ao longo do tempo de armazenamento. Tanto para o queijo não derretido como para o derretido, a intensidade da cor vermelha não foi afetada significativamente ($p>0,05$) pelo uso de retentados e pelo tempo de armazenamento refrigerado.

A variação na intensidade da cor amarela (valor b^*) para o queijo não derretido e derretido é apresentada nas *Figuras 4.23 e 4.24.*, respectivamente, ao longo do tempo de armazenamento refrigerado. Para o queijo não derretido, o uso de retentados causou uma redução significativa ($p=0,022$) na intensidade da cor amarela. Não houve diferença significativa ($p=0,195$) devido ao tempo de armazenamento para os diferentes queijos. Visualmente, foi observado que os queijos produzidos a partir de retentados eram menos amarelos que o queijo controle. Assim como a redução na luminosidade

dos queijos produzidos a partir de retentados, este fato está associado ao efeito de homogeneização do leite que pode ter ocorrido durante a ultrafiltração do leite.

Já para o queijo derretido, a intensidade da cor amarela não foi afetada significativamente ($p=0,234$) em função do uso de retentados, ou seja, a diferença percebida em relação ao valor b^* para os diferentes queijos não derretidos não foi observada quando estes foram derretidos. O tempo de armazenamento não afetou significativamente ($p=0,517$) o valor b^* para o queijo derretido. Para todos os tratamentos, a intensidade da cor amarela aumentou quando o queijo foi derretido, o que era esperado, devido ao escurecimento não enzimático.

TABELA 4.17. Quadrados médios e probabilidades para a luminosidade (valor L*), intensidade da cor vermelha (valor a*) e intensidade da cor amarela (valor b*) para o queijo mussarela *light* (não derretido) produzido por acidificação direta durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

Fatores	GL	Valor L*		Valor a*		Valor b*	
		QM	p	QM	p	QM	p
Fator de concentração (A)	2	11,7433	0,186	0,1135	0,214	11,4567	0,022*
Erro (a)	4	4,4465		0,0488		1,0077	
Tempo de armazenamento (B)	4	0,9228	0,310	0,0254	0,733	0,6281	0,195
Interação A*B	8	0,5232	0,673	0,0038	0,999	0,1359	0,933
Erro (b)	24	0,7272		0,0504		0,3811	

GL = grau de liberdade; p = probabilidade; QM = quadrado médio

TABELA 4.18. Quadrados médios e probabilidades para a luminosidade (valor L*), intensidade da cor vermelha (valor a*) e intensidade da cor amarela (valor b*) para o queijo mussarela *light* (derretido) produzido por acidificação direta durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

Fatores	GL	Valor L*		Valor a*		Valor b*	
		QM	p	QM	p	QM	p
Fator de concentração (A)	2	12,0827	0,176	0,4110	0,259	4,0292	0,234
Erro (a)	4	4,3758		0,2128		1,8850	
Tempo de armazenamento (B)	4	12,2951	0,000*	0,4821	0,111	2,3745	0,517
Interação A*B	8	2,26805	0,227	0,0691	0,958	0,5418	0,990
Erro (b)	24	1,5620		0,2287		2,8495	

GL = grau de liberdade; p = probabilidade; QM = quadrado médio

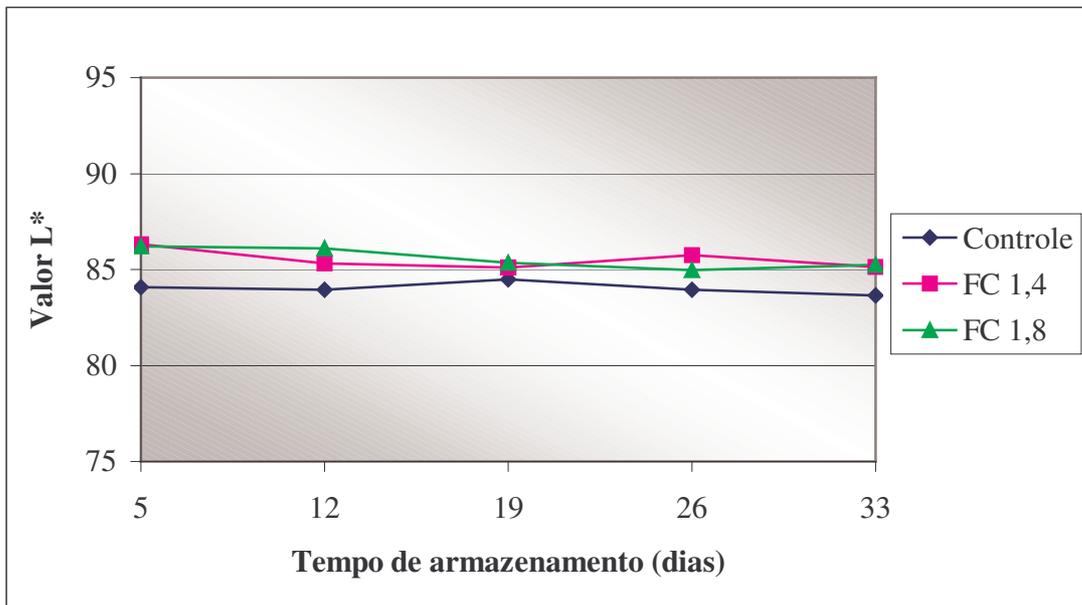


FIGURA 4.19. Variação da luminosidade (valor L*) dos queijos (não derretidos) produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

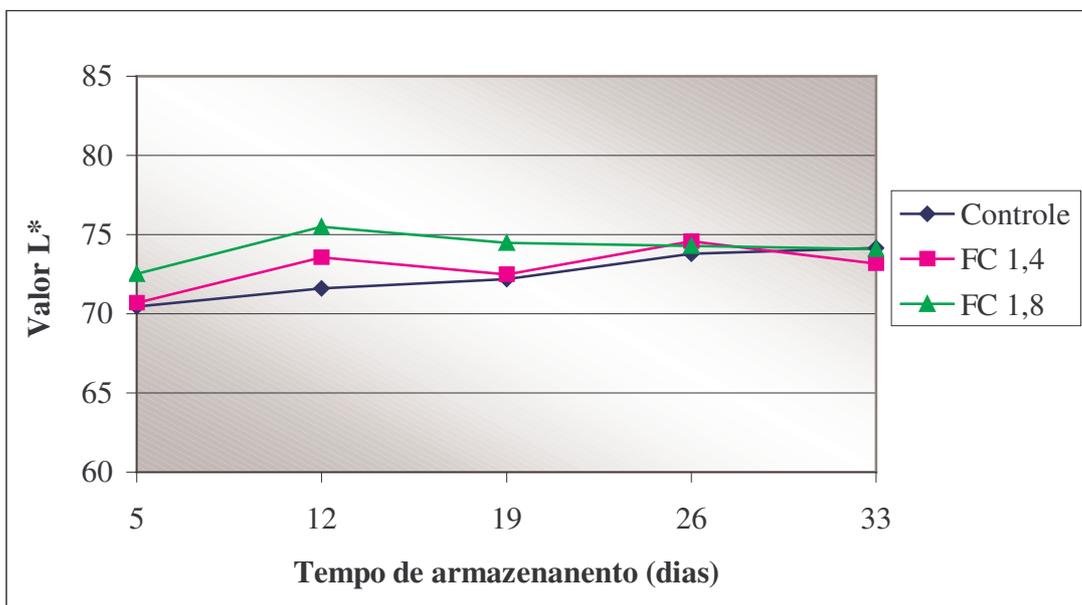


FIGURA 4.20. Variação da luminosidade (valor L*) dos queijos (derretidos) produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração durante 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

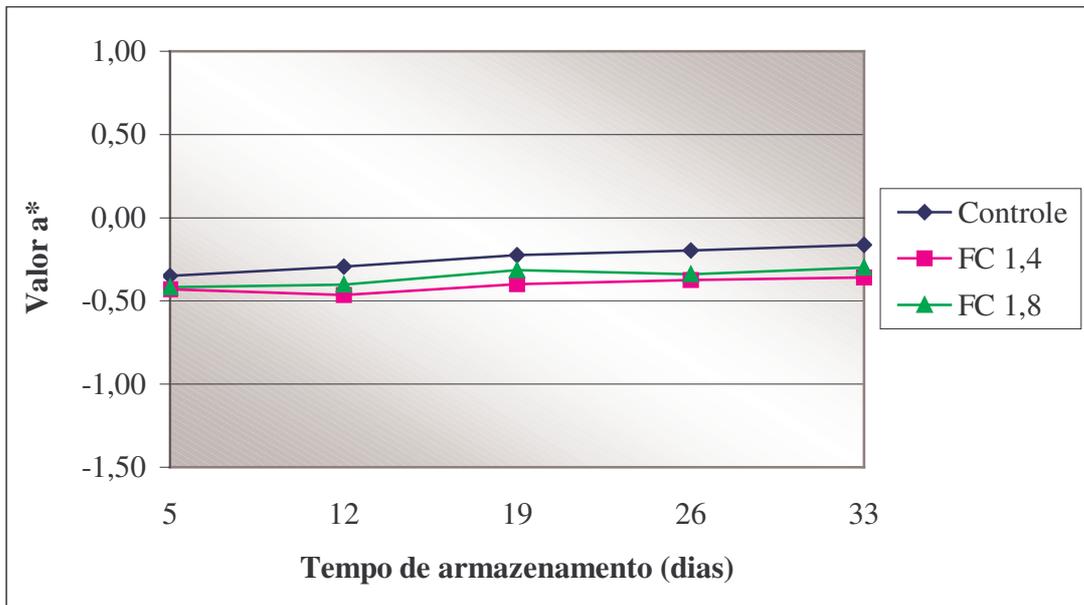


FIGURA 4.21. Variação da intensidade da cor vermelha (valor a^*) dos queijos (não derretidos) produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração ao longo dos 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

