

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**EFEITO DO TRATAMENTO TÉRMICO DO LEITE E
RETENTADO NA QUALIDADE DE QUEIJO MINAS
FRESAL *LIGHT* FABRICADO POR ULTRAFILTRAÇÃO**

MARIANA KIKUCHI

Bacharel em Ciências dos alimentos

Dra. 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 - SP

2008

BANCA EXAMINADORA

PROFA. DRA. WALKIRIA HANADA VIOTTO
(ORIENTADORA)

PROF. DR. SALVADOR MASSAGUER ROIG
(MEMBRO)

PROFA. DRA. FLÁVIA MARIA NETTO
(MEMBRO)

DR. LUCIANO FACHIN
(MEMBRO)

*À minha família,
Por todo amor, apoio e incentivo*

AGRADECIMENTOS

À professora Walkiria Hanada Viotto, pela orientação, compreensão, pelo imenso aprendizado e, acima de tudo, por me servir de exemplo de profissional brilhante, que me inspira a mais profunda admiração. Obrigada ainda pela amizade e pelo bom humor sempre presentes.

Aos meus pais, Mario e Sumie, pelo amor, pelo apoio e paciência nas horas difíceis, e por serem exemplos de dedicação e carinho. Obrigada por tudo!

À minha irmã, Miriam, por estar ao meu lado para o que der e vier, pela força e pela torcida.

Aos meus queridos amigos da faculdade e do colegial, por todo o carinho e por estarem sempre comigo, me apoiando e incentivando.

Obrigada especialmente à Mari e à Aninha, por dividirem comigo todos os percalços do mestrado, por toda a ajuda nas análises a na planta piloto e por me fazerem rir muito mesmo quando tudo dava errado. Obrigada pelo apoio, companheirismo e por todos os momentos de descontração.

Aos professores Salvador e Flávia e ao Luciano, pela correção do trabalho e pelos importantes comentários e sugestões.

Ao professor Ademir Petenate, pela valiosa orientação a respeito das análises estatísticas.

À Maria Laura, pela enorme ajuda nos processamentos, nas análises e pela amizade.

À Bete, técnica do laboratório de Leite e derivados, pelas sugestões e ensinamentos que foram muito importantes para a execução dos experimentos.

Às técnicas Dirce, Eliana, Adriana e Carla pelo empréstimo de equipamentos necessários ao desenvolvimento do trabalho, pela orientação no uso dos mesmos, pela ajuda nas análises e pela boa vontade.

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS	XII
RESUMO	XIV
ABSTRACT	XV
1. INTRODUÇÃO	1
2. JUSTIFICATIVA	4
3. OBJETIVOS	4
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
4.1 <i>Queijo minas frescal</i>	5
4.2 <i>Queijos com baixo ou reduzido teor de gordura</i>	6
4.3 <i>Alternativas para melhoria da qualidade de queijos com baixo teor de gordura</i>	8
4.4 <i>Aplicação da Ultrafiltração na Produção de queijos</i>	10
4.4.1 Princípios de Separação por membranas	10
4.4.2 Membranas	11
4.4.3 Aplicações da Ultrafiltração na indústria Láctea	12
4.5 <i>Fabricação de queijos através da Ultrafiltração</i>	12
4.6 <i>Textura e reologia de queijos</i>	18
4.6.1 Fundamentos de reologia	18
4.6.2. Reologia dos queijos	20
5. MATERIAL E MÉTODOS	22
5.1 <i>Tratamento do leite</i>	22
5.2 <i>Ultrafiltração do leite</i>	22
5.3 <i>Fabricação do queijo</i>	23
5.4 <i>Amostragem dos queijos</i>	24
5.5 <i>Análises do leite, retentado, permeado e queijos</i>	24
5.5.1 Análises do leite, retentado e permeado	24
5.5.2 Análises dos queijos	25
5.6 <i>Tempo de coagulação</i>	25
5.7 <i>Cálculos de rendimento</i>	25

5.8	<i>Capacidade de retenção de água</i>	26
5.9	<i>Textura e reologia</i>	26
5.9.1	<i>Análise do Perfil de Textura (TPA)</i>	26
5.9.2	<i>Creep</i>	27
5.10	<i>Microestrutura</i>	27
5.11	<i>Proteólise</i>	28
5.12	<i>Proteína do soro desnaturada</i>	28
5.13	<i>Análise sensorial</i>	29
5.14	<i>Planejamento experimental e análise estatística dos resultados</i>	29
6.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
6.1.	<i>Composição físico-química</i>	31
6.2.	<i>Tempo de coagulação</i>	37
6.3	<i>Recuperação de Proteína e Gordura</i>	38
6.4	<i>Rendimento</i>	39
6.5.	<i>Proteólise</i>	40
6.6	<i>Capacidade de retenção de água (CRA)</i>	49
6.7	<i>Textura e reologia</i>	52
6.8	<i>Creep</i>	56
6.9	<i>Análise Sensorial</i>	62
6.10	<i>Microestrutura</i>	64
6.11	<i>Eletroforese</i>	67
7.	CONCLUSÕES	69
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
	ANEXO I – Ficha de Avaliação Sensorial	76
	ANEXO II	79
	ANEXO III	80

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Evolução da extensão da proteólise dos queijos Minas frescal <i>light</i> fabricados por ultrafiltração com o tempo de armazenamento refrigerado.	42
Figura 2. Efeito da interação do tratamento térmico do leite com o tratamento térmico do retentado na extensão de proteólise dos queijos Minas frescal <i>light</i> fabricados por ultrafiltração.	43
Figura 3. Efeito do tempo na extensão de proteólise dos queijos Minas frescal <i>light</i> fabricados por ultrafiltração.	43
Figura 4. Evolução da profundidade da proteólise dos queijos Minas frescal <i>light</i> fabricados por ultrafiltração com o tempo de armazenamento refrigerado.	45
Figura 5. Efeitos do tratamento térmico do leite e do tempo na profundidade de proteólise dos queijos Minas frescal <i>light</i> fabricados por ultrafiltração.	46
Figura 6. Efeitos do tratamento térmico dos retentados e do tempo na profundidade de proteólise dos queijos Minas frescal <i>light</i> fabricados por ultrafiltração.	46
Figura 7. Evolução do pH durante a proteólise dos queijos Minas frescal <i>light</i> fabricados por ultrafiltração com o tempo de armazenamento refrigerado.	47
Figura 8. Efeito do tratamento térmico do leite na evolução do pH durante a proteólise dos queijos Minas frescal <i>light</i> fabricados por ultrafiltração.	48
Figura 9. Efeito do tratamento térmico dos retentados na evolução do pH durante a proteólise dos queijos Minas frescal <i>light</i> fabricados por ultrafiltração.	49

Figura 10. Efeito do tempo na evolução do pH durante a proteólise de todos os queijos Minas frescal <i>light</i> fabricados por ultrafiltração.	49
Figura 11. Efeito do tratamento térmico do leite e dos retentados na Capacidade de Retenção de Água dos queijos Minas frescal <i>light</i> fabricados por ultrafiltração.	50
Figura 12. Efeito do tratamento térmico do leite na capacidade de retenção de água das amostras.	51
Figura 13. Efeito do tratamento térmico dos retentados na capacidade de retenção de água das amostras.	51
Figura. 14 Gráficos obtidos para os parâmetros de dureza(A), mastigabilidade(B), coesividade(C), elasticidade(D) e adesividade (E) na avaliação do perfil de textura das amostras de queijo.	55
Figura 15. Evolução da compliância instantânea (J_0) em função do tempo de armazenamento refrigerado para os queijos Minas frescal <i>light</i> fabricados por ultrafiltração.	57
Figura 16. Efeito da interação do tratamento térmico do leite com o tratamento térmico do retentado na compliância instantânea dos queijos Minas frescal <i>light</i> fabricados por ultrafiltração.	58
Figura 17. Efeitos do tratamento térmico do leite e do tempo na evolução do parâmetro J_0 dos queijos Minas frescal <i>light</i> fabricados por ultrafiltração.	58

Figura 18. Compliância do elemento de Kelvin com maior tempo de retardação (J_1) em função do tempo de armazenamento refrigerado para os queijos Minas frescal <i>light</i> fabricados por ultrafiltração.	59
Figura 19. Efeitos do tratamento térmico do leite e do tempo na evolução do parâmetro J_1 dos queijos Minas frescal <i>light</i> fabricados por ultrafiltração.	59
Figura 20. Efeitos do tratamento térmico dos retentados e do tempo na evolução do parâmetro J_1 dos queijos Minas frescal <i>light</i> fabricados por ultrafiltração.	60
Figura 21. Evolução da viscosidade newtoniana (η) com o tempo de armazenamento refrigerado para os queijos Minas frescal <i>light</i> fabricados por ultrafiltração	61
Figura 22. Efeito da interação do tempo com o tratamento térmico do leite no parâmetro η das amostras	62
Figura 23. Efeito da interação do tempo com o tratamento térmico do retentado no parâmetro η das amostras.	62
Figura 24. Histograma de Frequências de Intenção de compra	63
Figura 25. Microestrutura do queijo fabricado com retentado tratado a 63°C/2min obtido do leite tratado a 72°C/15min.	66
Figura 26. Microestrutura do queijo fabricado com retentado tratado a 68°C/2min obtido do leite tratado a 72°C/15min.	66
Figura 27. Microestrutura do queijo fabricado com retentado tratado a 63°C/2min obtido do leite tratado a 80°C/4s.	66

Figura 28. Microestrutura do queijo fabricado com retentado tratado a 68°C/2min obtido do leite tratado a 80°C/4s. **66**

Figura 29. Eletroforetograma dos leites e retentados em meio redutor (com mercaptoetanol). Banda 1: padrão. Banda 2: leite tratado a 72°C/15min-retentado tratado a 68°C/2min. Banda 3: leite tratado a 72°C/15min-retentado tratado a 63°C/2min. Banda 4: leite tratado a 72°C/15min. Banda 5:leite tratado a 80°C/4s-retentado tratado a 68°C/2min. Banda 6:leite tratado a 80°C/4s-retentado tratado a 63°C/2min. Banda 7:leite tratado a 80°C/4s. Banda 8:leite cru. **67**

Figura 30. Eletroforetograma dos leites e retentados em meio redutor (sem mercapto etanol). Banda 1: padrão. Banda 2: leite tratado a 72°C/15min-retentado tratado a 68°C/2min. Banda 3: leite tratado a 72°C/15min-retentado tratado a 63°C/2min. Banda 4: leite tratado a 72°C/15min. Banda 5:leite tratado a 80°C/4s-retentado tratado a 68°C/2min. Banda 6:leite tratado a 80°C/4s-retentado tratado a 63°C/2min. Banda 7:leite tratado a 80°C/4s. Banda 8:leite cru. **67**

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Composição média do leite.	33
Tabela 2. Composição média dos permeados.	33
Tabela 3. Composição média dos retentados.	33
Tabela 4. Graus de liberdade, quadrados médios e probabilidades para composição média dos retentados.	34
Tabela 5. Composição média dos queijos.	36
Tabela 6. Graus de liberdade, quadrados médios e probabilidades para composição média dos queijos.	36
Tabela 7. Efeito do tratamento térmico do leite e retentados no tempo de coagulação dos retentados (min).	38
Tabela 8. Efeito do tratamento térmico do leite e retentados na recuperação de proteína e gordura dos queijos Minas frescal light fabricados por ultrafiltração obtida para todos os tratamentos (%).	39
Tabela 9. Efeito do tratamento térmico do leite e do retentado no Rendimento de fabricação e Rendimento ajustado (Raj) obtido para todos os tratamentos (kg queijo/100kg de leite).	40
Tabela 10. Graus de liberdade, quadrados médios e probabilidades para extensão de proteólise.	42

Tabela 11. Graus de liberdade, quadrados médios e probabilidades para profundidade de proteólise.	45
Tabela 12. Graus de liberdade, quadrados médios e probabilidades para a evolução do pH durante a proteólise.	48
Tabela 13. Graus de liberdade, quadrados médios e probabilidades para Capacidade de Retenção de Água dos queijos Minas frescal <i>light</i> fabricados por ultrafiltração.	50
Tabela 14. Graus de liberdade, quadrados médios e probabilidades para Adesividade TPA.	53
Tabela 15. Graus de liberdade, quadrados médios e probabilidades para Dureza e Mastigabilidade TPA.	54
Tabela 16. Graus de liberdade, quadrados médios e probabilidades para Coesividade e Elasticidade TPA.	54
Tabela 17. Graus de liberdade, quadrados médios e probabilidades para compliância instantânea (J_0).	57
Tabela 18. Graus de liberdade, quadrados médios e probabilidades para compliância do elemento de Kelvin com maior tempo de retardação (J_1).	59
Tabela 19. Graus de liberdade, quadrados médios e probabilidades para viscosidade newtoniana (η).	61
Tabela 20. Médias de aceitação atribuídas pelos provadores para as amostras de queijos Minas UF produzidos a partir de leite e retentado tratado termicamente. (n= 50 provadores).	63

RESUMO

O conhecimento do efeito do tratamento térmico do leite e retentado sobre as características do queijo Minas Frescal com reduzido teor de gordura pode auxiliar no desenvolvimento de tecnologias que melhorem a qualidade sensorial e aumentem o rendimento desse tipo de queijo. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes níveis de tratamento térmico, realizados antes e depois do processo de ultrafiltração, na composição, rendimento, tempo de coagulação, capacidade de retenção de água, proteólise, microestrutura e aceitação sensorial de queijo Minas Frescal com reduzido teor de gordura. Os tratamentos térmicos foram: a) tratamento térmico do leite (72°C/15 s ou 80°C/4s) e b) tratamento térmico do retentado (68°C/2 minutos ou 63°C/2 minutos). Leite cru integral foi padronizado a 2,0% de gordura, pasteurizado em trocador de calor de placas a 72°C/ 15 s, ou a 80°C/4 s e ultrafiltrado até atingir fator de concentração 3,5. O retentado foi então dividido em duas partes, respectivamente tratadas a 68°C/2 minutos e 63°C/2 minutos. Para fabricação do queijo, o retentado foi adicionado de sal, ácido láctico e coalho e coagulado diretamente na embalagem. Leite, retentado e permeado foram pesados e suas composições determinadas. O rendimento de fabricação também foi calculado. Os queijos foram analisados com relação à sua composição, tempo de coagulação, capacidade de retenção de água, reologia, textura, proteólise, microestrutura e aceitação sensorial. Os tratamentos térmicos mais intensos do leite e do retentado resultaram em maior tempo de coagulação e maior capacidade de retenção de água. O tratamento térmico mais intenso aplicado ao retentado resultou em queijos com maior teor de caseína. Os queijos obtidos a partir dos retentados tratados a 68°C também apresentaram menores índices de proteólise. A análise de Perfil de Textura (TPA) e o teste de Creep demonstraram que os queijos obtidos do leite tratado a 80°C/4s são mais moles que os obtidos do leite tratado a 72°C/15 min. A microestrutura dos queijos também mostra uma matriz protéica mais densa e compacta para os queijos produzidos a partir de leite tratado a 80 °C/4 s. Sensorialmente os queijos não diferiram entre si em nenhum dos atributos avaliados.

Palavras-chave: Ultrafiltração, queijo Minas frescal *light*, tratamento térmico, microestrutura, desnaturação

ABSTRACT

EFFECT OF MILK AND RETENTATE HEAT TREATMENT ON QUALITY OF MINAS FRESCAL *LIGHT* CHEESE MANUFACTURED BY ULTRAFILTRATION.

The knowledge of milk and retentate heat treatment effect on quality of Minas Frescal *light* cheese (low fat content) may assist the development of technologies which will improve its sensorial quality and yield. Therefore, the objective of this work was to determine the effect of heat treatment of milk and retentate on the composition, yield, coagulation time, water retention capacity, proteolysis, microstructure and sensory acceptance of Minas Frescal cheese with low fat content. The heat treatments were: a) milk heat treatment (72°C/15s or 80°C/4s) and b) retentate heat treatment (68°C/2minutes or 63°C/2minutes). Raw milk was standardized to 2,0% fat, heat treated and ultrafiltered until reach concentration factor of 3,5. The retentate was divided in two parts, respectively treated at 68°C/2 minutes and 63°C/2minutes. To manufacture this cheese, the retentate was added of salt, lactic acid and rennet and coagulated directly in the packaging. Milk, retentate and permeate were weighed and their compositions determined. The manufacture yield was also calculated. The composition, water retain capacity, rheology, texture, proteolysis, microstructure and sensory acceptance of cheese were determined. Increasing the intensity of milk and retentate heat treatment resulted in a longer coagulation time and higher water retention capacity of the cheese. The more intense heat treatment applied to the retentate resulted in cheese with higher casein content. Cheese made from the retentate treated at 68°C/2 min presented the lowest rate of proteolysis. The Texture Profile Analysis and the Creep test showed that cheese from the milk treated at 80°C/4s were the softest. The protein matrix was more compact for the cheese made from the treated milk at 80°C/4s. From the sensorial point of view, there was non significant difference among the cheeses.

1. INTRODUÇÃO

O queijo Minas Frescal pode ser considerado uma variedade de queijo tipicamente brasileira, possuindo ampla aceitação no mercado consumidor e detendo a quarta posição dos queijos mais produzidos no Brasil, sendo superado apenas pelos tipos Mussarela, Prato e Requeijão (EMBRAPA, 2001).

No passado, esse queijo era fabricado a partir de leite integral, sendo considerado um queijo semi gordo, com cerca de 40% de gordura em base seca (FURTADO & LOURENÇO NETO, 1994). Atualmente, devido ao aumento da preocupação dos consumidores com sua saúde, tem havido uma maior demanda por produtos com menor teor de gordura, fazendo com que a indústria queijeira apresente queijos, como o Minas Frescal, nas versões “*diet*” ou “*light*”. Entretanto, a remoção ou redução da gordura diminui o rendimento dos queijos e afeta negativamente suas propriedades de textura e sabor. Quanto maior a redução da gordura do queijo, mais dura é a textura e mais freqüente é a ocorrência de defeitos de sabor, como gosto amargo, falta de sabor e sabor não característico, fazendo com que a qualidade desses produtos seja, em geral, inferior a dos produtos convencionais (BANKS, 2004; KÜÇÜKÖNER & HAQUE, 2003; KOSIKOWSKI & MISTRY, 1997; DRAKE E SWANSON, 1995).

A gordura é um dos principais componentes do leite e se apresenta na forma de pequenos glóbulos, de tamanho entre 0,1 e 15,0 μm (WALSTRA & JENNESS, 1984). Ela exerce um papel importante na determinação da textura, sabor e aroma dos queijos. A estrutura da matriz do queijo é composta de uma rede de proteína com ligações cruzadas de fosfato de cálcio na qual os glóbulos de gordura estão aprisionados fisicamente. A matriz é elástica quando a caseína está intacta e essa elasticidade diminui com a proteólise ocorrida durante a maturação do queijo. Os glóbulos de gordura aprisionados servem para limitar a deformação da matriz do queijo e sua distribuição determina a uniformidade e o grau de ligações cruzadas da matriz de caseína. Quando o teor de gordura é reduzido, as interações proteína-proteína aumentam e o resultado é um queijo com textura dura e elástica (MISTRY & ANDERSON, 1993).

Várias propostas têm sido apresentadas para melhorar a qualidade sensorial dos queijos com reduzido teor de gordura. As modificações na tecnologia de fabricação (como o uso da ultrafiltração), o uso de culturas adjuntas e o uso de substitutos de gordura são as principais estratégias utilizadas para melhorar as características sensoriais e a textura dos queijos com reduzido teor de gordura.

A ultrafiltração do leite é um processo de separação em que os constituintes são fracionados de acordo com seu peso molecular. Proteína e gordura são retidas no retentado, e lactose, minerais e vitaminas são divididas entre retentado e permeado (RENNER & EL-SALAM, 1991). Essa técnica pode ser uma boa alternativa para produção dos queijos com reduzido teor de gordura, apresentando como principal vantagem, a inclusão das proteínas do soro do leite, que podem aumentar o rendimento e melhorar a textura do produto, tornando-o mais macio (ERDEM, 2004; RODRÍGUEZ *et al.*, 1999; GUINEE *et al.*, 1996; MARSHALL, 1986). As proteínas do soro podem ser incorporadas ao queijo em sua forma nativa ou desnaturada. Na forma nativa, podem ser retidas por ultrafiltração (concentração total ou parcial). Na forma desnaturada, são obtidas através de tratamento térmico. As soroproteínas desnaturadas podem formar complexos com a caseína, impedindo a fusão das micelas e resultando em uma baixa contração da rede protéica, o que pode aumentar ainda mais a capacidade de retenção de água da coalhada e diminuir sua firmeza.

No Brasil vem sendo comercializado, desde 1988, queijo Minas Frescal coagulado diretamente na embalagem, produzido a partir do pré queijo líquido obtido pela ultrafiltração do leite (GRANDISON & GLOVER, 1994). O produto também pode ser encontrado na versão light, com reduzido ou baixo teor de gordura. Embora seja bem aceito pelos consumidores, esse queijo apresenta sabor e consistência diferentes do queijo tradicional (MORTENSEN, 1992).

A fabricação de queijos com baixo teor de gordura através da ultrafiltração traz como principal vantagem a inclusão das proteínas do soro, o que aumenta o rendimento e melhora a textura do produto (ERDEM, 2005; LO & BASTIAN, 1998; GUINEE *et al.*, 1996; MCGREGOR & WHITE, 1990; MARSHALL, 1986).

A combinação de tratamento térmico com a tecnologia de membranas e a resultante incorporação de proteínas do soro desnaturadas ao queijo pode ser uma boa alternativa para

superar os defeitos de textura do queijo Minas com reduzido teor de gordura (HINRICHS, 2001; LO & BASTIAN, 1998; WAUNGANA *et al.*, 1996; MERRIL *et al.*, 1994).

Não há referências na literatura, sobre o efeito do tratamento térmico do leite e do retentado na textura, sabor e funcionalidade de queijo Minas Frescal de reduzido teor de gordura. A intensidade do tratamento térmico aplicado ao leite e retentado pode acarretar mudanças importantes no processamento e qualidade do queijo Minas Frescal light produzido a partir de ultrafiltração. Conhecer o impacto dessas mudanças pode contribuir para uma otimização do processo e aumento da aceitação sensorial do produto.

2. JUSTIFICATIVA

A ultrafiltração apresenta diversas vantagens para a produção de queijo Minas Frescal com reduzido teor de gordura, tais como: incorporação das proteínas do soro, aumento do rendimento de fabricação, menores alterações durante a estocagem e a possibilidade de implantação de um sistema de produção contínuo e automatizado, que diminui custos.

O tratamento térmico do leite permite a incorporação de proteínas do soro desnaturadas ao queijo, melhora sua qualidade microbiológica e, conseqüentemente, aumenta sua vida útil.

A combinação desses processos pode trazer melhorias para a fabricação do queijo Minas Frescal com reduzido teor de gordura, aumentar sua qualidade e se constituir numa alternativa para superar os problemas de textura desse queijo, tornando-a mais macia.

3. OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes intensidades de tratamento térmico, aplicados ao leite e ao retentado, na composição, rendimento, tempo de coagulação, textura e reologia, capacidade de retenção de água, proteólise, microestrutura e aceitação sensorial de queijo Minas Frescal com reduzido teor de gordura.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Queijo minas frescal

O queijo Minas Frescal é uma variedade de queijo de origem brasileira que apresenta certa semelhança com os queijos brancos fabricados em outros países da América Latina. (VAN DENDER, 1995). É um dos produtos lácteos mais difundidos no Brasil, possuindo ampla aceitação no mercado nacional. Devido a sua tecnologia simples, esse tipo de queijo tem sido produzido industrial e artesanalmente, fazendo com que seja encontrado em quase todo o país. (FURTADO, SOUZA & MUNCK, 1980).

Segundo o Regulamento Técnico Mercosul de Identidade e Qualidade de Produtos, o queijo Minas Frescal é definido como um queijo fresco obtido por coagulação enzimática do leite com coalho e/ou outras enzimas apropriadas, complementada ou não pela ação de bactérias lácticas específicas (DIPOA, 2002). Ainda segundo esse regulamento, o queijo Minas Frescal é classificado como um queijo semi gordo, com cerca de 40% de gordura no extrato seco, e de alta umidade (58-60%). Geralmente apresenta coloração interna esbranquiçada, consistência mole e úmida, textura fechada com poucas olhaduras mecânicas e sabor suave, levemente ácido (FURTADO & LOURENÇO NETO, 1994). Apresenta também bom rendimento de fabricação, variando entre 6,0 a 6,5 litros de leite para 1 quilo de queijo (FURTADO, 1992).

Diversas tecnologias têm sido desenvolvidas visando melhorar e padronizar a qualidade desse tipo de queijo e aumentar seu rendimento, vida útil e segurança microbiológica.

Atualmente a indústria brasileira tem substituído o fermento láctico do processo tradicional, pela acidificação direta com ácido láctico. Essa alteração no processo de fabricação permite reduzir o consumo de coalho, aumentar o rendimento e a capacidade de retenção de água e diminuir e padronizar a acidez (CAMPOS, 2000).

O queijo fabricado pela adição de ácido sofre menos alterações durante a estocagem, mantendo a textura do corpo firme, com menor alteração de cor da casca e

sabor menos ácido (VAN DENDER & MORENO, 1992; WOLFSCHOON-POMBO *et al.*, 1978).

Embora seja um queijo fresco, de consumo direto, o Minas Frescal sofre alterações durante o período de estocagem. Devido a sua alta umidade, esse queijo deve ser armazenado sob refrigeração, a fim de prevenir o desenvolvimento de microrganismos e retardar a acidificação e a proteólise, que são as principais modificações que afetam sua durabilidade (CAMPOS, 2000).