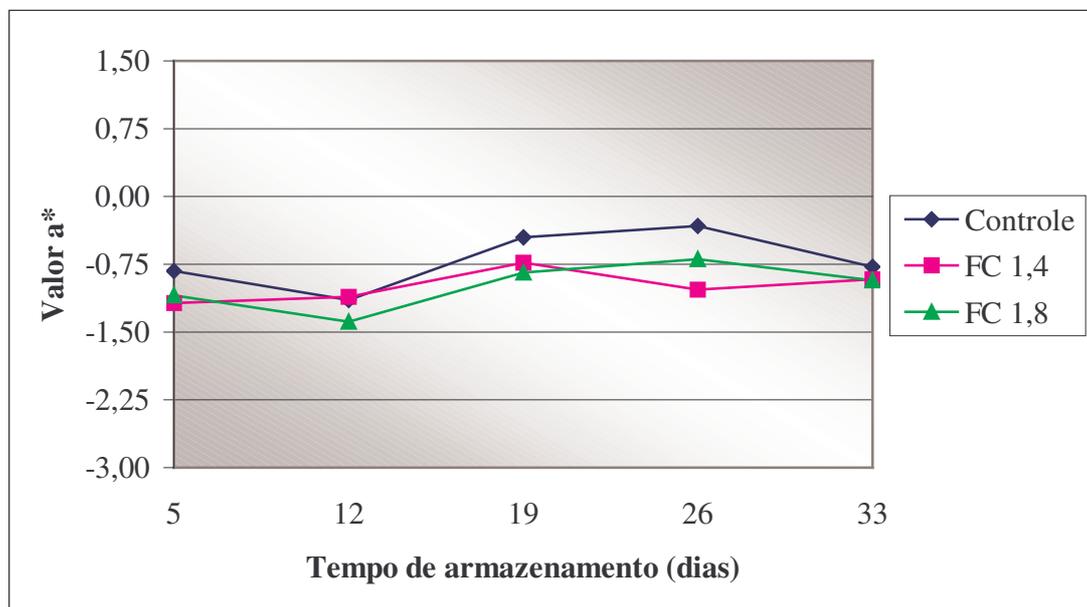


FIGURA 4.22. Variação da intensidade da cor vermelha (valor a^*) dos queijos (derretidos) produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração ao longo dos 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

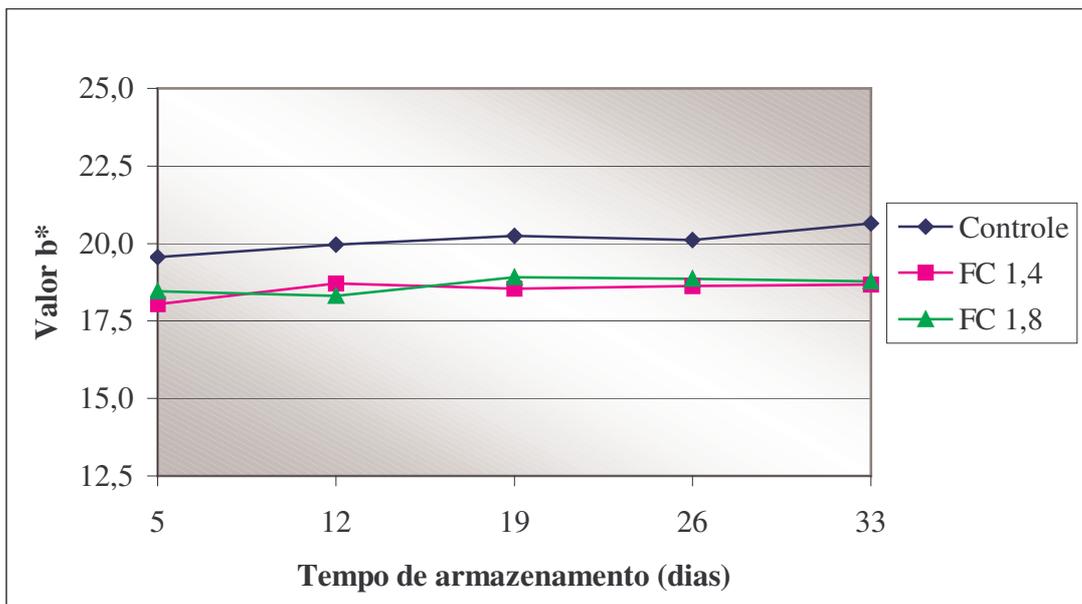


FIGURA 4.23. Variação da intensidade da cor amarela (valor b^*) dos queijos (não derretidos) produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração ao longo dos 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

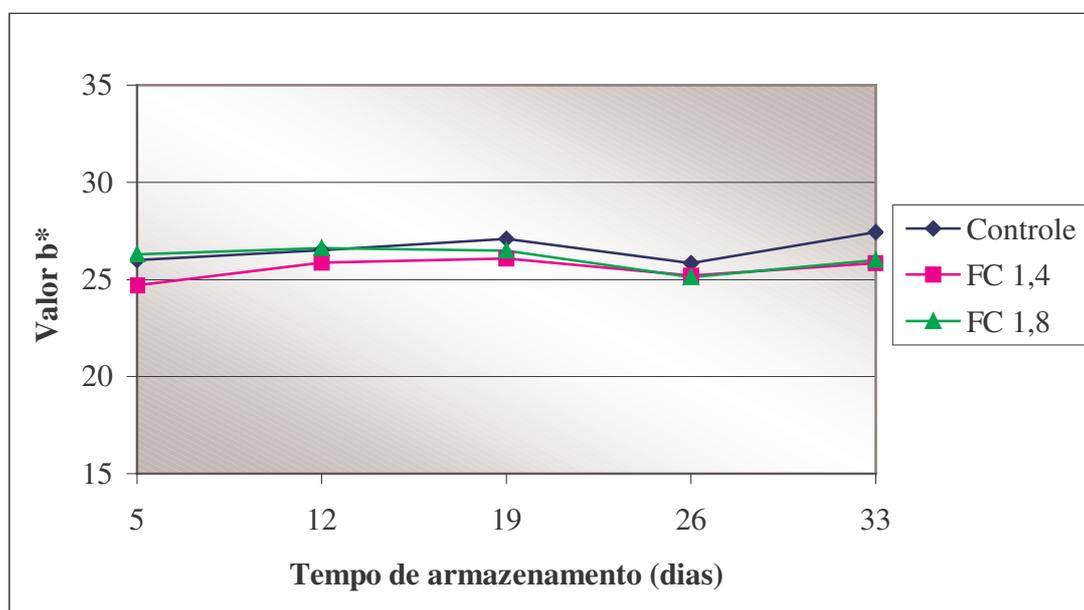


FIGURA 4.24. Variação da intensidade da cor amarela (valor b^*) dos queijos (derretidos) produzidos a partir de leite não concentrado (controle) e de retentados de baixo fator de concentração ao longo dos 33 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

4.10. Microestrutura

Na *Figura 4.25*, são mostrados os micrográficos dos queijos em aumento de 500 vezes, os quais revelam a presença de uma estrutura fibrosa, para todos os queijos, característica do queijo mussarela. Durante o processo de filagem da mussarela, a massa é submetida a trabalho mecânico em água quente e sua estrutura amorfa e descontínua é transformada em uma estrutura contínua e filamentososa, o que confere uma estrutura fibrosa ao queijo.

Todos os queijos apresentaram uma rede tridimensional de paracaseína bastante densa, entremeada por cavidades de dimensões irregulares dispersas aleatoriamente. Em geral, a estrutura de queijos de reduzido teor de gordura é dominada pela matriz protéica, que se apresenta mais densa que nos queijos integrais (Merril *et al.*, 1996), os quais possuem diversos pequenos espaços ocupados por gordura uniformemente distribuídos. Em geral, as cavidades maiores e mais profundas representam a fase soro do queijo e as cavidades menores e abauladas são espaços ocupados pela gordura removida. Alguns glóbulos de gordura não extraídos podem ser observados nos micrográficos dos queijos (setas brancas pequenas).

Os queijos feitos com retentados apresentaram uma rede protéica um pouco menos compacta, com cavidades mais profundas, o que pode ter contribuído para as menores elasticidade e firmeza apresentadas por estes queijos em relação ao queijo controle.

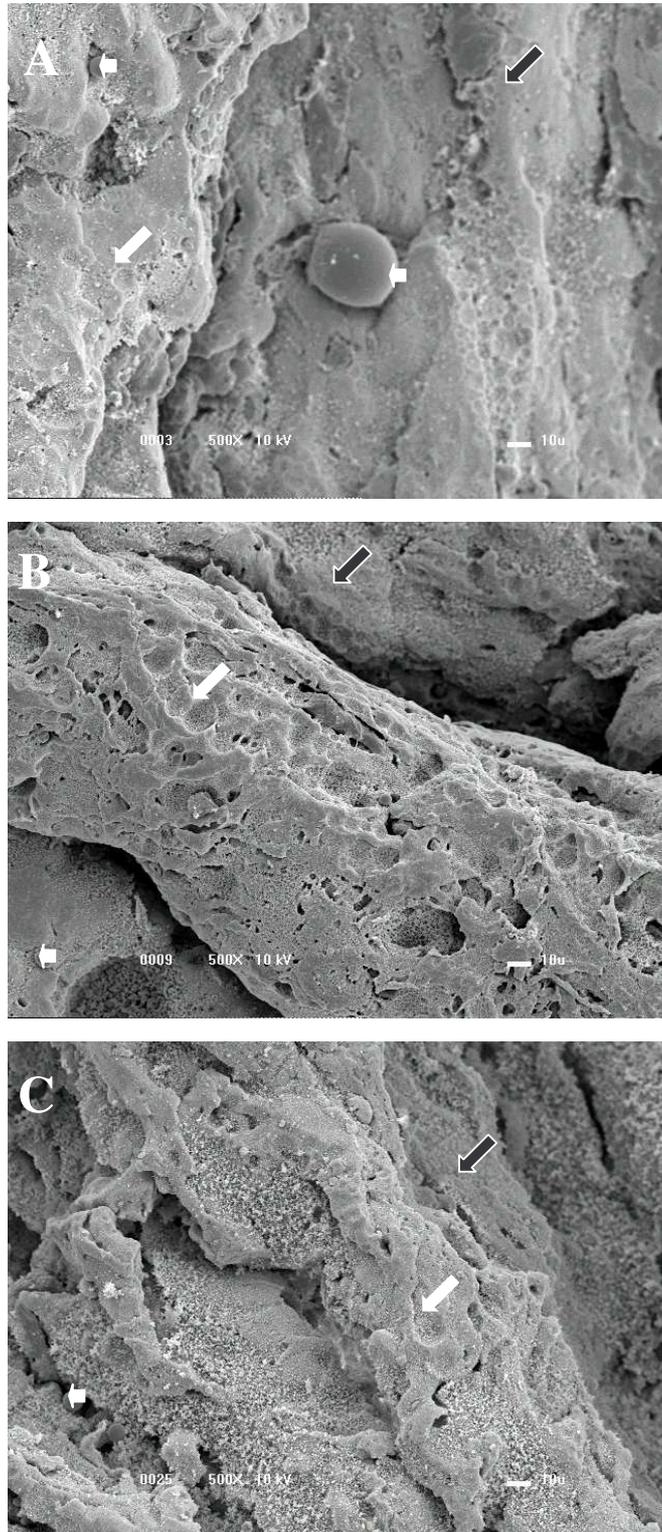


FIGURA 4.25. Queijo mussarela *light* produzido por acidificação direta a partir de retentados de baixo fator de concentração e de leite não ultrafiltrado (controle); 25 dias

após a fabricação. A) queijo controle; B) queijo FC 1,4; C) queijo FC 1,8. Setas brancas grandes: espaços ocupados pela gordura; Setas pretas: matriz de proteína; Setas brancas pequenas: glóbulos de gordura não extraídos.

4.11. Análise Sensorial

Os queijos controle, FC 1,4 e FC 1,8 foram avaliados com 27 dias de fabricação. Os queijos comerciais A e B, com 21 e 30 dias, respectivamente. Estes foram os lotes encontrados no mercado com data de fabricação mais próxima à dos queijos experimentais.

A *Tabela 4.19*. mostra as notas médias da análise sensorial para a aparência, impressão global, aroma, sabor, textura e intenção de compra dos queijos mussarela *light* feitos a partir de retentados de baixo fator de concentração e de leite não ultrafiltrado e dos queijos mussarela *light* comerciais.

Os histogramas de frequências para os atributos aparência, impressão global, aroma, sabor, textura e para a intenção de compra são apresentados nas *Figuras 4.26., 4.27., 4.28., 4.29., 4.30. e 4.31.*, respectivamente.

O uso de retentados de baixo fator de concentração não prejudicou a qualidade sensorial do queijo mussarela *light* feito por acidificação direta, visto que, para todos os atributos avaliados e para a intenção de compra, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os queijos controle, FC 1,4 e FC 1,8.

Em relação à aparência, todos os queijos experimentais obtiveram notas estatisticamente inferiores ($p < 0,05$) às dos queijos comerciais. Houve comentários por parte dos provadores de que os queijos controle, FC 1,4 e FC 1,8 apresentavam cor “clara”, o que deve ter influenciado este resultado. Os queijos experimentais apresentaram teor de gordura médio de 12,5%, inferior ao dos queijos comerciais que, de acordo com as informações nutricionais declaradas pelos fabricantes, era de 18% em média. Como a remoção de gordura está associada a uma coloração mais clara em queijo mussarela (Rudan *et al.*, 1999; Merril *et al.*, 1994), este pode ter sido o motivo da percepção dos provadores em relação à aparência dos queijos, mais especificamente da cor. Ainda assim, os queijos experimentais tiveram boa aceitação quanto à aparência, visto que mais de 70% dos provadores atribuíram

notas entre 9 (gostei muitíssimo) e 7 (gostei moderadamente) para este atributo (*Figura 4.26.*).

Quanto à impressão global, tanto os queijos feitos com retentados como o queijo controle tiveram uma boa aceitação, diferindo ($p < 0,05$) apenas do queijo comercial B, que obteve a melhor avaliação. Como pode ser visto na *Figura 4.27.*, mais de 75% dos provadores atribuíram notas entre 9 e 7 para os queijos experimentais. A menor aceitação global dos queijos experimentais em relação ao queijo comercial B foi provavelmente um resultado de sua menor aceitação em relação à aparência e tendência de menor aceitação quanto ao aroma e sabor.

Para o atributo aroma, os queijos feitos com retentados apresentaram aceitação similar à do queijo controle e à dos queijos comerciais ao nível de 5% de significância. Quanto ao sabor, o queijo feito com retentado de FC 1,8 obteve aceitação similar à dos queijos comerciais ao nível de significância observado, embora tenha havido uma tendência de melhor aceitação para o queijo comercial B. Os queijos FC 1,4 e controle apresentaram aceitação inferior ao queijo B.

Observa-se que as notas atribuídas para o aroma e para o sabor dos queijos experimentais foram ligeiramente menores em comparação aos demais atributos. Podem ter contribuído para isso o uso da acidificação direta e o baixo teor de sal dos queijos, no caso do sabor. Os provadores comentaram que os queijos estavam com pouco sal, em geral associando este fato a um “sabor fraco, suave”. Isto indica que o baixo teor de sal teve uma influência negativa na avaliação do sabor dos queijos experimentais, visto que o gosto salgado é um atributo importante na aceitação do queijo.

Em relação à textura, os queijos experimentais foram significativamente superiores ao queijo A e similares ao queijo B ao nível de 5% de significância. Apesar do reduzido teor de gordura, que em geral acarreta prejuízo da textura do queijo, os queijos feitos com retentados e o queijo controle tiveram uma boa aceitação em relação a este atributo. Embora as médias das notas atribuídas para os queijos experimentais tenham sido estatisticamente similares, observa-se pelo histograma de frequências (*Figura 4.30.*) que os queijos feitos com retentados tiveram uma maior porcentagem de notas 9 (gostei muitíssimo) e 8 (gostei muito) que o queijo controle, o que sugere uma tendência de maior aceitação dos queijos feitos com retentados em relação à

textura. Isto está de acordo com os resultados das análises reológicas, que indicaram maior maciez e menor firmeza para os queijos feitos com retentados.

Quanto à intenção de compra, os queijos experimentais tiveram avaliação similar à dos queijos comerciais ao nível de 5% de significância. Apesar da aceitação global dos queijos experimentais ter sido estatisticamente inferior à do queijo comercial B, isto não foi refletido na intenção de compra dos provadores. Este fato se deve provavelmente à boa aceitação apresentada pelos queijos experimentais em relação aos atributos avaliados.

TABELA 4.19. Notas médias da análise sensorial dos queijos produzidos a partir de retentados de baixo fator de concentração e de leite não ultrafiltrado e de dois queijos mussarela *light* comerciais.

Atributo	Queijos				
	Controle	FC 1,4	FC 1,8	A	B
Aparência	7,03 ^a	7,24 ^a	7,24 ^a	7,91 ^b	8,26 ^b
Impressão global	6,82 ^a	7,12 ^a	7,12 ^a	7,18 ^a	7,82 ^b
Aroma	6,56 ^a	6,82 ^{ab}	6,76 ^{ab}	7,41 ^b	7,44 ^b
Sabor	6,29 ^a	6,50 ^a	6,94 ^{ab}	6,82 ^{ab}	7,65 ^b
Textura	7,21 ^a	7,76 ^a	7,18 ^a	5,47 ^b	7,76 ^a
Intenção de compra	3,44 ^{ab}	3,59 ^{ab}	3,56 ^{ab}	3,41 ^a	4,09 ^b

^{a, b} Médias seguidas de letras iguais, numa mesma linha, não diferem significativamente entre si ($p > 0,05$).