A acidificação ocorre devido à transformação da lactose em ácido lático pela ação da flora natural do leite e do fermento lático. A acidez produzida durante a coagulação é baixa (cerca de 0,2%), podendo atingir aproximadamente 1,0% durante a dessoragem. A acidificação é importante para o Minas Frescal, pois contribui para a formação do sabor e textura característicos do produto (FURTADO *et al.*, 1980). Quando o queijo é fabricado sem fermento, a glicólise ocorre de forma mais lenta, principalmente pela ação dos microrganismos da flora natural do leite resistentes à pasteurização ou, acidentalmente, pela ação de microrganismos contaminantes.

Outra reação bioquímica importante para esse queijo é a proteólise, que influencia a textura e a vida útil do produto. Por se tratar de um queijo fresco, esse fenômeno não deve ser muito pronunciado, uma vez que a proteólise avançada leva a uma coloração amarelada e consistência mole, depreciando a qualidade do produto (WOLFSCHOON-POMBO, 1978).

4.2 Queijos com baixo ou reduzido teor de gordura

Nos últimos anos, os consumidores têm se preocupado cada vez mais com sua saúde e as características nutricionais dos alimentos ingeridos. Assim, verifica-se uma crescente demanda por produtos com menor teor de gordura, uma vez que esta tem sido relacionada com obesidade e doenças cardiovasculares (KOSIKOWSKI & MISTRY, 1997; DRAKE E SWANSON, 1995).

A indústria queijeira também tem investido no desenvolvimento de produtos com baixo ou reduzido teor de gordura. Entretanto, a remoção ou redução da gordura diminui o rendimento dos queijos e afeta sua textura e sabor, fazendo com que a qualidade desses

produtos seja, em geral, inferior a dos produtos convencionais (BANKS, 2004; KÜÇÜKÖNER & HAQUE, 2003; KOSIKOWSKI & MISTRY, 1997; DRAKE E SWANSON, 1995).

Segundo a Portaria MS-SVS 27/98, queijos com baixo teor de gordura são aqueles que apresentam no máximo, 3% de gordura. Já os queijos com reduzido teor de gordura são aqueles que apresentam uma redução de no mínimo 25% do teor de gordura em relação ao queijo tradicional. Em ambos os casos, é permitida a utilização do termo *light*, que deve vir acompanhado de “reduzido teor de gordura” ou “baixo teor de gordura”.

Queijos com reduzido teor de gordura geralmente apresentam problemas como menor rendimento, textura mais dura e elástica, falta de aroma característico e sabor ácido ou amargo pronunciados (BANKS, 2004; ÄRDO, 1997; KOSIKOWSKI & MISTRY, 1997; DRAKE E SWANSON, 1995). Quanto maior a redução de gordura, mais pronunciados serão esses defeitos.

A remoção de gordura diminui o rendimento do queijo, uma vez que esta normalmente corresponde a aproximadamente 50% do extrato seco desse produto (DRAKE E SWANSON, 1995).

A gordura do leite contém uma grande quantidade de ácidos graxos voláteis de cadeia curta, que conferem aroma ao queijo. Quando a gordura é removida durante a fabricação dos queijos com baixo teor de gordura, a quantidade desses compostos diminui, dando origem a produtos com aroma e sabor menos intensos (KOSIKOWSKI & MISTRY, 1997). A gordura também mascara certos sabores indesejáveis como o amargor causado por componentes hidrofóbicos originados durante a proteólise.

A textura dos queijos também é afetada pela remoção da gordura. A gordura do leite promove a lubrificação da massa e juntamente com a água ligada ou absorvida, interfere na continuidade da rede proteica, conferindo maciez ao queijo. Em queijos com teor de gordura convencional, os glóbulos de gordura encontram-se distribuídos por toda a matriz proteica, aprisionados fisicamente. Dessa forma, a gordura impede que as proteínas formem uma rede contínua, tornando a textura mais macia. Em queijos com baixo teor de gordura existe uma menor quantidade de glóbulos, o que possibilita uma maior interação proteína-proteína, originando uma rede mais compacta e, portanto, mais dura e elástica

(KÜÇÜKÖNER & HAQUE, 2003; RAVAL & MISTRY 1999; KOSIKOWSKI & MISTRY, 1997).

Outra implicação da redução de gordura do queijo é a alteração na proporção de cada componente. Quando a gordura é removida, a quantidade de água ou soro aumenta, o que pode acarretar problemas funcionais e microbiológicos, pois uma maior quantidade de água disponível acelera as reações bioquímicas do queijo, além de possibilitar maior desenvolvimento de microrganismos (MISTRY, 2001).

4.3 Alternativas para melhoria da qualidade de queijos com baixo teor de gordura.

Muitas pesquisas têm sido feitas visando melhorar a qualidade sensorial dos queijos com reduzido teor de gordura e aumentar seu rendimento. Geralmente três estratégias são adotadas: modificações no processo de fabricação, uso de substitutos ou miméticos de gordura e uso de culturas adjuntas ou atenuadas (BANKS, 2004; MISTRY 2001; KOSIKOWSKI & MISTRY, 1997; DRAKE & SWANSON 1995).

Alguns dos principais problemas dos queijos com baixo teor de gordura podem ser resolvidos através de modificações nos processos de fabricação. Essa é potencialmente a forma mais simples e econômica de aumentar a qualidade e o rendimento desse tipo de queijo (ARDO, 1997; DRAKE & SWANSON, 1995). Diversas modificações podem ser feitas, sendo que a maioria delas visa preencher a matriz proteica com água ou proteínas do soro no lugar da gordura. O aumento do teor de umidade promove parte da lubrificação e da maciez conferidas pela gordura (ZALAZAR *et al.*, 2002; LO & BASTIAN, 1998; DRAKE & SWANSON, 1995).

Modificações como diminuição do tempo e temperatura de cozimento da massa e lavagem do coágulo com água fria aumentam a retenção de umidade no queijo (DRAKE & SWANSON, 1995).

A homogeneização do leite ou creme antes da fabricação do queijo também melhora tanto a retenção de umidade, quanto a textura dos queijos com baixo teor de gordura. Esse processo quebra a gordura do leite em glóbulos menores, aumentando sua área superficial e permitindo que estes se espalhem por toda a matriz proteica (BANKS, 2004; MISTRY,

2001; DRAKE & SWANSON, 1995). Entretanto, a homogeneização pode levar à formação de um coágulo frágil e quebradiço, o que diminui o rendimento. Para evitar esse problema, pode-se homogeneizar apenas o creme e depois incorporá-lo ao leite desnatado. Os queijos obtidos por esse processo apresentam maior umidade e rendimento além de uma textura melhor (METZER & MISTRY, 1994).

Outra alternativa para aumentar o rendimento e melhorar a textura dos queijos com baixo teor de gordura é a incorporação das proteínas do soro do leite. A inclusão das soroproteínas aumenta a capacidade de retenção de água do coágulo, aumentando o rendimento do queijo e tornando sua textura mais macia (HINRICHS, 2001; MISTRY, 2001; LO & BASTIAN, 1998).

As proteínas do soro podem ser incorporadas ao queijo em sua forma nativa ou desnaturada. Na forma nativa, podem ser retidas por ultrafiltração (concentração total ou parcial) e contribuem para melhoria da textura por ficarem armadilhadas na matriz proteica, evitando a formação de uma rede contínua que torna a textura do queijo mais dura. Na forma desnaturada, são obtidas através de tratamento térmico intenso que induz a formação de complexos com as caseínas. A incorporação de proteínas do soro desnaturadas aumenta ainda mais a capacidade de retenção de água do queijo. Pode-se também, fazer a combinação de tratamento térmico elevado com a tecnologia de membranas a fim de reter proteínas do soro desnaturadas e seus agregados. (HINRICHS, 2001; LO & BASTIAN, 1998; WAUNGANA *et al.*, 1996; MERRIL *et al.*, 1994).

Embora o aumento da retenção de umidade nos queijos de baixo teor de gordura melhore suas características de textura e aumente seu rendimento, substitutos para a gordura do leite têm sido testados a fim de reproduzir as funções da gordura (KOSIKOWSKI & MISTRY, 1997).

A principal função desses compostos é promover as funções da gordura em produtos nos quais esta tenha sido removida. Estes substitutos são divididos em duas categorias: miméticos de gordura e substitutos de gordura. Os miméticos são compostos polares e hidrossolúveis, derivados de proteína ou carboidratos. Por outro lado, os substitutos são compostos não polares, lipossolúveis e geralmente sintetizados a partir da gordura (BANKS, 2004; MA *et al.* 1997; DRAKE & SWANSON, 1995).

Os substitutos imitam satisfatoriamente a textura e a cremosidade típicas da gordura. Como esses compostos são apolares, as funções químicas da gordura são mantidas (DRAKE & SWANSON, 1995). Entretanto, esses compostos não são capazes de propiciar o sabor e o aroma produzidos pela gordura.

Os miméticos de gordura, por serem polares, não substituem de forma tão eficiente as funções químicas e de textura da gordura (DRAKE & SWANSON, 1995). A principal vantagem desses compostos é aumentar a capacidade de retenção de água do queijo, aumentando seu rendimento e tornando a textura mais macia (ZALAZAR *et al.*, 2002).

As alternativas descritas anteriormente melhoram principalmente o rendimento e a textura dos queijos com baixo teor de gordura. Entretanto, essas técnicas não resolvem o problema da falta de sabor e aroma característico desse tipo de produto. Para isso, pode-se fazer uso de culturas adjuntas ou atenuadas, inclusive em conjunto com as alternativas citadas, para melhorar o sabor e o aroma dos queijos com baixo teor de gordura (BANKS, 2004; KOSIKOWSKI & MISTRY, 1997).

4.4 Aplicação da Ultrafiltração na Produção de queijos

4.4.1 Princípios de Separação por membranas

A filtração pode ser definida como a separação de um ou mais componentes de um fluido através de uma membrana de permeabilidade seletiva. (CHERYAN, 1986). Esta seletividade é determinada pelo chamado peso molecular de corte, que designa a massa molecular do menor componente que será retido com uma eficiência de 95% (RENNER & EL-SALAM, 1991).

A diferença entre os processos de separação com membranas decorre do tamanho das partículas ou moléculas a serem separadas. O processo de nanofiltração retém todos os componentes exceto o solvente (água), a ultrafiltração retém macromoléculas ou partículas maiores que 0,002 a 0,2 μm (ou 500 a 300.000 Daltons) e a microfiltração retém partículas maiores, na faixa de 0,1 a 10 μm (CHERYAN, 1986).

Os processos de separação por membranas utilizam sistemas de filtração tangencial, nos quais o escoamento do fluido é paralelo à área da membrana. Esse sistema é mais eficiente, pois o escoamento do fluido a altas velocidades permite o arraste dos solutos que

tendem a se acumular na superfície da membrana. (PAULSON *et al.*, 1984). Na filtração tangencial, a corrente de entrada é dividida em duas correntes de saída, conhecidas como retentado e permeado, sem que ocorra mudança de fase (JELEN, 1979). O permeado é a fração que atravessa os poros da membrana e o retentado é a fração enriquecida com os solutos que não atravessaram a membrana (PAULSON *et al.*, 1984).

4.4.2 Membranas

Como explicado anteriormente, a porosidade de uma membrana é definida pelo seu peso molecular de corte. Em geral, quando se trata de separação de macromoléculas, como é o caso da ultrafiltração, a unidade mais utilizada para definir o peso molecular de corte é o Dalton.

As membranas sintéticas atuais são produzidas a partir de dois tipos de material: os polímeros, constituídos de material orgânico; e os inorgânicos, constituídos de metal e materiais cerâmicos.

De acordo com a evolução tecnológica, as membranas são classificadas em três classes distintas:

- Primeira geração: Feitas principalmente de acetato de celulose, foram originalmente desenvolvidas para retirar o sal da água do mar. Esse tipo de material apresenta limites de trabalho de 3 a 8 em relação ao pH e de até 50°C para temperatura, além de ser sensível a microrganismos e desinfetantes (MAUBOIS, 1980). Essas características impõem restrições à limpeza e sanitização, o que dificulta sua utilização na área de alimentos.

- Segunda geração: Constituídas por polímeros sintéticos, derivados de polissulfonas ou poliolefinas, essas membranas apresentam maior resistência à ação de ácidos e bases fortes (PETRUS, 1997). Também têm maiores limites de temperatura (80°C) e pH (2 a 12) (GLOVER & GRANDISON, 1994). As principais desvantagens dessas membranas são a baixa resistência a desinfetantes clorados e à compactação mecânica (MAUBOIS, 1980).

- Terceira geração: São constituídas de materiais cerâmicos à base de óxido de zircônio ou alumina depositados sobre um suporte de grafite, e foram desenvolvidas tanto para ultrafiltração como para microfiltração (GLOVER & GRANDISON, 1994). Apresentam inúmeras vantagens em relação às membranas da segunda geração, como

resistência a altas temperaturas (acima de 400°C) e pressões (20 bar), e tolerância a toda faixa de pH (0 a 14). Além disso são quimicamente inertes e possuem alta resistência mecânica.

4.4.3 Aplicações da Ultrafiltração na indústria Láctea

A utilização da ultrafiltração na indústria leiteira tem aumentado consideravelmente nos últimos 20 anos especialmente na área de fabricação de queijos. Essa tecnologia tem sido usada com sucesso para a fabricação de variedades de queijos macios como o Feta, Camembert, Quark e Cottage e para a padronização do leite para fabricação de outras variedades de queijos mais duros (WAUNGANNA, SINGH & BENNETT, 1998).