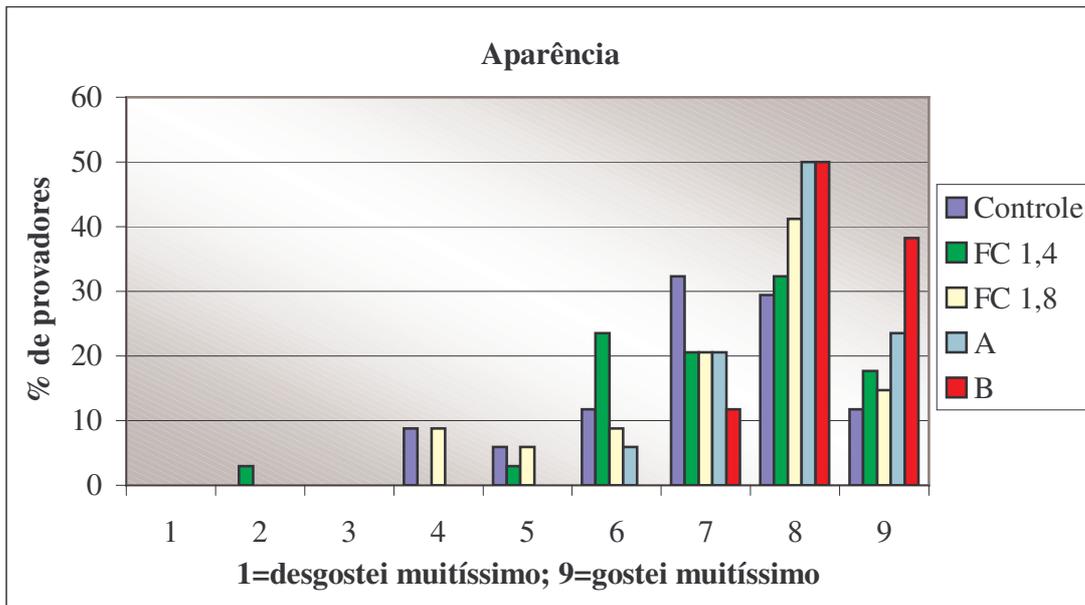


FIGURA 4.26. Histograma de frequências da avaliação sensorial dos queijos mussarela *light* em relação à *Aparência*.

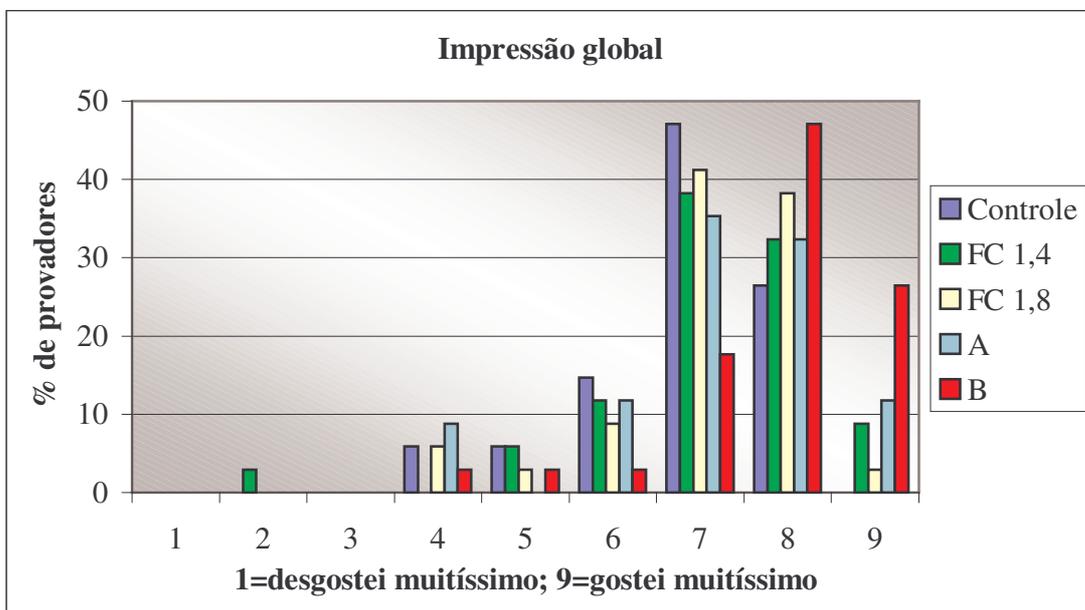


FIGURA 4.27. Histograma de frequências da avaliação sensorial dos queijos mussarela *light* em relação à *Impressão Global*.

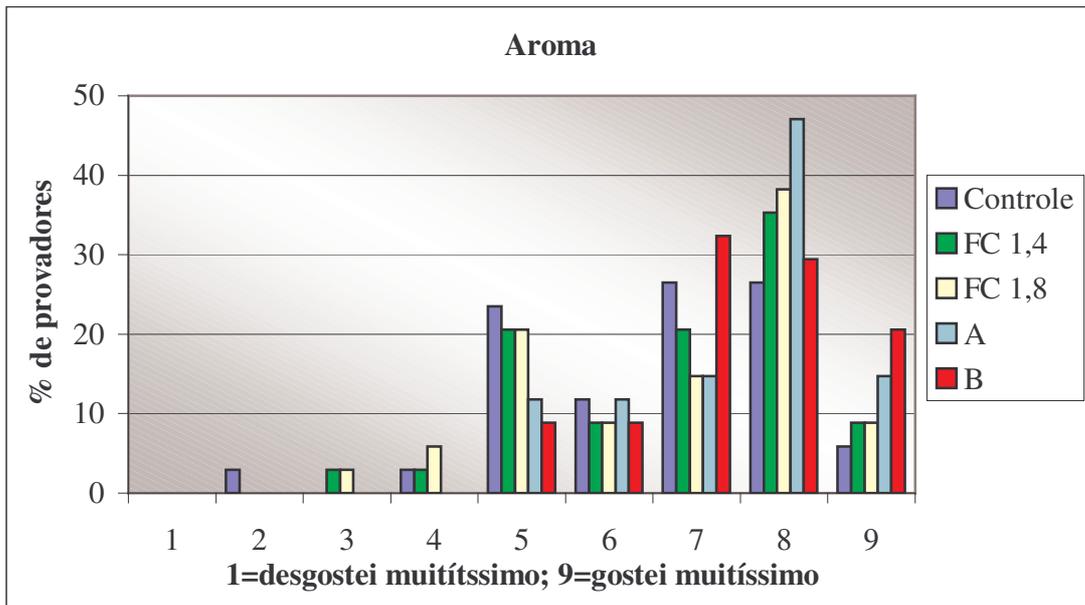


FIGURA 4.28. Histograma de frequências da avaliação sensorial dos queijos mussarela *light* em relação ao *Aroma*.

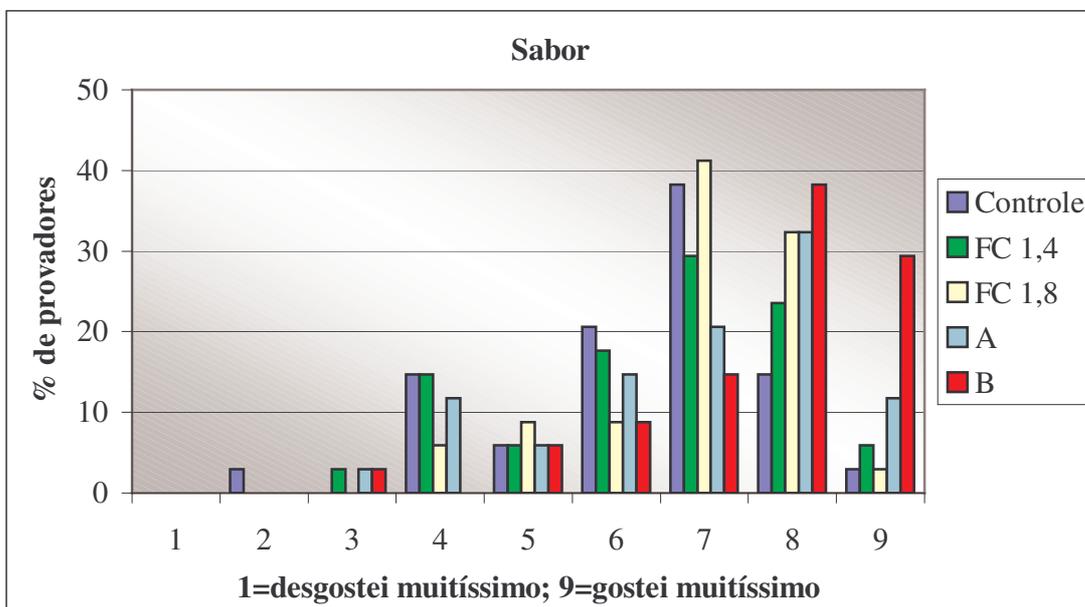


FIGURA 4.29. Histograma de frequências da avaliação sensorial dos queijos mussarela *light* em relação ao *Sabor*.

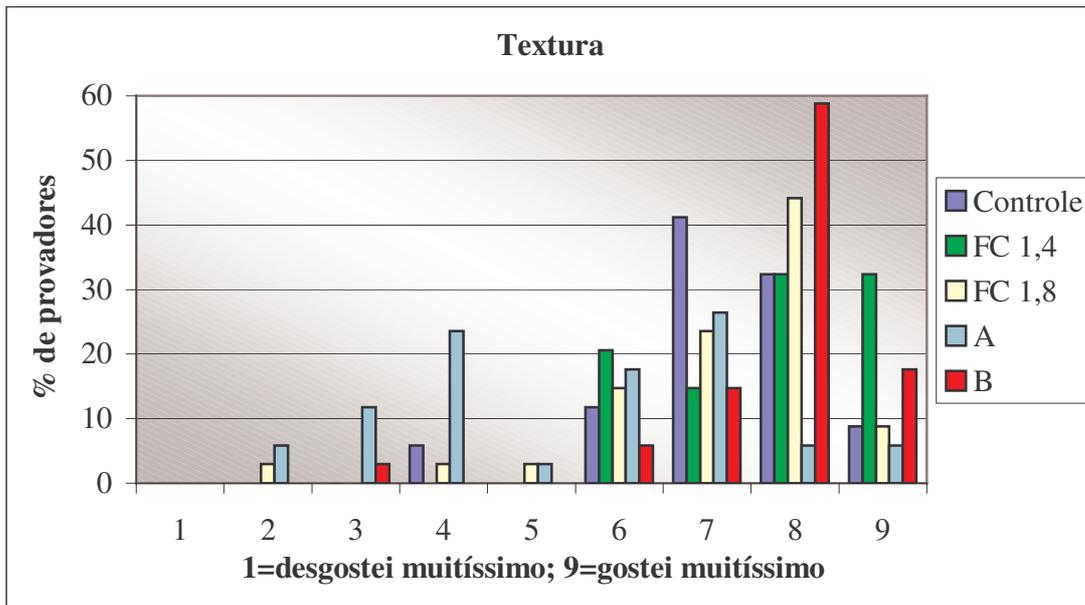


FIGURA 4.30. Histograma de frequências da avaliação sensorial dos queijos mussarela *light* em relação à *Textura*.

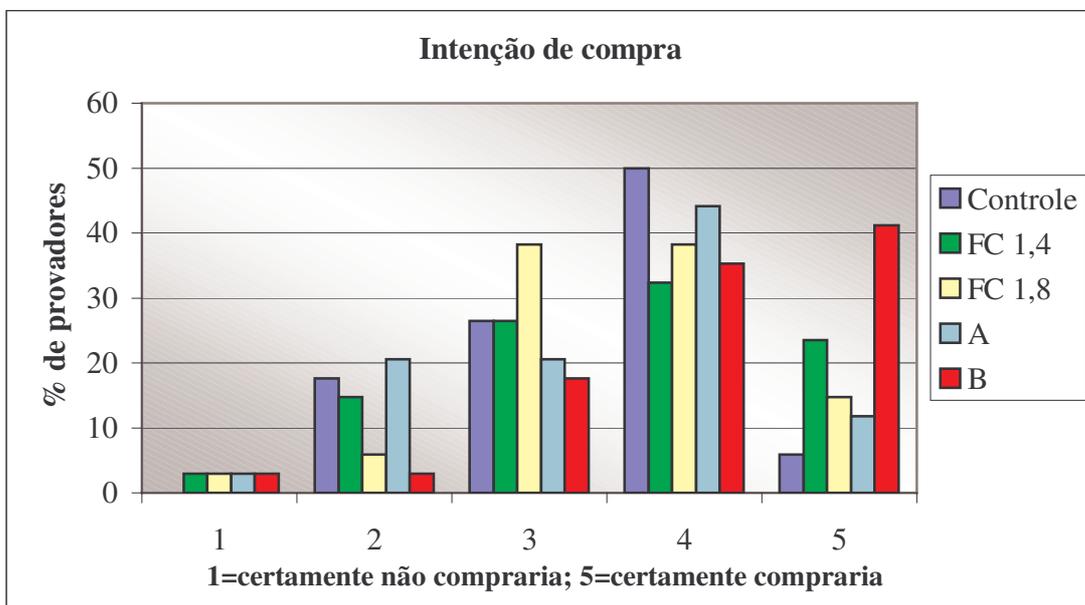


FIGURA 4.31. Histograma de frequências da avaliação sensorial dos queijos mussarela *light* em relação à *Intenção de Compra*.

5. CONCLUSÕES

A utilização de retentados de baixos fatores de concentração na fabricação do queijo mussarela *light* por acidificação direta resultou em diferenças em relação a composição, rendimento, propriedades reológicas, liberação de óleo livre, cor e microestrutura.

Os queijos feitos com retentados FC 1,4 e FC 1,8 apresentaram menores teores de proteína e de cálcio e tendência de maior teor de umidade em relação ao queijo controle. O menor teor de cálcio pode estar associado à formação de uma rede protéica com menor grau de interações entre as proteínas e assim menor habilidade para expulsar o soro. Isto deve ter influenciado na tendência de maior retenção de umidade destes queijos em relação ao queijo controle.

O rendimento real dos queijos fabricados a partir de retentados foi maior, o que é um reflexo de sua tendência de maior retenção de umidade.

O uso de retentados resultou em uma diminuição da elasticidade e da firmeza dos queijos em virtude da tendência de maior retenção de umidade, menor teor de proteína e da formação de uma matriz protéica menos rígida e compacta.

Os queijos feitos com retentados apresentaram menor liberação de óleo livre e cor mais clara que o queijo controle.

A utilização de retentados não influenciou significativamente o pH, a acidez titulável, os níveis de proteólise, a capacidade de retenção de água e a capacidade de derretimento dos diferentes queijos. A redução do teor de gordura prejudicou a capacidade de derretimento dos queijos. Os queijos apresentaram capacidade de retenção de água inicial relativamente baixa. Um aumento do teor de sal poderia promover uma melhoria inicial desta propriedade, visto que o sal está associado a um aumento da capacidade de hidratação da matriz protéica.

Os níveis de proteólise aumentaram significativamente durante o tempo de armazenamento. No entanto, esse aumento foi pequeno em relação aos normalmente encontrados para queijo mussarela, o que provavelmente se deve à utilização de pequena quantidade de coalho na fabricação dos queijos. Isto resultou na manutenção das

propriedades funcionais e reológicas constantes, visto que a proteólise está positivamente relacionada à evolução destas propriedades durante o armazenamento. Por outro lado, baixos níveis de proteólise podem ser interessantes no sentido de prolongar a vida útil do queijo.

Em relação à microestrutura, todos os queijos apresentaram uma rede protéica bastante densa em virtude da remoção do teor de gordura. Os queijos feitos com retentados parecem ter apresentado uma estrutura menos compacta que o queijo controle, o que pode estar associado a seu menor teor de proteína e tendência de maior retenção de umidade.

O uso de retentados não prejudicou a qualidade sensorial dos queijos, que apesar do baixo teor de gordura, tiveram boa aceitação, principalmente em relação à textura. Embora os queijos feitos com retentados tenham apresentado menor elasticidade e menor firmeza, esta diferença não foi percebida na análise sensorial. De um modo geral, os queijos tiveram aceitação similar à de queijos mussarela *light* comerciais. No entanto, o sabor dos queijos poderia ainda ser melhorado através do aumento do seu teor de sal.

De uma maneira geral, o aumento do fator de concentração não influenciou significativamente as características do queijo mussarela *light* feito por acidificação direta, exceto o rendimento real, que foi maior para o queijo feito com retentado de FC 1,8.

Tendo em vista os resultados obtidos no presente trabalho, conclui-se que o uso de retentados de baixo fator de concentração é potencialmente viável na produção de queijo mussarela *light* por acidificação direta, pois além de serem obtidos aumento da capacidade da planta e padronização da matéria-prima, que promove rendimento e qualidade constantes, a textura do queijo, que é um problema acarretado pela remoção da gordura, pode ser melhorada. As características dos queijos não foram influenciadas pelo fator de concentração, e assim o FC 1,8 é o mais indicado por viabilizar um maior aumento da capacidade da planta.

Vale salientar que são necessários maiores estudos, principalmente no sentido de melhorar as propriedades funcionais do queijo, em especial a capacidade de derretimento, que é um atributo importante para o queijo mussarela. A incorporação de proteínas do soro por meio de tratamento térmico do leite ou retentado poderia aumentar a capacidade de retenção de água e o rendimento do queijo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASCHAFFENBURG, R.; DREWRY, J. New procedure for the routine determination of the various non casein proteins in milk. In: INTERNATIONAL DAIRY CONGRESS, 15., 1959, London,. **Proceedings**. 1959. p.1631-1637.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC international**. Cunniff, P. (Ed.). 16.ed., Gaithersburg, 1997. v.2.
- BARBANO, D.M.; CHU, K.Y.; YUN, J.J.; KINDSTEDT, P.S. Contributions of coagulant, starter and milk enzymes to proteolysis and browning in Mozzarella cheese. In: ANNUAL MARSHALL ITALIAN CHEESE SEMINAR, 30., Set. 1993, Madison, **Proceedings**. 1993. p.41-50.
- BARBANO, D.M.; SCIANCALEPORE, V.; RUDAN, M.A. Characterization of milk proteins in ultrafiltration permeate. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.71, n.10, p.2655-2657, Oct., 1988.
- BASTIAN, E.D.; COLLINGE, S.K.; ERNSTROM, C.A. Ultrafiltration: partitioning of milk constituents into permeate and retentate. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.74, n.8, p.2423-2434, Aug., 1991.
- BECH, A.M. Characterizing ripening in UF-cheese. **International Dairy Journal**, Barking, v.3, n.4-6, p.329-342, 1993.
- BENFELDT, C.; SORENSEN, J.; PETERSEN, T.E. Inhibitory activity against plasmin, trypsin, and elastase in rennet whey and in cheese fortified with whey protein. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.81, n.3, p.615-620, Mar., 1998.
- BERTOLA, N.C.; BEVILACQUA, A.E.; ZARITZKY, N.E. Changes in rheological and viscoelastic properties and protein breakdown during the ripening of 'Port Salut Argentino' cheese. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v.26, n.5, p.467-478, Oct., 1991.