A primeira aplicação da tecnologia de membranas na indústria láctea foi a produção de concentrados protéicos de soro visando a sua utilização como ingrediente no processamento de alimentos (GRANDISON & GLOVER, 1994).

Atualmente a ultrafiltração é amplamente utilizada na área de laticínios, sendo as principais aplicações:

- produção de queijos a partir de retentados de ultrafiltração, visando aumentar o rendimento de fabricação (GRANDISON & GLOVER, 1994);
- padronização do teor de proteínas no leite (PUHAN, 1991);
- fabricação de produtos fermentados, com o objetivo de aumentar o rendimento e melhorar as características sensoriais (GRANDISON & GLOVER, 1994; PUHAN, 1991);
- fracionamento das proteínas do leite, visando a obtenção de concentrados e/ou isolados protéicos (caseinatos e concentrados protéicos de soro) com diferentes propriedades funcionais (VIOTTO, 1997; MAUBOIS & OLLIVIER, 1991).

4.5 Fabricação de queijos através da Ultrafiltração

A ultrafiltração é uma tecnologia para fabricação de queijos que foi introduzida na década de 70 e tem sido extensivamente estudada por diversos grupos de pesquisadores principalmente devido ao seu potencial de aumentar o rendimento dos queijos através da incorporação das proteínas do soro do leite.

A ultrafiltração do leite é um processo de separação em que os constituintes são fracionados de acordo com seu peso molecular. Proteína e gordura são retidas no retentado, e lactose, minerais e vitaminas são divididos entre retentado e permeado (RENNER & EL-SALAM, 1991).

Uma das mais conhecidas técnicas de produção de queijos por ultrafiltração é o processo MMV, patenteado em 1969 pelos pesquisadores Maubois, Mocquot e Vassal. O método parte do chamado pré queijo líquido, que é obtido através da ultrafiltração do leite até o fator de concentração correspondente ao teor de sólidos totais do queijo pronto. Em seguida esse retentado é adicionado dos outros ingredientes e coagulado na própria embalagem (GRANDISON & GLOVER, 1994).

A principal vantagem dessa técnica consiste no aumento do rendimento de fabricação na ordem de 8 a 20%. Esse aumento é devido à incorporação das proteínas do soro ao queijo, uma vez que não ocorre a dessoragem após a coagulação. As proteínas do soro aumentam o teor de umidade no queijo, devido a sua grande capacidade de retenção de água. Esse método também permite a implantação de um processo de fabricação contínuo e totalmente automatizado, o que contribui para a redução de custos de produção. Além disso, devido ao processo em sistema fechado, a qualidade microbiológica dos queijos tende a ser maior (VAN DENDER, 1995; CARVALHO *et al.*, 2005). Carvalho *et al.* (2005), encontraram uma menor contagem microbiana em queijos Minas fabricados por ultrafiltração, quando comparados com os produzidos por outros processos tecnológicos, apesar da membrana reter microrganismos e os queijos fabricados por UF apresentarem maior teor de umidade e pH mais elevado. Os autores atribuíram a melhor qualidade do queijo UF ao sistema de produção fechado e automatizado, que evita manipulação e assim, diminui riscos de contaminação pós-pasteurização do leite.

Outras vantagens da ultrafiltração incluem padronização da composição do leite e das propriedades de coagulação, e desenvolvimento de novas variedades de queijos com características funcionais e de textura diferentes (GUINEE *et al.*, 1992).

Essa tecnologia é aplicada principalmente na produção de queijos moles, como o Camembert, Fetta e o Minas Frescal. Algumas variedades desses queijos têm sido produzidas com sucesso a partir de retentados com fator de concentração ao redor de 5 (RODRÍGUEZ *et al.*, 1998; RENNER & EL-SALAM, 1991). Queijos duros ou semi duros,

que têm elevado teor de sólidos, não podem ser obtidos pelo processo MMV, pois o aumento da viscosidade do retentado e a conseqüente redução do fluxo de permeado limitam o fator de concentração (HINRICHS, 2001). Entretanto, mesmo para os queijos moles, com FC ao redor de 5, as modificações tecnológicas e a composição influenciam a textura e o sabor dos produtos, sendo necessárias algumas adaptações para obtenção de queijos com melhor qualidade (HINRICHS, 2001; RODRÍGUEZ *et al.*, 1999; GRANDISON & GLOVER, 1994).

No Brasil, a comercialização de queijo Minas Frescal obtido por ultrafiltração iniciou-se em 1988. Esse queijo é coagulado diretamente na embalagem, produzido a partir de pré-queijo líquido obtido por ultrafiltração. O produto pode ser encontrado nas versões tradicional, reduzido teor de gordura e baixo teor de gordura. No entanto, apesar de ter boa aceitação no mercado, esse tipo de queijo apresenta características de sabor e textura bastante diferentes do produto tradicional.

Diversos estudos têm considerado o uso da ultrafiltração em queijos com baixo teor de gordura como uma forma eficiente de manter a relação umidade/sólidos não gordurosos semelhante a dos queijos convencionais. Isso é muito importante para garantir características de sabor e textura aceitáveis (ERDEM, 2005; RODRÍGUEZ *et al.* 1998; ARDO, 1994).

A retenção de proteínas do soro no queijo depende da intensidade do tratamento térmico dado ao leite, que influencia o grau de desnaturação das proteínas do soro e sua complexação com a caseína micelar (LO & BASTIAN, 1998; WAUNGANA *et al.*, 1998; GUINEE *et al.*, 1996). A pasteurização a 72°C/15s acarreta desnaturação de até 5% das proteínas do soro, o que pode resultar num aumento de rendimento de 0,1-0,4% (FOX *et al.*, 1998b). Outras conseqüências são um leve aumento do tempo de coagulação do leite e redução da firmeza da coalhada. A adição de CaCl₂ pode ser uma maneira de restaurar estas propriedades (DALGLEISH, 1992). O uso de tratamentos térmicos para promover a desnaturação protéica é uma possibilidade para fabricar produtos com composição, rendimento, atributos sensoriais semelhantes ou melhores e custos de fabricação significativamente mais baixos, em comparação com vários tipos de queijo feitos a partir de leite fluido ou leite reconstituído (SINGH & WAUNGANA, 2001).

O tratamento térmico do leite para fabricação de queijo é o método mais utilizado para prevenir defeitos decorrentes do desenvolvimento de microrganismos indesejáveis. Entretanto, o aquecimento do leite a temperaturas a partir de 70°C leva à desnaturação das proteínas do soro, que pode inibir a coagulação enzimática devido à formação de complexos entre as proteínas do soro desnaturadas e a caseína. A inclusão de níveis superiores a 35% do total das proteínas do soro, tanto na forma nativa como desnaturada, altera as propriedades de coagulação (as soroproteínas complexadas à micela dificultam a ação do coagulante), a reologia (redução da elasticidade e firmeza), a funcionalidade e a qualidade geral da maioria dos queijos de coagulação enzimática (HINRICHS, 2001; SINGH & WAUNGANA, 2001). A desnaturação a níveis superiores a 60% impede a coagulação enzimática do leite. As temperaturas de pasteurização UHT (aproximadamente 140°C/4s) promovem desnaturação de cerca de 70% das proteínas do soro, tornando impossível a aplicação desse tipo de tratamento térmico ao leite destinado à fabricação de queijo (SCHREIBER, 2001).

A coagulação enzimática do leite envolve três fases: hidrólise enzimática da κ -caseína, agregação das micelas de caseína e desenvolvimento do gel. A caseína é encontrada no leite na forma de micelas, com a κ -caseína localizada principalmente na superfície. A quimosina (enzima coagulante) hidrolisa especificamente a ligação Phe₁₀₅-Met₁₀₆, liberando o glicomacropéptido que é perdido para a fase aquosa do leite e causa a desestabilização da micela. Depois que cerca de 85% da κ -caseína foi hidrolisada, a colisão entre as micelas pode fazer com que estas permaneçam unidas, originando uma rede tridimensional que é a matriz protéica do queijo (FOX *et al*, 1998). O tratamento térmico do leite provoca a ligação da κ -caseína com as proteínas do soro desnaturadas (β -lactoglobulina e α -lactoalbumina), que resulta na adsorção dessas proteínas na superfície da micela e dificulta o acesso da enzima à ligação Phe₁₀₅-Met₁₀₆, resultando em um maior tempo de coagulação.

Quando o leite é coagulado sob condições normais de pH e concentração protéica, a viscosidade não aumenta até que a fase enzimática da coagulação tenha sido completada, e isso corresponde a aproximadamente 60% do tempo de coagulação. Pequenas cadeias lineares de micelas são formadas inicialmente e elas continuam a se agregar formando a matriz protéica do gel. A diminuição do pH do leite leva à redução do tempo de coagulação

e a um aumento da firmeza do gel devido a uma redução na repulsão eletroestática entre as micelas e aumento da atividade do coalho. Nos géis obtidos por coagulação enzimática, a κ -caseína não hidrolisada e/ou outros tipos de proteína adsorvida na superfície da micela (como as proteínas do soro desnaturadas) podem representar uma barreira (tanto estérica quanto eletrostaticamente) para a fusão das partículas, o que diminui a firmeza do gel. Géis de caseína são dinâmicos por natureza. Rearranjos excessivos das partículas antes e durante a coagulação pode causar separação do soro e diversas modificações reológicas que podem ser considerados defeitos pelos consumidores (LUCEY, 2002).

A aplicação de tratamentos térmicos mais intensos ao leite com concentração de proteína normal (3-4%) leva a um aumento do tempo de coagulação e a uma diminuição da firmeza do gel. Entretanto, o efeito do tratamento térmico no tempo de coagulação de leite concentrado, com maior teor de proteína, é bem reduzido, sugerindo que a concentração do leite por ultrafiltração ajuda a restaurar as propriedades de coagulação do leite. Esta característica pode ser atribuída à maior proximidade das micelas de caseína no leite concentrado, que aumenta a probabilidade de colisão e agregação das micelas cuja κ -caseína já tenha sido hidrolisada. Esse efeito pode ser mais pronunciado em leite concentrado que tenha sofrido tratamentos térmicos mais severos, pois a complexação das proteínas do soro desnaturadas com as micelas pode aumentar a voluminosidade das micelas per se e conseqüentemente sua proximidade para uma concentração conhecida de caseína (GUINEE *et al.* 1995)

Segundo Green *et al.* (1981), os géis formados a partir de retentados de ultrafiltração são tanto mais frágeis e grosseiros quanto maior o fator de concentração. A natureza mais frágil do gel pode ser atribuída à modificações na estrutura da rede protéica, já que as proteínas do soro não participam da coagulação.

Devido aos efeitos na reologia, a incorporação de altos teores de proteínas do soro pode constituir uma maneira de melhorar a qualidade de queijos com reduzido teor de gordura, que geralmente apresentam textura muito mais dura quando comparados aos convencionais (FOX *et al.*, 1998).

A utilização do tratamento térmico no leite pode resultar em queijos frescos com maior capacidade de retenção de água e melhor textura (SINGH & WAUNGANNA, 2001; WAUNGANNA *et al.*, 1998; TAMIME *et al.*, 1991). Durante o tratamento térmico, as

proteínas do soro são desnaturadas, desdobrando sua cadeia peptídica e expondo os grupos reativos do interior da molécula. As proteínas desnaturadas podem formar agregados entre si ou associar-se à superfície da micela de caseína, envolvendo pontes dissulfeto, interações hidrofóbicas e ligações iônicas. A formação do complexo entre as soroproteínas e a caseína, impede estericamente a fusão das micelas, resultando em uma baixa contração da rede de paracaseinato. Este fato aumenta a capacidade de retenção de água do coágulo e diminui sua firmeza (SINGH & WAUNGANA, 2001).

Além dos efeitos já citados, outra consequência do uso de retentados de ultrafiltração na fabricação de queijos está relacionada à acidificação. A concentração das proteínas aumenta a capacidade tamponante dos retentados (LELIÉVRE & LAWRENCE, 1988). Como resultado a quantidade de ácido láctico que deve ser produzida durante a fermentação ou adicionada ao leite (no caso de acidificação direta) é maior.

A técnica de ultrafiltração representa uma das melhores alternativas melhorar a qualidade dos queijos fabricados a partir de leite desnatado (ARDO, 1997). A melhoria da qualidade do queijo ocorre principalmente em função do decréscimo do teor de lactose, o que resulta em um maior controle da taxa de acidificação e da incorporação de proteínas do soro, que dificultam o desenvolvimento de sabor amargo (por inibirem a ação proteolítica do coalho residual e da plasmina) e aumentam a capacidade de retenção de água do queijo, tornando-o mais macio (McGREGOR & WHITE, 1990). Entretanto, ocorre também um aumento do teor de umidade, que pode facilitar o desenvolvimento de microrganismos.

Submeter o retentado a um tratamento térmico um pouco mais intenso que a pasteurização pode ser uma forma de aumentar a incorporação de proteínas do soro no queijo, diminuir o tempo de coagulação e aumentar a firmeza da coalhada (WAUNGANA *et al.*, 1998).

A combinação da ultrafiltração com tratamento térmico e a manipulação de fatores como pH ou concentração de cálcio, pode ser vista como uma forma de melhorar a qualidade de queijos macios ou semi duros de reduzido teor de gordura e também como uma possibilidade para obtenção de novos produtos, com textura, sabor e funcionalidade diferenciados (SINGH & WAUNGANA, 2001).

4.6 Textura e reologia de queijos

A reologia é o estudo do escoamento e da deformação dos materiais, quando estes são submetidos a uma certa tensão (PRENTICE *et al.*, 1993; FOX *et al.*, 1998a). O estudo das propriedades reológicas dos alimentos é muito importante, pois se relaciona diretamente com a textura dos produtos, correlacionando-se também com observações sensoriais. A textura pode ser definida como o conjunto das propriedades reológicas e a forma como são percebidas pelos sentidos (PRENTICE *et al.*, 1993).

As propriedades reológicas do queijo são decorrentes de sua composição, microestrutura (arranjo estrutural de seus componentes), do estado físico-químico e interações de seus componentes e de sua macroestrutura (presença de olhaduras, fissuras etc) (FOX *et al.*, 1998c). Mudanças nestes fatores podem acarretar alterações do comportamento reológico.

4.6.1 Fundamentos de reologia

Tensão pode ser definida como a intensidade da força aplicada em um determinado ponto da superfície de um material sólido, por unidade de área (RAO, 1992). Se a direção de 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):

$$E = \sigma/\epsilon$$

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. Assim, a curva tensão-deformação será sempre linear. Um material elástico

ideal deforma-se sob a aplicação de uma força e retorna à sua forma inicial quando essa força é removida (FOX *et al.* 1998c).

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, conhecida como coeficiente de viscosidade (η), é definida como:

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

Entretanto, a maioria dos alimentos sólidos ou semi-sólidos é classificada como um material viscoelástico, apresentando características de fluidos viscosos e sólidos elásticos. O modelo mais utilizado para explicar a viscoelasticidade de sólidos e semi-sólidos é o corpo de Maxwell. Este é um modelo de dois elementos, composto por um sólido elástico ideal conectado a um fluido Newtoniano. Quando uma tensão é aplicada a esse corpo, observa-se uma deformação finita e instantânea devida exclusivamente ao elemento elástico. Após a deformação inicial o elemento viscoso começa a fluir, enquanto o elemento elástico permanece com a mesma deformação inicial. Ao contrário do sólido elástico, o fluido não suporta tensão, assim, a deformação varia constantemente enquanto a tensão é mantida (FOX *et al.*, 1998).

O teste de “creep” é uma maneira de avaliar o comportamento reológico de um material. Nesse teste, a amostra é submetida a uma tensão constante (que não frature o material) e a deformação resultante é monitorada em função do tempo (RAO, 1992). A curva de creep mostra a variação de ϵ com o tempo, sob aplicação e remoção de tensão (σ) a um material.

Quando a linearidade entre a deformação e a tensão aplicada é perdida, tem-se a *deformação crítica*, que para a maioria dos alimentos, inclusive queijos, é relativamente pequena (0,02-0,05). Abaixo desse ponto, as propriedades reológicas de materiais viscoelásticos são dependentes do tempo. Existem três regiões características na curva de creep, onde a compliância de creep (J , Pa^{-1}) é a razão entre a deformação e a tensão constante aplicada (RAO, 1992):

1. Deformação elástica, na qual a deformação é instantânea e completamente reversível (*compliância elástica*, J_0);

2. Deformação viscoelástica, na qual a deformação é parcialmente elástica e parcialmente viscosa (*compliância elástica retardada*, J_R), e a componente elástica recupera-se lentamente sob remoção da tensão;
3. Deformação viscosa, onde a deformação aumenta linearmente com o tempo e é permanente; a deformação não é recuperada (*compliância newtoniana*, J_N)

Outra forma de se avaliar propriedades reológicas de um material são os testes de compressão uniaxial. Nestes testes, a deformação aplicada é suficientemente grande para causar a fratura do material (FOX, 1998c), podendo-se analisar propriedades como módulo de elasticidade (E), tensão de ruptura (σ_{rup}), deformação de ruptura (ϵ_{Hrup}), tensão máxima ($\sigma_{m\acute{a}x}$). Estas propriedades podem ser correlacionadas com parâmetros sensoriais como elasticidade (E), dureza (σ_{rup}) e firmeza ($\sigma_{m\acute{a}x}$) e outros (FOX *et al.*, 1998b).

4.6.2. Reologia dos queijos

Como a maioria dos alimentos sólidos e semi-sólidos, os queijos são considerados materiais viscoelásticos, ou seja, apresentam comportamento tanto de um sólido elástico como de líquido viscoso. A viscoelasticidade dos queijos resulta da contribuição individual e da interação entre seus constituintes majoritários: proteína, gordura e água (FOX *et al.*, 1998c).

O principal componente responsável pela estrutura do queijo é a caseína, que 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).

Em queijos com reduzido teor de gordura as ligações intra e intermoleculares tornam-se mais numerosas e o queijo tende a apresentar maior elasticidade e maior firmeza, ficando mais resistente à deformação (MISTRY & ANDERSON, 1993). Assim, qualquer fator que cause o enfraquecimento da rede proteica, como a gordura ou água, reduz a tensão necessária para causar uma deformação no queijo.

Mantendo-se a temperatura constante, um aumento no teor de gordura em base seca diminui a tensão de ruptura do queijo. Isso ocorre porque geralmente o aumento do teor de gordura é acompanhado por uma redução dos teores de proteína e umidade (FOX *et al.*,

1998). Diversos estudos têm observado o efeito da diminuição do teor de gordura nas propriedades reológicas de queijo tipo Cheddar. Em geral, os resultados obtidos apontam para uma maior firmeza, resistência e elasticidade dos queijos com baixo ou reduzido teor de gordura (GUINEE *et al.*, 2000; MA *et al.*, 1997, BRYANT *et al.*, 1995).

Outro fator importante para a textura dos queijos é a umidade. A água ligada à caseína atua como um plasticizante, tornando a matriz proteica menos elástica e mais susceptível à ruptura (FOX *et al.*, 1998). Entretanto, a maior parte da água nos queijos está na forma livre, com sais dissolvidos. Esse líquido intersticial, assim como a gordura, atua como um lubrificante entre a rede proteica. Dessa forma, um aumento no teor de umidade resulta numa diminuição da elasticidade e firmeza do queijo (FOX *et al.*, 1998).

Não há efeitos consideráveis na estrutura das micelas de caseína entre níveis de temperatura entre 70-100°C. Entretanto, esses níveis de tratamento térmico afetam as proteínas do soro do leite, que consistem principalmente de β -lactoglobulina e α -lactoalbumina. Sob aquecimento o grupo tiol reativo da β -lactoglobulina é exposto devido à mudanças na conformação da molécula. O grupo tiol pode formar ligações dissulfito com outras proteínas. Essa reação torna a desnaturação protéica irreversível, ao contrário do que ocorre com a β -lactoglobulina suína, que não tem grupos tiol (VASBINDER & DE KRUIF, 2003).

Apesar da α -lactoalbumina não ter um grupo tiol livre, ela também pode se desnaturar irreversivelmente na presença da β -lactoglobulina devido às ligações dissulfito que se formam entre as moléculas. Esse tipo de ligação também ocorre com a κ e α -S₂ caseína. Assim, depois do aquecimento, a “cabeleira” das micelas de caseína terá proteínas do soro associadas. Entretanto, nem todas as proteínas do soro se ligam à micela de caseína. Uma fração considerável forma agregados de proteínas do soro puras (VASBINDER & DE KRUIF, 2003). O grau total de desnaturação é constante, mas o tratamento térmico a pH alto resulta na formação de mais agregados de proteínas do soro, enquanto tratamento térmico a pH baixo resulta em maior associação das soroproteínas com as micelas de caseína (VASBINDER & DE KRUIF, 2003).

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Tratamento do leite

O processo de fabricação do queijo foi dividido em três etapas: a primeira etapa consistiu na padronização e pasteurização do leite; a segunda, na ultrafiltração e tratamento térmico do retentado; e a terceira, na fabricação dos queijos. Os tratamentos térmicos testados foram: a) tratamento térmico do leite ($72^{\circ}\text{C}/15$ s ou $80^{\circ}\text{C}/4\text{s}$) e b) tratamento térmico do retentado ($68^{\circ}\text{C}/2$ minutos ou $63^{\circ}\text{C}/2$ minutos). Os processamentos foram efetuados em triplicata, resultando em 6 experimentos.

Leite cru integral (100 Kg) proveniente da Cooperativa dos Produtores de Leite de Campinas (CPLC), foi padronizado a um teor de gordura igual a 2,0% em centrífuga desnatadeira Alfa-Laval, capacidade de 100 litros/h. O leite padronizado foi tratado termicamente em trocador de calor de placas a $72^{\circ}\text{C}/15$ s, ou a $80^{\circ}\text{C}/4$ s, sendo o tipo de pasteurização definido por sorteio.

5.2 Ultrafiltração do leite

Na ultrafiltração, procurou-se partir sempre da mesma quantidade de matéria prima, de modo a evitar diferenças entre os processamentos em função do tempo de processo.

No dia seguinte, o leite pasteurizado foi aquecido a 50°C e concentrado por ultrafiltração em planta piloto dotada de membrana tipo Hollow Fiber de Polietersulfona, marca Microdyn, com peso molecular de corte de 20 kDa e área superficial de $1,4\text{m}^2$. As condições operacionais foram: pressão transmembrana de $1,2\text{ kgf/cm}^2$ (pressão de entrada de $1,6\text{ kgf/cm}^2$; pressão de saída de $0,8\text{ kgf/cm}^2$) e vazão volumétrica de $4\text{ m}^3/\text{h}$.

O leite foi concentrado até atingir fator de concentração 3,5, que corresponde ao teor de sólidos totais do queijo Minas Frescal pronto. A equação a seguir mostra o cálculo do fator de concentração (FC):

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

Após cada processamento a membrana foi submetida à limpeza e sanitização, seguindo as normas do fabricante, a fim de recuperar sua capacidade de permeação original (ou, no mínimo, 95% do fluxo de permeado inicial).

Depois da ultrafiltração, o retentado com fator de concentração 3,5 foi dividido em duas partes, que receberam tratamentos térmicos distintos: 68°C/2 minutos e 63°C/2 minutos. Dessa forma, foram obtidas duas partes de retentado destinadas à fabricação do queijo Minas Frescal.

O mesmo procedimento foi adotado para o leite submetido ao outro tipo de tratamento térmico.

5.3 Fabricação do queijo

A metodologia empregada para a produção dos queijos foi o processo MMV, patenteado em 1969 pelos pesquisadores Maubois, Mocquot e Vassal. Cada uma das partes de retentado obtidas, correspondeu ao chamado pré queijo líquido, cujo fator de concentração equivale ao teor de sólidos totais do queijo Minas Frescal pronto. Cada parte do retentado foi aquecida a 32°C e adicionada de 1,5% de cloreto de sódio, 0,025% de ácido láctico, e quantidade de coalho bovino suficiente para coagular o leite em 20 min (ponto de corte).

O retentado adicionado de sal, ácido láctico e coalho foi transferido para potes plásticos com capacidade de 250 ml e deixado em repouso para coagulação na própria embalagem.

Os dois lotes de queijo foram produzidos no mesmo dia e armazenados a 5°C em câmara fria até serem amostrados e analisados.

5.4 Amostragem dos queijos

Os queijos foram tomados aleatoriamente e cada queijo correspondeu a uma amostra. Para cada grupo de análises (composição química, capacidade de retenção de água e proteólise) foi utilizado um queijo (aproximadamente 250 g), que foi macerado em almofariz, com auxílio de um pistilo, até completa homogeneização. Para as análises de reologia e textura os queijos foram cortados em discos com 1,5 cm de altura e 2,5 cm de diâmetro, não sendo utilizados o centro e as bordas. Para análise de microestrutura foram cortadas pequenas lâminas (aproximadamente 10mm x 1mm x 1mm) do centro do queijo. Esse procedimento foi adotado para todos os lotes.

As análises de composição físico-química foram feitas no quinto dia de armazenamento refrigerado, microestrutura e análise sensorial, no décimo dia e proteólise, pH, capacidade de retenção de água, reologia e textura, nos dias 10, 20 e 30.