- BLAKESLEY, R.W.; BOEZI, J.A. New staining technique for proteins in polyacrylamide gels using coomassie brilliant blue G250. **Analytical Biochemistry**, San Diego, v.82, n.2, p.580-582, 1977.
- BYNUM, D.G; BARBANO, D.M. Whole milk reverse osmosis retentates for Cheddar cheese manufacture: chemical changes during ageing. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.68, n.1, p.1-10, Jan., 1985.
- BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 27, de 13 de Janeiro de 1998. Aprova o Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar. **Diário Oficial da União**, Brasília, 19 de jan. de 1998.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Portaria nº 364, de 4 de Setembro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Queijo Mussarela. **Diário Oficial da União**, Brasília, 8 de set. de 1997.
- CREAMER, L.K.; IYER, M.; LELIÉVRE, J. Effect of various levels of rennet addition on characteristics of Cheddar cheese made from ultrafiltered milk. **New Zealand Journal of Dairy Science and Technology**, Hamilton, v.22, n.3, p.205-214, Dec., 1987.
- CUNHA, C.R. **Efeito do uso de retentados de baixo fator de concentração no rendimento, proteólise e propriedades viscoelásticas de queijo Minas Frescal de baixo teor de gordura fabricado a partir de leite ultrafiltrado**. 2002. 114 p. Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.
- DALGLEISH, D.G. The enzymatic coagulation of milk. In: FOX, P.F. (Ed.) **Advanced Dairy Chemistry-1: Proteins**. London: Elsevier Applied Science, 1992. p.579-619.
- DATAMARK CONSULTORES (Brasil). **Indústria Queijeira. Um segmento de extraordinário potencial para o setor de embalagens**. Brasil Pack'98. 13.ed., São Paulo, p.148-159, 1998.
- DAVE, R.I.; McMAHON, D.J.; OBERG, C.J.; BROADBENT, J.R. Influence of coagulant level on proteolysis and functionality of Mozzarella cheeses made using direct acidification. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.86, n.1, p.114-128, Jan., 2003.

- DEL PRATO, S. Italian Mozzarella. **Dairy Industries International**, v.58, n.4, p.26-29, Apr., 1993.
- DRAKE, M.A.; SWANSON, B.G. Reduced- and low-fat cheese technology: a review. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v.6, n.11, p.366-369, Nov., 1995.
- ECKER, K.F.; ZOTTOLA, E.A. Modeling flux of skim milk as a function of pH, acidulant, and temperature. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.75, n.11, p. 2952-2958, Nov., 1992.
- ELGAZZAR, F.E.; MARTH, E.H. Ultrafiltration and reverse osmosis in dairy technology: a review. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.54, n.10, p.801-809, Oct., 1991.
- FARKYE, N.Y.; KIELY, L.J.; ALLSHOUSE, R.D.; KINDSTEDT, P.S. Proteolysis in Mozzarella cheese during refrigerated storage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.74, n.5, p.1433-1438, May, 1991.
- FENELON, M.A.; O'CONNOR, P.; GUINEE, T.P. The effect of fat content on the microbiology and proteolysis in Cheddar cheese during ripening. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.83, n.10, p.2173-2183, Oct., 2000.
- FERNANDEZ, A.; KOSIKOWSKI, F.V. Physical properties of direct acidified mozzarella cheese from ultrafiltered whole milk retentates. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.69, n.3, p. 643-648, Mar., 1986.
- FERREIRA, D.N.; VIOTTO, W.H. Capacidade de derretimento do queijo mussarela fabricado pelo processo tradicional e por acidificação direta. In: CONGRESSO INTERNO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 7., 1999, Campinas. **Resumos**. Campinas: UNICAMP, 1999. CD-ROM.
- FIFE, R.L.; McMAHON, D.J.; OBERG, C.J. Functionality of low fat mozzarella cheese. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.79, n.11, p.1903-1910, Nov., 1996.
- FOX, P.F.; GUINEE, T.P.; COGAN, T.M.; McSWEENEY, P.L.H. (Ed.) Enzymatic Coagulation of Milk. In: **Fundamentals of Cheese Science**. Gaithersburg: Aspen, 2000a. Cap.6, p.98-137.

- FOX, P.F.; GUINEE, T.P.; COGAN, T.M.; McSWEENEY, P.L.H. (Ed.) Cheese Yield. In: **Fundamentals of Cheese Science**. Gaithersburg: Aspen, 2000b. Cap.9, p.169-205.
- FOX, P.F.; GUINEE, T.P.; COGAN, T.M.; McSWEENEY, P.L.H. (Ed.) Cheese Rheology and Texture. In: **Fundamentals of Cheese Science**. Gaithersburg: Aspen, 2000c. Cap.13, p.305-340.
- FOX, P.F.; GUINEE, T.P.; COGAN, T.M.; McSWEENEY, P.L.H. (Ed.) Post-coagulation treatment of renneted milk gels. In: **Fundamentals of Cheese Science**. Gaithersburg: Aspen, 2000d. Cap.7, p.138-152.
- FOX, P.F.; McSWEENEY, P.L.H. (Ed.) Salts of Milk. In: **Dairy Chemistry and Biochemistry**. London; New York: Blackie Academic and Professional, 1998. Cap.5, p.239-263.
- FURTADO, M.M. “Entrevista: Múcio M. Furtado”. **Indústria de Laticínios**, São Paulo, v.6, n.34, p.5-9, 2001.
- FURTADO, M.M. **Manual Prático da Mussarella (Pizza Cheese)**. Campinas: Master Graf, 1997. 70p.
- FURTADO, M.M.; LOURENÇO-NETTO, J.P.M. **Tecnologia de queijos: Manual técnico para a produção industrial de queijos**. São Paulo: Dipemar, 1994. 118p.
- GIGANTE, M.L. **Requeijão cremoso obtido por ultrafiltração de leite pré-acidificado adicionado de concentrado protéico de soro**. 1998. 122 p. Tese (Doutora em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1998.
- GARNOT, P. Influence of milk concentration by UF on enzymatic coagulation. **Bulletin of International Dairy Federation**, Brussels, n.225, p.11-15, 1985.
- GREEN, M.L.; SCOTT, K.J.; ANDERSON, M.; GRIFFIN, M.C.A.; GLOVER, F.A. Chemical characterization of milk concentrated by ultrafiltration. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v.51, n.2, p.267-278, May, 1984.
- GUINEE, T.P.; FEENEY, E.P.; AUTY, M.A.E.; FOX, P.F. Effect of pH and calcium concentration on some textural and functional properties of Mozzarella cheese.

- Journal of Dairy Science**, Champaign, v.85, n.7, p.1655-1669, July, 2002.
- GUINEE, T.P.; O'CALLAGHAN, D.J.; PUDJA, P.D.; O'BRIEN, N. Rennet coagulation properties of retentates obtained by ultrafiltration of skim milks heated to different temperatures. **International Dairy Journal**, Barking, v.6, n.6, p.581-596, June, 1996.
- GUO, M.R.; KINDSTEDT, P. Age-related changes in the water phase of mozzarella cheese. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.78, n.10, p.2099-2107, Oct., 1995.
- GUO, M.R.; GILMORE, J.A.; KINDSTEDT, P. Effect of sodium chloride on the serum phase of mozzarella cheese. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.12, p.3092-3098, Dec., 1997.
- HINRICHS, J. Incorporation of whey proteins in cheese. **International Dairy Journal**, Barking, v.11, n.4-7, p.495-503, 2001. Special issue.
- HOLSINGER, V.H. Nutritional aspects of reduced-fat cheese. In: MALIN, E.L.; TUNICK, M.H. (Ed.) **Chemistry of structure – Function relationships in cheese**. London: Plenum Press, 1995. Cap.22, p.339-344.
- KELLER, B.; OLSON, N.F.; RICHARDSON, T. Mineral retention and rheological properties of mozzarella cheese made by direct acidification. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.57, n.2, p.174-180, 1974.
- KINDSTEDT, P.S. Factors affecting the functional characteristics of unmelted and melted Mozzarella cheese. In: MALIN, E.L.; TUNICK, M.H. (Ed.). **Chemistry of structure – Function relationships in cheese**. London: Plenum Press, 1995. Cap.4, p.27-41.
- KINDSTEDT, P.S. Effect of manufacturing factors, composition, and proteolysis on the functional characteristics of mozzarella cheese. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Cleveland, v.33, n.2, p.167-187, 1993.
- KINDSTEDT, P.S. Mozzarella and pizza cheese. In: FOX, P.F. (Ed.) **Cheese: Chemistry, physics and microbiology**, London, New York. Elsevier Applied Science Publishers, 1987. Vol.2, cap.12, p.337-362.
- KINDSTEDT, P.S.; FOX, P.F. Modified Gerber test for free oil in melted Mozzarella cheese. **Journal of Food Science**, Chicago, v.56, n.4, p.1115-1116, July-Aug., 1991.

- KINDSTEDT, P.S.; GUO, M.R. Recent developments in the science and technology of pizza cheese. **Australian Journal of Dairy Technology**, Highett, v.52, n.1, p.41-43, Apr., 1997a.
- KINDSTEDT, P.S.; GUO, M.R. Chemically-acidified pizza cheese production and functionality. In: CHEESE SYMPOSIUM, 5., 1997. Fermoy, Co. Cork: University College Cork, 1997b. p.24-30.
- KOSIKOWSKI, F.V. The manufacture of Mozzarrelle cheese from pasteurized milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.34, p.641-648, 1951.
- KOSIKOWSKI, F.V.; MISTRY, V.V. **Cheese and fermented cheese foods**. 3.ed. AVI Publishing Company, Westport, 1997.
- LAU, K.Y; BARBANO, D.M.; RASMUSSEN, R.R. Influence of pasteurization on fat and nitrogen recoveries and Cheddar cheese yield. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.73, n.3, p.561-570, Mar., 1990.
- LELIÉVRE, J.; LAWRENCE, R.C. Manufacture of cheese from milk concentrated by ultrafiltration. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v.55, n.3, p.465-478, Aug., 1988.
- LO, C.G.; BASTIAN, E.D. Chymosin activity against α_{s1} -casein in model systems: influence of whey proteins. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, n.4, p.615-619, Apr., 1997.
- MARSHALL, R.J. Increasing cheese yields by high heat treatment of milk. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 53, n.2, p.313-322, May, 1986.
- MARSHALL, R.T. Chemical and physical methods. Pages 433-529. In: **Standard Methods for Examination of Dairy Products**. 16^a ed. Washington, DC: American Public Health Association. 1992.
- McGREGOR, J.U.; WHITE, C.H. Effect of enzyme treatment and ultrafiltration on the quality of lowfat cheddar cheese. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.73, n.3, p.571-578, Mar., 1990.

- McMAHON, D.J.; FIFE, R.L.; OBERG, C.J. Water partitioning in mozzarella cheese and its relationship to cheese meltability. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.82, n.7, p.1361-1369, July, 1999.
- McMAHON, D.J.; OBERG, C.J. Influence of fat, moisture and salt on functional properties of mozzarella cheese. **Australian Journal of Dairy Technology**, Highett, v.53, n.2, p.98-101, June, 1998.
- McMAHON, D.J.; ALLEYNE, M.C.; FIFE, R.L.; OBERG, C.J. Use of fat replacers in low fat mozzarella cheese. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.79, n.11, p.1911-1921, July, 1996.
- McMAHON, D.J.; OBERG, C.J.; McMANUS, W. Functionality of mozzarella cheese. **Australian Journal of Dairy Technology**, Highett, v.48, n.2, p.99-104, Nov., 1993.
- METZGER, L.E.; BARBANO, D.M.; RUDAN, M.A.; KINDSTEDT, P.S. Effect of milk preacidification on low fat Mozzarella cheese. I. Composition and yield. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.4, p.648-658, Apr., 2000.
- METZGER, L.E.; BARBANO, D.M.; KINDSTEDT, P.S.; GUO, M.R. Effect of milk preacidification on low fat Mozzarella cheese. II. Chemical and functional properties during storage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.84, n.6, p.1348-1356, June, 2001.
- MERRILL, R.K.; OBERG, C.J.; McMANUS, W.R.; KALÁB, M.; McMAHON, D.J. Microstructure and physical properties of a reduced fat mozzarella cheese made using *Lactobacillus casei* ssp. *casei* adjunct culture. **Lebensmittel Wissenschaft und Technology**, London, v.29, n.8, p.721-728, 1996.
- MERRILL, R.K.; OBERG, C.J.; McMAHON, D.J. A method for manufacturing reduced fat mozzarella cheese. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.77, n.7, p.1783-1789, July, 1994.
- MISTRY, V.V. Low fat cheese technology. **International Dairy Journal**, Barking, v.11, n.4-7, p.413-422, 2001. Special issue.
- MISTRY, V.V.; ANDERSON, D.L. Composition and microstructure of commercial full-fat and low-fat cheeses. **Food Structure**, Chicago, v.12, n.2, p. 259-266, 1993.

- OBERG, C.J.; McMANUS, W.R.; McMAHON, D.J. Microstructure of mozzarella cheese during manufacture. **Food Structure**, Chicago, v.12, n.2, p.251-258, 1993.
- OLIVEIRA, A.N.; FERREIRA, D.N.; GROSSO, C.R.F.; VIOTTO, W.H. Influência da quantidade de coagulante nas propriedades funcionais do queijo mussarela fabricado por acidificação direta. In: CONGRESSO DE NACIONAL DE LATICÍNIOS, 16., 1999, Juiz de Fora. **Anais**. Juiz de Fora: Revista do ILCT, 1999. v.54, n.309, p.109-115.
- OLIVEIRA, A.N. **Influência da concentração de quimosina na composição, rendimento, proteólise e propriedades funcionais do queijo mussarela feito por acidificação direta**. Campinas, 2001. 85p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- PASTORINO, A.J.; RICKS, N.P.; HANSEN, C.L.; McMAHON, D.J. Effect of calcium and water injection on structure-function relationships of cheese. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.86, n.1, p.105-113, Jan., 2003.
- PAULSON, B.M.; McMAHON, D.J.; OBERG, C.J. Influence of sodium chloride on appearance, functionality, and protein arrangements in nonfat Mozzarella cheese. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.81, n.8, p.2053-2064, Aug., 1998.
- PERI, C.; POMPEI, C.; ROSSI, F. Process optimization of skim milk protein recovery and purification by ultrafiltration. **Journal of Food Science**, Chicago, v.38, n.1, p.135-140, Jan., 1973.
- POMPEI, C.; RESMINI, P.; PERI, C. Skim milk protein recovery and purification by ultrafiltration. Influence of temperature on permeation rate and retention. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 38, n.5, p.867-870, Sep.-Oct., 1973.
- PRENTICE, J.H.; LANGLEY, K.R.; MARSHALL, R.J. Cheese Rheology. In: FOX, P.F. (Ed.) **Cheese: Chemistry, physics and microbiology**. London: Chapman & Hall, 1993. Vol.1, Cap.8, p.303-340.
- RAO, V.N.M. Classification, description and measurement of viscoelastic properties of solid foods. In: RAO, M.A.; STEFFE, J.F. (Ed.) **Viscoelastic Properties of Solid foods**. London, New York: Elsevier Applied Science, 1992. Cap.1, p.3-47.

- RENNER, E.; ABD EL-SALAM, M.H. **Application of ultrafiltration in the dairy industry**. London and New York: Elsevier Applied Science, 1991.
- RICHARDSON, G.H. **Standard methods for examination of dairy products**. 15.ed., Washington, DC: American Public Health Association, 1985.
- RODRÍGUEZ, J. Recent advances in the development of low-fat cheeses. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v.9, n.6, p.249-254, June, 1998.
- RODRÍGUEZ, J.; REQUENA, T.; GOUDÉDRANCHE, H.; MAUBOIS, JUÁREZ, M. Accelerated ripening of reduced-fat semi-hard cheese from a mixture of cow's, goat's and ewe's ultrafiltered milk by using a Lac' Prt' strain of *Lactococci*. **Lait**, v.76, n.6, p.515-524, 1996.
- ROWLAND, S.J. The determination of the casein content of milk. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 9, n.1, p.42-46, 1938.
- ROWNEY, M.K.; HICKEY, M.W.; ROUPAS, P. EVERETT, D.W. The effect of homogenization and milk fat fractions on the functionality of Mozzarella cheese. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.86, n.3, p.712-718, Mar., 2003.
- RUDAN, M.A.; BARBANO, D.M.; YUN, J.J.; KINDSTEDT, P.S. Effect of fat reduction on chemical composition, proteolysis, functionality, and yield of mozzarella cheese. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.82, n.4, p.661-672, Apr., 1999.
- RUDAN, M.A.; BARBANO, D.M.; GUO, M.R.; KINDSTEDT, P.S. Effect of the modification of fat particle size by homogenization on composition, proteolysis, functionality, and appearance of reduced fat Mozzarella cheese. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.81, n.8, p.2065-2076, Aug., 1998a.
- RUDAN, M.A.; BARBANO, D.M.; GUO, M.R.; KINDSTEDT, P.S. Effect of fat replacer (Salatrim[®]) on chemical composition, proteolysis, functionality, appearance, and yield of reduced fat Mozzarella cheese. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.81, n.8, p.2077-2088, Aug., 1998b.
- SACHDEVA, S.; PATEL, R.S.; REUTER, H. Rennet coagulation of ultrafiltered milk as influenced by protein concentration, heat treatment and soluble salts. **Indian Journal of Dairy Science**, New Delhi, v.48, n.1, p.57-62, 1995.

- SHEEHAN, J.J.; GUINEE, T.P. Effect of pH and calcium level on the biochemical, textural and functional properties of reduced-fat Mozzarella cheese. **International Dairy Journal**, Barking, *In Press*, 2003.
- SPADOTI, L.M.; OLIVEIRA, A.J. Uso de leite reconstituído na fabricação de queijo mussarela. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.19, n.1, jan.-abr., 1999.
- ST-GELAIS, D.; HACHÉ, S.; GROS-LOUIS, M. Combined effects of temperature, acidification, and diafiltration on composition of skim milk retentate and permeate. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.75, n.5, p.1167-1172, May, 1992.
- TARAS, S. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 19.ed. Washington: American Public Health Association, 1995.
- TUNICK, M.H.; SHIEH, J.J. Rheology of reduced-fat Mozzarella cheese. In: MALIN, E.L.; TUNICK, M.H. (Ed.). **Chemistry of structure – Function relationships in cheese**. London: Plenum Press, 1995. Cap.2, p.7-19.
- VALLE, J.L.E.; LEITÃO, M.F.F. Desmineralização, pH e acidez durante a fermentação/acidificação do queijo mozarela produzido pelas tecnologias tradicional e da acidificação direta. **Coletânea ITAL**, Campinas, v.25, n.1, p.59-66, 1995.
- VAN HOOYDONK, A.C.M.; HAGEDOORN, H.G.; BOERRIGTER, I.J. pH-induced physico-chemical changes of casein micelles in milk and their effect on renneting. 1.Effects of acidification on physico-chemical properties. **Netherlands Milk and Dairy Journal**, Amsterdam, v.40, n.2-3, p.281-296, 1986.
- VIOTTO, W.H.; OLIVEIRA, A.N. Produção de mussarela por acidificação direta usando pequena quantidade de coagulante. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 15, 1998, Juiz de Fora. **Anais**. Juiz de Fora: Revista do ILCT, 1998. v.53, n.304, p.44-52.
- WAUNGANA, A.; SINGH, H.; BENNETT, R.J. Influence of denaturation and aggregation of β -lactoglobulin on rennet coagulation properties of skim milk and ultrafiltered milk. **Food Research International**, Ottawa, v.29, n.8, p.715-721, Dec., 1996.