5.5 Análises do leite, retentado, permeado e queijos.

5.5.1 Análises do leite, retentado e permeado.

Leite, retentados e permeado foram submetidos às análises de extrato seco total, pelo método gravimétrico em estufa de circulação forçada, a 100 °C/24 horas (AOAC 925.23); gordura, pelo método de extração etérea de Monjonier (AOAC 989.05); nitrogênio total, pelo método de Kjeldahl (AOAC 991.21); nitrogênio não protéico, pela metodologia descrita por Aschaffenburg & Drewry (1959) seguida do método de Kjeldahl (AOAC 991.21), nitrogênio não caseico pela metodologia desenvolvida por Rowland (1938) seguida do método de Kjeldahl (AOAC 991.21); proteína desnaturada por eletroforese em SDS-Page (VASBINDER & DE KRUIF, 2003); cálcio total, determinado por digestão úmida, seguida de titulação com EDTA na presença de indicador murexida (TARAS, 1971) e pH, pelo método potenciométrico. Os valores de nitrogênio foram

multiplicados pelo fator de correção 6,38, para a obtenção dos teores equivalentes de proteína. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

5.5.2 Análises dos queijos

Os queijos foram avaliados após 5 dias de fabricação quanto aos teores de: extrato seco total, pelo método gravimétrico, em estufa a 100°C por 24 h (AOAC 925.23); gordura, pelo método de Gerber (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985); nitrogênio total (IDF, 1962), nitrogênio não caseico (BARBANO *et al.*, 1991); nitrogênio não protéico (AOAC 991.21) pelo método de Kjeldahl; cálcio total, determinado por digestão úmida, seguida de titulação com EDTA na presença de indicador murexida (TARAS, 1971) e pH pelo método potenciométrico. Os valores de nitrogênio foram multiplicados pelo fator 6,38 para obtenção dos valores equivalentes de proteína. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

5.6 Tempo de coagulação

O tempo de coagulação foi determinado através de viscosímetro (Brookfield Viscosimeter), equipado com um spindle 10,2 cm TF com rotação de 12 rpm. As medidas de viscosidade do coágulo foram repetidas em intervalos regulares (1min) desde o início da coagulação (avaliação visual) até o ponto em que a firmeza do coágulo seja equivalente ou maior que a do ponto de corte (KOWALCHYK & OLSO, 1997).

5.7 Cálculos de rendimento

O rendimento de fabricação dos queijos foi calculado segundo a equação:

$$\text{Rendimento} = \frac{\text{massa de queijo após embalagem}}{\text{massa de leite}}$$

Como há variações nos teores de umidade e sal dos queijos, o rendimento ajustado (RAJ) foi calculado para efeito de comparação, como descrito por Lau *et al.* (1990). Foram considerados teores desejados de sal de 1,5% e umidade de 70%:

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

5.8 Capacidade de retenção de água

A capacidade de retenção de água foi analisada pelo método descrito por Guo & Kindstedt (1995), em duplicata. A amostra homogeneizada (160g) foi centrifugada a 9.000 rpm (12.500g), por 75 min a 25°C, em centrífuga de alta velocidade refrigerada. A fração líquida foi transferida quantitativamente para um béquer e após total remoção da camada de óleo, a fase aquosa foi pesada.

5.9 Textura e reologia

5.9.1 Análise do Perfil de Textura (TPA)

A textura do queijo foi avaliada em quintuplicata pela Análise do Perfil de Textura (TPA - Texture Profile Analysis), utilizando-se o texturômetro TAXT₂ Stable Micro Systems (SMS) ajustado com célula de carga de 50 kg . O equipamento foi operado pelo programa Texture Expert[®]. As amostras de queijo foram mantidos à mesma temperatura (± 10 °C) e retiradas da embalagem imediatamente antes de serem analisados.

Nesta avaliação a amostra foi submetida a dois ciclos de compressão, durante os quais foram determinados os seguintes atributos: dureza TPA; coesividade TPA; elasticidade TPA; adesividade TPA; mastigabilidade TPA.

5.9.2 Creep

Os testes de creep foram realizados aplicando-se à amostra uma força constante de 0,50N durante 180 s. Após esse tempo, a força foi retirada e a recuperação da amostra medida por mais 180 s. Os resultados foram expressos em termos da proporção entre a deformação medida e a tensão aplicada (em inglês, essa expressão é denominada *compliance*). As curvas de creep (compliância (Pa^{-1}) x tempo (s)) foram ajustadas a um modelo consistindo de um elemento de Kelvin conectado em série a um elemento elástico e a um elemento de Maxwell, representado pela equação:

$$J(t) = J_0 + J_1 (1 - e^{-t/\tau_1}) + t/\eta$$

onde J_0 é a compliância instantânea (Pa^{-1}), η é a viscosidade newtoniana ($\text{Pa}\cdot\text{s}$), J_1 é a compliância relativa ao elemento 1 (Pa^{-1}), e τ_1 é o tempo de retardação associado aos elementos 1 e 2 (s).

5.10 Microestrutura

A microestrutura das amostras do queijo foi avaliada através de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Inicialmente, as amostras de queijo foram cortadas com lâminas de aço inox no tamanho 10mm x 1mm x 1mm. A fixação foi feita com uma solução de gluteraldeído a 2% em tampão fosfato de sódio 0,1M/ pH 7,10 por 15 horas à temperatura ambiente. Após esse período, as amostras foram lavadas com tampão fosfato 0,1M (2 x 15 min) e pós-fixadas com solução de tetróxido de ósmio a 1% em tampão fosfato 0,1M por 8 horas. Após nova lavagem com tampão fosfato 0,1M (2 x 15 min), as amostras foram desidratadas gradualmente usando etanol 70% (2 x 15 min), 90% (2 x 15 min), 95% (2 x 10 min) e 100% (3 x 10 min), e acetona 100% (2 x 30 min). Foi então realizada a secagem das amostras, em secador de ponto crítico CPD 030 (Bal-tec AG, Balzers, Liechtenstein). Em seguida, as amostras foram fraturadas a temperatura ambiente, montadas em *stubs* de alumínio com cola de prata, metalizadas com ouro usando metalizador SCD 050 (Bal-tec AG, Balzers, Liechtenstein) e levadas para observação em microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM-5800LV (JEOL-USA, Inc., Peabody, MA, USA) a 10 kV.

5.11 Proteólise

A proteólise dos queijos foi monitorada durante os dias 30 dias de armazenamento refrigerado, através da avaliação do pH e índices de extensão e profundidade.

O pH dos queijos foi determinado em triplicata, através de método potenciométrico, utilizando-se pHmetro Marca Micronal, Modelo B375, conforme AOAC 935.17.

Os teores de nitrogênio solúvel em tampão de acetato em pH 4,6 (nitrogênio não caseico) e em 12% TCA (nitrogênio não protéico) foram determinados para medir a extensão e a profundidade da proteólise nos queijos. Os teores de nitrogênio solúvel em acetato e em TCA foram determinados por macro Kjeldahl e convertidos para proteína solúvel multiplicando-se o valor obtido pelo fator de conversão ($N \times 6,38$). Os resultados foram expressos como porcentagem dos teores de proteína total do queijo. O teste foi realizado em triplicata, de acordo com Bynum & Barbano (1985) conforme a AOAC 991.21.

5.12 Proteína do soro desnaturada

A eletroforese em SDS-PAGE foi realizada utilizando-se o sistema Mini-Protean II da Bio-Rad, seguindo o método descrito por Svasti (1977). Os géis foram corados com Comassie Brilliant Blue G-250 (CBB), seguindo-se metodologia descrita por Blakesley & Boezi (1977). As amostras foram preparadas em ambiente redutor (tampão com beta mercaptotanol) e não redutor (tampão sem betamercaptoetanol) afim de se observar a formação de complexos entre as proteínas do soro desnaturadas e as micelas de caseína. Os extratos para eletroforese foram preparados dissolvendo-se as amostras de leite, permeado e retentados a 0.4% de proteína em 1 mL de tampão, com aquecimento a 95°C durante 4 minutos. Foram aplicados 1µL de amostra e 1µL de padrão no gel. O tampão para dissolução da amostra foi preparado utilizando-se 62,5 mM de trishidroximetil aminometano (TRIS), 20% de glicerol, 2% SDS e 5% de beta-mercaptoetanol a pH 6,8. A separação das amostras foi feita a 120V, até o corante indicador atingir o final do gel. Os

geís foram corados por imersão em solução corante durante 1 noite e descorados em solução de ácido acético, metanol e água destilada.

5.13 Análise sensorial

A análise sensorial foi realizada para o último processamento, escolhido por sorteio antes do início da fase experimental. Foram avaliados queijos produzidos a partir de todos os retentados (quatro). Foi aplicado um teste de aceitação a 50 provadores não treinados para avaliação da impressão global e dos seguintes atributos: aparência, sabor e textura. A avaliação foi feita utilizando-se escala hedônica estruturada de 9 pontos. A intenção de compra também foi avaliada através de escala hedônica de 5 pontos. As amostras foram apresentadas de forma monádica. Os testes foram realizados em cabines individuais, sob luz branca e as amostras foram apresentadas à temperatura de conservação (geladeira), cortadas em fatias. As diferenças entre as notas foram avaliadas ao nível de 5% de significância, utilizando-se o teste de Tukey para comparação entre as médias.

5.14. Planejamento experimental e análise estatística dos resultados

O delineamento experimental utilizado foi do tipo split split plot. O fator estudado foi o tratamento térmico do leite (A), sendo que a subparcela foi obtida pela incorporação do fator tratamento térmico do retentado (B). Os 2 ensaios foi realizados em triplicata , perfazendo um total de 6 experimentos.

Os resultados de composição e rendimento de fabricação foram analisados através de Análise de Variância (ANOVA). O teste de F-ANOVA foi utilizado para verificar diferenças entre as médias.

Para a avaliação de pH, proteólise, capacidade de retenção de água, e comportamento reológico dos queijos, foi adotado um delineamento do tipo split-split-plot. A sub-parcela foi obtida pela incorporação do fator tempo de armazenamento refrigerado

(C). As análises de pH, proteólise, separação de água, reologia e textura do queijo foram realizadas nos dias 10, 20 e 30 de armazenamento refrigerado. A ANOVA foi utilizada para testar as diferenças entre tratamentos, entre tempos de armazenamento refrigerado e as interações. Foi utilizado o teste de Tukey, de comparações múltiplas, para agrupar tratamentos e/ou tempos com médias cujas diferenças não foram estatisticamente significativas.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Composição físico-química

Os valores de sólidos totais (extrato seco), gordura, proteína, caseína, nitrogênio não protéico (NNP) e pH, relativos ao leite, permeado, retentados e queijos, são apresentados nas Tabelas 1, 2 e 3. A Tabela 4 apresenta a análise de F-ANOVA para comparação entre as médias dos resultados obtidos para os retentados.

Os teores de gordura, proteína, NNP, pH, cálcio total e cálcio solúvel dos leites que receberam os diferentes tratamentos térmicos não apresentaram diferença significativa entre si. Entretanto, os valores de extrato seco e caseína diferiram significativamente ($p < 0,05$) com os tratamentos testados, sendo que o leite tratado a $80^{\circ}\text{C}/4\text{s}$ apresentou teores maiores de ambos os componentes. Possivelmente o maior extrato seco encontrado deve ser em função dos teores levemente maiores de gordura, proteína e cálcio total apresentados pelo leite tratado a $80^{\circ}\text{C}/4\text{s}$, que embora não tenham apresentado diferença significativa com o tratamento mais brando, acabaram resultando em um extrato seco mais elevado. A maior concentração de caseína no leite tratado mais intensamente deve estar relacionada com o método utilizado para a determinação de caseína, que consiste na precipitação dessa proteína (ponto isoelétrico), filtração e dosagem de nitrogênio. A proteína do soro complexada com a caseína durante o tratamento térmico irá se precipitar com a caseína e ser determinada como tal.

Com relação aos permeados, os valores de caseína, pH, cálcio total e cálcio solúvel não foram afetados pelos tratamentos testados. Entretanto, o tratamento térmico mais intenso aplicado ao leite antes da ultrafiltração resultou em teores significativamente menores ($p < 0,05$) de extrato seco, gordura e proteína. Esses valores estão de acordo com os encontrados para o leite tratado a $80^{\circ}\text{C}/4\text{s}$, que apresentou concentração mais elevada desses componentes, indicando maior retenção pela membrana e conseqüentemente, menor concentração desses no permeado. Por outro lado, os valores de NNP foram maiores tanto

para o leite quanto para o permeado do leite tratado a 80°C/4s. Provavelmente esse aumento se deve à liberação do grupo amina através da desaminação dos aminoácidos glutamina e aspargina das proteínas.

Os teores de extrato seco, gordura, proteína, NNP, pH, cálcio total e cálcio solúvel dos retentados não apresentaram diferença significativa entre si, não sendo afetados pelos tratamentos térmicos testados. Por outro lado, observou-se que o tratamento do leite a 80°C/4s resultou em teores significativamente maiores ($p=0,0186$) de proteína no retentado, o que pode ser justificado pela maior desnaturação das soroproteínas que se complexaram com a caseína, aumentando o teor de proteína total no retentado. No leite tratado mais intensamente, a complexação das proteínas do soro com a caseína é maior, o que resulta em um aumento do tamanho das micelas, tornando-as mais fáceis de serem retidas e concentradas pela membrana de ultrafiltração (HINRICHS, 2001). Assim, o aumento do teor de proteína total deve ser consequência da maior retenção dessas proteínas pela membrana. Os resultados também mostraram um aumento significativo ($p=0,0062$) do teor de caseína no retentado tratado a 68°C/2. Esse fato provavelmente reflete um acúmulo do erro inerente ao método utilizado para a determinação de caseína, como já explicado anteriormente. Como o método consiste na precipitação da caseína no ponto isoelétrico, filtração e dosagem de nitrogênio, toda a proteína do soro que estiver complexada com a caseína irá se precipitar com a caseína e será determinada como tal. Isso causa a impressão errônea de que o teor de caseína aumentou, quando na verdade o que aconteceu foi um aumento de proteínas do soro que se complexaram com as micelas de caseína durante os tratamentos térmicos aplicados.

O teor de cálcio total apresentou tendência de aumento com o aumento da carga térmica aplicada ao leite. De acordo com Green et al. (1984), parte do cálcio presente no leite está na forma micelar, ligado à caseína, e parte encontra-se em solução. O tratamento térmico insolubiliza o cálcio solúvel, aumentando sua concentração. A temperatura relativamente alta mantida durante a ultrafiltração também contribui para uma maior concentração de cálcio no retentado (KARLSSON et al 2007). Além disso, durante a ultrafiltração, todo o cálcio micelar é retido e concentrado com o leite. O cálcio iônico atravessa a membrana, de modo que uma concentração aproximadamente constante é mantida na fase aquosa do retentado.

Tabela 1. Composição média do leite

Componente	TT leite 72°C/15min	TT leite 80°C/4s
Extrato seco	10,40 ^a	10,95 ^b
Gordura	2,10 ^a	2,15 ^a
Proteína	3,12 ^a	3,13 ^a
Caseína	2,28 ^a	2,35 ^b
NNP	0,03 ^a	0,05 ^a
pH	6,69 ^a	6,75 ^a
Cálcio Total	0,13 ^a	0,14 ^a
Cálcio Solúvel	0,7 ^a	0,7 ^a

*Médias com letras iguais, na mesma linha, não diferem significativamente entre si (p>0,05).

Tabela 2. Composição média dos permeados

Componente	TT leite 72°C/15min	TT leite 80°C/4s
Extrato seco	5,56 ^a	5,39 ^b
Gordura	0,04 ^a	0,01 ^b
Proteína	0,27 ^a	0,23 ^b
Caseína	0,09 ^a	0,08 ^a
NNP	0,05 ^a	0,06 ^b
pH	6,68 ^a	6,67 ^a
Cálcio Total	0,11 ^a	0,10 ^a
Cálcio Solúvel	0,8 ^a	0,7 ^a

*Médias com letras iguais, na mesma linha, não diferem significativamente entre si (p>0,05).

Tabela 3. Composição média dos retentados

	TT leite 72°C/15min		TT leite 80°C/4s	
	Retentado 63°C/2min	Retentado 68°C/2min	Retentado 63°C/2min	Retentado 68°C/2min
Extrato seco	21,26	21,24	21,32	21,21
Gordura	7,03	7,04	7,00	7,08
Proteína	10,65	10,72	10,82	10,87
Caseína	8,06	8,12	8,67	8,75
NNP	0,07	0,08	0,06	0,06
pH	6,61	6,61	6,62	6,62
Cálcio Total	0,27	0,28	0,28	0,29
Cálcio Solúvel	0,11	0,1	0,1	0,1

Tabela 4. Graus de liberdade, quadrados médios e probabilidades para composição média dos retentados.

Componente	Fator	G.L	Q.M.	p
Extrato seco	Tratamento térmico do leite	1	1.49578	0.3930
	Tratamento térmico do retentado	1	0.03967	0.7414
	Tratamento térmico do leite*Tratamento térmico do retentado	1	0.74833	0.1994
Gordura	Tratamento térmico do leite	1	0.00021	0.7418
	Tratamento térmico do retentado	1	0.00187	0.8284
	Tratamento térmico do leite*Tratamento térmico do retentado	1	0.00113	0.8660
Proteína	Tratamento térmico do leite	1	0.08113	0.0186
	Tratamento térmico do retentado	1	0.0112	0.4077
	Tratamento térmico do leite*Tratamento térmico do retentado	1	0.0012	0.7774
Caseína	Tratamento térmico do leite	1	0.11735	0.4063
	Tratamento térmico do retentado	1	1.76333	0.0062
	Tratamento térmico do leite*Tratamento térmico do retentado	1	0.12951	0.2257
NNP	Tratamento térmico do leite	1	3.7e-6	0.8987
	Tratamento térmico do retentado	1	3.33e-5	0.3046
	Tratamento térmico do leite*Tratamento térmico do retentado	1	3.7e-6	0.7149
PH	Tratamento térmico do leite	1	0.00068	0.1750
	Tratamento térmico do retentado	1	0.00345	0.0962
	Tratamento térmico do leite*Tratamento térmico do retentado	1	4.54e-5	0.7159
Cálcio Total	Tratamento térmico do leite	1	0.0078	0.1630
	Tratamento térmico do retentado	1	0.0035	0.0862
	Tratamento térmico do leite*Tratamento térmico do retentado	1	1.2685	0.7615
Cálcio Solúvel	Tratamento térmico do leite	1	0.01528	0.1782
	Tratamento térmico do retentado	1	0.00326	0.08362
	Tratamento térmico do leite*Tratamento térmico do retentado	1	0.86574	0.79159

GL = graus de liberdade; QM = quadrado médio; P = probabilidade

A Tabela 5 apresenta os valores médios da composição de todos os queijos fabricados. A Tabela 6 apresenta a análise de F-ANOVA para comparação entre as médias.

Os tratamentos térmicos do leite e do retentado não afetaram os teores de extrato seco, pH, gordura, NNP, proteína total, cálcio total e cálcio solúvel dos queijos ($p > 0,05$). Entretanto, o tratamento térmico do retentado afetou o teor de caseína. Quanto maior a intensidade do tratamento térmico do retentado, maior foi o teor caseína dos queijos. Isso era esperado, uma vez que esses componentes apresentaram esse mesmo comportamento na composição dos retentados. Portanto, a composição dos queijos apenas refletiu as mudanças ocorridas com os retentados. Mesmo não sendo estatisticamente diferentes, pode-se observar que os teores de proteína total dos queijos também acompanharam a tendência de aumento com a maior intensidade do tratamento térmico aplicado aos retentados, o que reflete o ocorrido com os retentados.

Todos os queijos apresentaram teor de umidade mais elevado que o de um queijo Minas Frescal tradicional, que varia entre 55 e 60%, segundo o Sistema de Informações do Agronegócio de Minas Gerais (2002). Esse resultado está relacionado ao reduzido teor de gordura dos queijos, que promove uma alteração no balanço dos componentes do mesmo, e à aplicação de tratamentos térmicos mais intensos que os usuais, que promovem uma maior desnaturação das proteínas do soro que, incorporadas ao queijo, aumentam sua capacidade de retenção de água.

O teor de gordura de todos os queijos fabricados está de acordo com a definição de um produto *light*, que deve conter no mínimo 25% menos gordura que um queijo tradicional. Os queijos Minas Frescal tradicionais fabricados por ultrafiltração contêm em média 12,4% de gordura, assim, um queijo com até 9,3% de gordura poderia ser considerado *light*. Como todos os queijos fabricados apresentaram teor de gordura de 7%, todos estão de acordo com a legislação.

Tabela 5. Composição média dos queijos

	TT leite 72°C/15 min		TT leite 80°C/4s	
	Retentado 63°C/2min	Retentado 68°C/2min	Retentado 63°C/2 min	Retentado 68°C/2min
Umidade	77,14	77,07	77	76,94
pH	6,44	6,45	6,46	6,51
Gordura	7,00	7,00	7,10	7,00
Proteína	10,60	10,65	10,75	10,81
Caseína	7,70	8,08	7,73	8,64
NNP	0,07	0,07	0,06	0,06
Cálcio Total	0,27	0,27	0,27	0,29
Cálcio Solúvel	0,11	0,12	0,11	0,1

Tabela 6. Graus de liberdade, quadrados médios e probabilidades para composição média dos queijos

Componente	Fator	G.L	Q.M.	p
Extrato seco	Tratamento térmico do leite	1	1.49578	0.3925
	Tratamento térmico do retentado	1	0.03967	0.7314
	Tratamento térmico do leite*Tratamento térmico do reentado	1	0.74833	0.1989
Gordura	Tratamento térmico do leite	1	0.00021	0.7418
	Tratamento térmico do retentado	1	0.00187	0.8183
	Tratamento térmico do leite*Tratamento térmico do reentado	1	0.00113	0.8658
Proteína	Tratamento térmico do leite	1	0.08113	0.1859
	Tratamento térmico do retentado	1	0.0112	0.4077
	Tratamento térmico do leite*Tratamento térmico do reentado	1	0.0012	0.7780
Caseína	Tratamento térmico do leite	1	0.11735	0.4062
	Tratamento térmico do retentado	1	1.76333	0.0062
	Tratamento térmico do leite*Tratamento térmico do reentado	1	0.12951	0.2246
NNP	Tratamento térmico do leite	1	3.766	0.8997
	Tratamento térmico do retentado	1	3.335	0.3048
	Tratamento térmico do leite*Tratamento térmico do reentado	1	3.76	0.7089

PH	Tratamento térmico do leite	1	0.00068	0.1750
	Tratamento térmico do retentado	1	0.00345	0.0954
	Tratamento térmico do leite*Tratamento térmico do reetntado	1	4.535	0.8163
Cálcio Total	Tratamento térmico do leite	1	0.0078	0.1630
	Tratamento térmico do retentado	1	0.0035	0.0862
	Tratamento térmico do leite*Tratamento térmico do reetntado	1	1.2685	0.7615
Cálcio Solúvel	Tratamento térmico do leite	1	0.01528	0.1782
	Tratamento térmico do retentado	1	0.00326	0.08362
	Tratamento térmico do leite*Tratamento térmico do reetntado	1	0.86574	0.79159

GL = graus de liberdade; QM = quadrado médio; P = probabilidade

6.2. Tempo de coagulação

A Tabela 7 apresenta o tempo de coagulação dos retentados.

Os resultados evidenciaram que o tempo de coagulação aumentou com o aumento da carga térmica aplicada ao leite e retentado. Assim, retentados com um histórico de tratamentos térmicos mais drásticos (80°C/4s e 68°/2 min) apresentaram o maior tempo de coagulação. Esses resultados eram esperados uma vez que quanto maior a intensidade do tratamento térmico, maior a desnaturação das soroproteínas que se complexaram com a caseína, dificultando a ação do coalho. O tratamento térmico do leite provoca a ligação da κ -caseína com a β -lactoglobulina, resultando na adsorção da β -lactoglobulina na superfície da micela, que dificulta o acesso da enzima à ligação Phe₁₀₅-Met₁₀₆, resultando em maior tempo de coagulação.

Entretanto, o tempo de coagulação dos retentado de ultrafiltração foi bem menor quando comparado a um leite não concentrado que é geralmente de 40 minutos. A maior concentração de proteínas no retentado em relação ao leite resulta em um tempo de coagulação menor e na formação de um coágulo mais grosseiro, além de possibilitar o uso de quantidades menores de coalho ou coagulante.

Com o aumento da concentração de caseína as propriedades de coagulação do leite mudam. O tempo de coagulação diminui, a elasticidade do gel aumenta, o nível de hidrólise da κ -caseína para início da agregação é menor e uma menor quantidade de soro é expelido do gel (KARLSSON *et al*, 2006).

Tabela 7. Efeito do tratamento térmico do leite e retentados no tempo de coagulação dos retentados (min)

TT leite 72°C/15 min		TT leite 80°C/4s	
TT retentado 63°C/2min	TT retentado 68°C/2min	TT retentado 63°C/2min	TT retentado 68°C/2min
13 ^a	16 ^b	15 ^b	17 ^c

*Médias com letras iguais, na mesma linha, não diferem significativamente entre si ($p > 0,05$).

6.3 Recuperação de Proteína e Gordura

Na tabela 8 são apresentados os valores de recuperação de proteína e gordura nos queijos para todos os tratamentos.

Não houve diferença significativa na recuperação de proteína e gordura para nenhum tratamento testado. Entretanto, observa-se que o tratamento do retentado a 68°C/2 min para ambos os tratamentos do leite resultou numa recuperação de proteína levemente maior. A recuperação de gordura indica que a membrana utilizada foi capaz de reter toda a gordura do leite, o que era esperado uma vez que os glóbulos de gordura geralmente apresentam peso molecular maior que 20 kDa (peso molecular de corte da membrana utilizada).

Tabela 8. Efeito do tratamento térmico do leite e retentados na recuperação de proteína e gordura dos queijos Minas frescal light fabricados por ultrafiltração obtida para todos os tratamentos (%)

	TT leite 72°C/15 min		TT leite 80°C/4s	
	Retentado 63°C/2min	Retentado 68°C/2min	Retentado 63°C/2min	Retentado 68°C/2min
Proteína	94 ^a	96 ^a	95 ^a	96 ^a
Gordura	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a

*Médias com letras iguais, na mesma linha, não diferem significativamente entre si (p>0,05).

6.4 Rendimento

Na tabela 9 são apresentados os valores de rendimento de fabricação e rendimento ajustado obtidos para os queijos produzidos a partir de todas as combinações de tratamento térmico testadas.