YUN, J.J.; HSIEH, Y.L.; BARBANO, D.M.; KINDSTEDT, P.S. Draw pH and storage affect rheological properties of Mozzarella cheese. **Journal of Food Science**, Chicago, v.59, n.6, p.1302-1304, Nov.-Dec., 1994.

ANEXO I

PROCEDIMENTO DE LIMPEZA E SANITIZAÇÃO DA MEMBRANA UTILIZADA NA ULTRAFILTRAÇÃO DO LEITE

Membrana: *Hollow-fiber* de polissulfona, marca Romicon[®], peso molecular de corte de 10kDa.

1. Após o término do processo e retirada de todo o retentado da linha, a membrana foi enxaguada com água filtrada a 50°C até que não fosse observado nenhum resíduo de leite.
2. Em seguida, procedeu-se a limpeza alcalina com NaOH 1% a 50°C por 30 minutos e posterior enxágüe com água filtrada a 50°C até pH neutro (verificado com papel indicador de pH).
3. A limpeza ácida foi realizada com ácido fosfórico 1% a 40°C por 30 minutos. Realizou-se o enxágüe com água filtrada até pH neutro.
4. A membrana foi submetida a processo de sanitização com solução de hipoclorito de sódio 200 mg/kg e 20 mg/kg a temperatura ambiente por 10 minutos com cada solução.
5. O fluxo de permeação da membrana foi verificado, sempre sob as mesmas condições, e como em todos os ensaios este não retornou ao seu valor original, a membrana foi tratada com solução de detergente enzimático P3-Ultrasil 53 a 1%, marca Henkel Ecolab[®], até a recuperação do fluxo (mínimo 95% do fluxo original).

ANEXO II

FICHA DE APLICAÇÃO - AVALIAÇÃO SENSORIAL

Nome: _____ Idade: _____ Data: _____

Você está recebendo uma amostra codificada de QUEIJO MUSSARELA LIGHT. Por favor, observe e prove a amostra e indique, conforme a escala abaixo, o quanto você gostou ou desgostou em relação à APARÊNCIA e à IMPRESSÃO GLOBAL:

AMOSTRA: _____

- 9 – Gostei muitíssimo
- 8 – Gostei muito
- 7 – Gostei moderadamente
- 6 – Gostei ligeiramente
- 5 – Nem gostei / nem desgostei
- 4 – Desgostei ligeiramente
- 3 – Desgostei moderadamente
- 2 – Desgostei muito
- 1 – Desgostei muitíssimo

APARÊNCIA _____
IMPRESSÃO GLOBAL _____

Agora, avalie novamente a amostra e indique o quanto você gostou ou desgostou em relação aos seguintes atributos:

AROMA _____
SABOR _____
TEXTURA _____

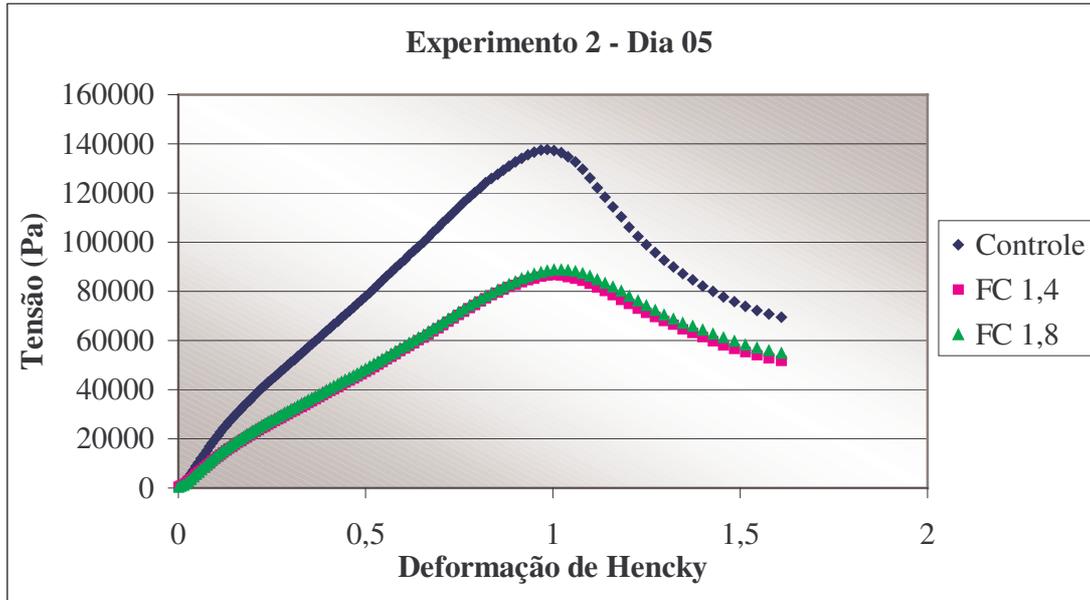
Se você encontrasse este produto à venda, qual seria sua atitude?

- 5 – Certamente compraria
- 4 – Provavelmente compraria
- 3 – Talvez comprasse / talvez não comprasse
- 2 – Provavelmente não compraria
- 1 – Certamente não compraria

Comentários: _____

ANEXO III

EXEMPLO DE CURVA DE COMPRESSÃO UNIAXIAL



ANEXO IV

PARÂMETROS DE AJUSTE DAS CURVAS DE RELAXAÇÃO

TABELA IV.1. Parâmetros de ajuste e valor R^2 (ajuste exponencial) das curvas de relaxação para os queijos do primeiro experimento.

Controle						
Tempo	S_0	S_1	τ_1	S_2	τ_2	R^2
5	0,151	0,414	12,511	0,368	196,565	0,9965
12	0,161	0,409	11,857	0,354	193,601	0,9963
19	0,159	0,412	12,051	0,356	198,696	0,9964
26	0,178	0,411	11,772	0,358	198,514	0,9964
33	0,212	0,398	11,486	0,322	199,525	0,9959
FC 1,4						
Tempo	S_0	S_1	τ_1	S_2	τ_2	R^2
5	0,132	0,417	12,664	0,378	195,116	0,9966
12	0,162	0,405	12,229	0,365	194,138	0,9966
19	0,154	0,402	12,413	0,373	195,098	0,9967
26	0,184	0,391	12,471	0,353	203,478	0,9964
33	0,198	0,386	12,917	0,343	213,693	0,9966
FC 1,8						
Tempo	S_0	S_1	τ_1	S_2	τ_2	R^2
5	0,145	0,426	12,446	0,371	197,778	0,9962
12	0,164	0,412	12,049	0,356	190,521	0,9964
19	0,156	0,407	12,347	0,371	193,366	0,9968
26	0,172	0,401	12,380	0,361	198,076	0,9964
33	0,187	0,393	12,574	0,347	207,580	0,9963

TABELA IV.2. Parâmetros de ajuste e valor R^2 (ajuste exponencial) das curvas de relaxação para os queijos do segundo experimento.

Controle						
Tempo	S_0	S_1	τ_1	S_2	τ_2	R^2
5	0,157	0,398	12,721	0,368	191,562	0,9967
12	0,182	0,393	12,178	0,366	196,549	0,9968
19	0,201	0,391	12,099	0,343	202,735	0,9964
26	0,192	0,390	12,177	0,346	199,513	0,9965
33	0,209	0,388	11,951	0,334	200,806	0,9962
FC 1,4						
Tempo	S_0	S_1	τ_1	S_2	τ_2	R^2
5	0,135	0,406	12,318	0,378	197,192	0,9968
12	0,156	0,403	12,683	0,369	205,968	0,9965
19	0,185	0,398	12,365	0,362	209,639	0,9967
26	0,185	0,395	12,317	0,358	210,909	0,9965
33	0,188	0,387	12,330	0,353	209,556	0,9966
FC 1,8						
Tempo	S_0	S_1	τ_1	S_2	τ_2	R^2
5	0,135	0,406	12,552	0,381	200,164	0,9970
12	0,170	0,419	12,206	0,377	207,969	0,9967
19	0,200	0,381	12,943	0,348	219,213	0,9968
26	0,176	0,389	12,467	0,356	208,364	0,9965
33	0,176	0,387	12,407	0,359	210,008	0,9967

TABELA IV.3. Parâmetros de ajuste e valor R^2 (ajuste exponencial) das curvas de relaxação para os queijos do terceiro experimento.

Controle						
Tempo	S_0	S_1	τ_1	S_2	τ_2	R^2
5	0,129	0,411	12,639	0,379	204,627	0,9968
12	0,185	0,398	12,430	0,360	216,373	0,9965
19	0,179	0,391	12,719	0,358	216,868	0,9964
26	0,175	0,385	12,622	0,363	213,732	0,9969
33	0,173	0,392	12,462	0,367	211,963	0,9967
FC 1,4						
Tempo	S_0	S_1	τ_1	S_2	τ_2	R^2
5	0,148	0,410	11,827	0,385	204,771	0,9969
12	0,175	0,387	12,544	0,366	218,641	0,9967
19	0,170	0,382	12,976	0,374	221,708	0,9968
26	0,169	0,384	12,748	0,375	217,638	0,9968
33	0,186	0,375	12,786	0,373	226,491	0,9969
FC 1,8						
Tempo	S_0	S_1	τ_1	S_2	τ_2	R^2
5	0,132	0,410	12,403	0,379	198,750	0,9967
12	0,161	0,391	12,611	0,368	210,526	0,9967
19	0,162	0,387	12,779	0,372	214,631	0,9967
26	0,173	0,384	12,643	0,379	216,018	0,9970
33	0,175	0,376	12,963	0,378	212,028	0,9973

ANEXO V

EXEMPLO DE AJUSTE EXPONENCIAL DA CURVA DE RELAXAÇÃO