Não houve diferença significativa (p>0,05) no rendimento dos queijos para nenhum tratamento, indicando que tanto o rendimento de fabricação quanto o rendimento ajustado não foram afetados pelos tratamentos térmicos testados. Entretanto, observou-se uma tendência de aumento do rendimento de fabricação e do rendimento ajustado quando o retentado foi tratado a 68°C/2min. O maior rendimento de fabricação pode ser explicado pelo aumento do teor de umidade dos queijos devido à maior desnaturação de proteínas do soro. O rendimento ajustado também pode ser explicado pela maior incorporação de proteínas, como pode ser observado na tabela 5, que mostra uma maior recuperação de proteína para os retentados tratados a 68°C/2min.

Embora seja verdade que a gordura do queijo removida é substituída por água, uma redução do rendimento é inevitável porque nem toda gordura é substituída pela água (MADALOU *et al.*, 2005). Segundo Drake & Swanson (1995), queijos com baixo teor de gordura apresentam rendimento menor, já que normalmente a gordura representa 50% ou mais do extrato seco total. Entretanto, os valores de rendimento de fabricação obtidos foram levemente maiores que os encontrados por Campos (2000) para queijos Minas Frescal fabricados por acidificação direta a partir de leite com 3% de gordura. Campos

(2000) obteve rendimentos de fabricação na ordem de 16%; nesse experimento foram obtidos valores de 18%.

O tratamento térmico do leite resulta na desnaturação das proteínas do soro e sua interação com a κ -caseína presente na micela de caseína. Essa interação envolve os grupos tiol livres das proteínas do soro desnaturadas (principalmente da β -lactoglobulina) e as pontes dissulfeto da κ -caseína. Como as pontes dissulfeto da κ -caseína são encontradas na região da para κ -caseína (micela), as proteínas do soro desnaturadas permanecerão ligadas à micela mesmo depois da hidrólise da caseína pela quimosina. Portanto, o tratamento térmico pode ser considerado um método potencialmente interessante para aumentar o rendimento dos queijos (GUINEE *et al.*, 1996).

Tabela 9. Efeito do tratamento térmico do leite e do retentado no Rendimento de fabricação e Rendimento ajustado (Raj) obtido para todos os tratamentos (kg queijo/100kg de leite)

	TT leite 72°C/15 min		TT leite 80°C/4s	
	Retentado 63°C/2min	Retentado 68°C/2min	Retentado 63°C/2min	Retentado 68°C/2min
Rendimento	18 ^a	18,15 ^a	18,1 ^a	18,25 ^a
Raj	13,56 ^a	13,64 ^a	13,57 ^a	13,8 ^a

*Médias com letras iguais, na mesma linha, não diferem significativamente entre si (p>0,05).

6.5. Proteólise

A extensão da proteólise está relacionada à proteólise primária, que ocorre principalmente pela ação residual do coalho e da plasmina sobre a matriz caseína do queijo. Segundo a literatura, no tratamento térmico mais intenso a ação dessas enzimas é inibida pela incorporação das soroproteínas. Assim, a proteólise primária da caseína tende a diminuir com o aumento da incorporação de proteínas do soro, em virtude da inibição do coalho e da plasmina pela β -lactoglobulina (BECK, 1993).

Como pode ser visto na figura 2, houve interação entre o tratamento térmico do leite e do retentado, portanto, deve-se analisar o efeito da interação, e não das variáveis

independentemente. Assim, observa-se que os queijos provenientes dos retentados que tiveram um histórico de tratamento térmico mais intenso apresentaram extensão de proteólise significativamente menor que os que sofreram tratamento térmico mais brando.

As Figuras 1 e 3 mostram que houve aumento da proteólise com o decorrer do tempo de armazenamento refrigerado, apresentando um aumento significativo nos índices de nitrogênio solúvel a pH 4,6 (%NS (pH 4,6)/NT) para todos os queijos fabricados.

Os altos níveis de nitrogênio solúvel a pH 4,6 encontrados devem estar relacionados à alta umidade dos queijos obtidos a partir dos retentados de ultrafiltração (mais de 70%). Maiores teores de água favorecem as reações enzimáticas, entre elas a ação hidrolítica do coagulante, que é o principal responsável pela proteólise primária no queijo Minas. Ainda assim, os resultados obtidos estão próximos aos encontrados por Cunha (2001), que trabalhando com queijos Minas Frescal com baixo teor de gordura fabricados a partir de retentados com FC 1,5 obteve índices de extensão de proteólise que aumentaram de cerca de 7 % no quinto dia de armazenamento refrigerado a 12% no décimo quinto dia.

As características diferentes da proteólise dos queijos fabricados com retentados de ultrafiltração são um reflexo da reduzida digestão da β e da α -s1 caseína. A degradação inicial da caseína intacta é resultado principalmente da ação residual do coalho e da plasmina. Diversos pesquisadores encontraram uma acentuada diminuição da degradação da α -s1 caseína e uma degradação ainda menor da β caseína nos queijos fabricados por ultrafiltração quando comparados com queijos fabricados pelos métodos tradicionais (BENFELD, 2006; CHRISTENSEN, KRISTIANSEN & WERNER, 1991; CREAMER, IYER & LELIEVRE, 1987). A inclusão de uma quantidade maior de proteínas do soro nos queijos ultrafiltrados quando comparados com queijos tradicionais pode resultar numa maior concentração de inibidores de proteinase no queijo e assim aumentar a atividade inibitória do coalho residual e da plasmina (BENFELD, 2006).

As proteínas do soro não desnaturadas são mais resistentes à ação proteolítica das enzimas do coalho e da cultura láctica, o que previne a formação de peptídeos pequenos e hidrofóbicos responsáveis pelo aparecimento do sabor amargo (FURTADO & PARTRIDGE, 1988). A incorporação de soroproteínas afeta também a proteólise primária. A quebra da caseína diminui devido a interações entre as proteínas do soro e as enzimas

proteolíticas, em especial a inibição do coalho e da plasmina pela β -lactoalbumina (BECK, 1993).

A Figura 1 mostra a extensão da proteólise dos queijos determinados nos dias 10, 20 e 30 de armazenamento refrigerado. A Tabela 10 apresenta a análise de F-ANOVA para Extensão de proteólise. As figuras 2 e 3 apresentam a representação gráfica das diferenças entre os tratamentos testados e o efeito do tempo nos teores de nitrogênio solúvel a pH 4,6.

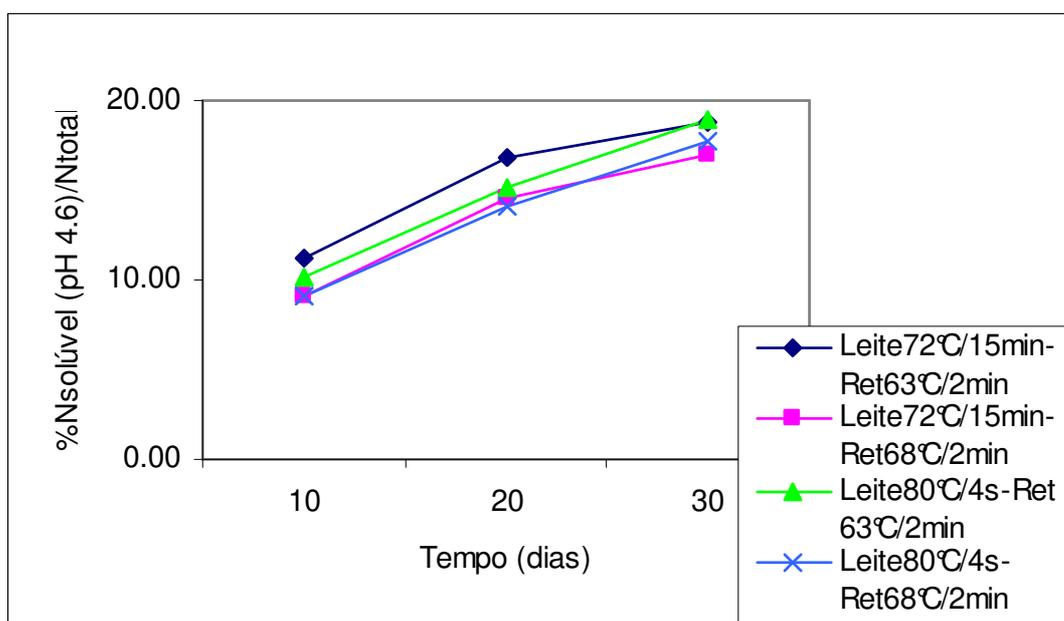


Fig. 1. Evolução da extensão da proteólise dos queijos Minas frescal *light* fabricados por ultrafiltração com o tempo de armazenamento refrigerado.

Tabela 10. Graus de liberdade, quadrados médios e probabilidades para extensão de proteólise

Fonte	G.L	Q.M.	p
Tratamento térmico do leite	1	1.44934846	0.1431
Tratamento térmico do retentado	1	24.13538549	<.0001
Tratamento térmico do leite*Tratamento térmico do retentado	1	0.56166698	0.0316
Tempo	2	213.3873000	<.0001
Tempo*Tratamento térmico do leite	2	0.3093420	0.4296
Tempo*Tratamento térmico do retentado	2	0.1397420	0.6760

GL = graus de liberdade; QM = quadrado médio; P = probabilidade.

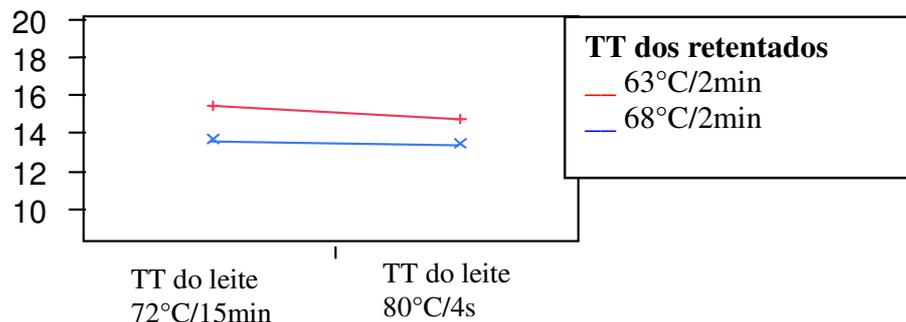


Fig. 2. Efeito da interação do tratamento térmico do leite com o tratamento térmico do retentado na extensão de proteólise dos queijos Minas frescal *light* fabricados por ultrafiltração.

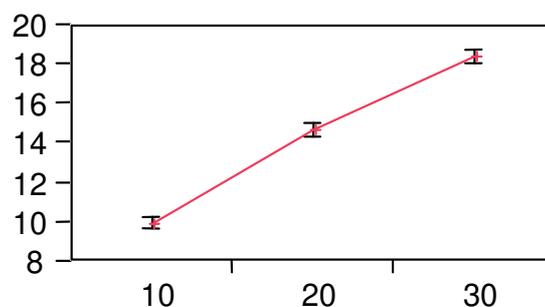


Fig. 3. Efeito do tempo na extensão de proteólise dos queijos Minas frescal *light* fabricados por ultrafiltração.

A profundidade da proteólise está relacionada com a ação de enzimas proteolíticas de microrganismos sobre os peptídeos resultantes da hidrólise da matriz caseica do queijo. Como esses queijos foram fabricados por acidificação direta, sem adição de fermento, a proteólise secundária pode estar relacionada à presença de microrganismos contaminantes e/ou sobreviventes aos tratamentos térmicos. A alta umidade torna os queijos obtidos por ultrafiltração mais favoráveis ao crescimento de microrganismos.

Observa-se na Figura 5 que os queijos tratados a 80°C/4s apresentam valores significativamente menores de profundidade de proteólise. Possivelmente o tratamento térmico mais intenso do leite garantiu um menor número de microrganismos no retentado usado na fabricação do queijo ou a maior incorporação de proteínas do soro resultou em

menor ação enzimática, seja por impedimento estérico ou pelo fato das enzimas não atacarem preferencialmente as proteínas do soro. A figura 6 apresenta essa mesma tendência com relação aos retentados, sendo que os retentados tratados a 68°C/4s também apresentaram valores significativamente mais baixos de profundidade de proteólise.

As Figuras 5 e 6 também mostram que houve um aumento da profundidade de proteólise para todos os queijos com o tempo de armazenamento, sendo mais acentuado nos últimos 10 dias. Entretanto, comparando-se os valores do índice de profundidade de proteólise obtidos com os valores encontrados por Campos (2000) para queijo Minas Frescal fabricado por acidificação direta sem o uso da ultrafiltração, pode ser observado que os nossos valores foram bastante inferiores. No trabalho citado, os valores do índice de profundidade de proteólise aumentaram de 1,2%, no segundo dia, para cerca de 2,4%, no vigésimo-segundo dia. Nesse experimento, o aumento no índice de profundidade de proteólise, para todos os queijos, foi bem menos expressivo.

A população bacteriana do queijo também está relacionada com o teor de gordura do queijo, sendo que a redução de gordura leva a menores quantidades de bactérias. Entretanto, devido à alta umidade desses queijos as bactérias presentes podem se desenvolver e contribuir para a proteólise (MADALOU *et al.*, 2005).

A Figura 4 mostra a profundidade da proteólise dos queijos determinada nos dias 10, 20 e 30 de armazenamento refrigerado.

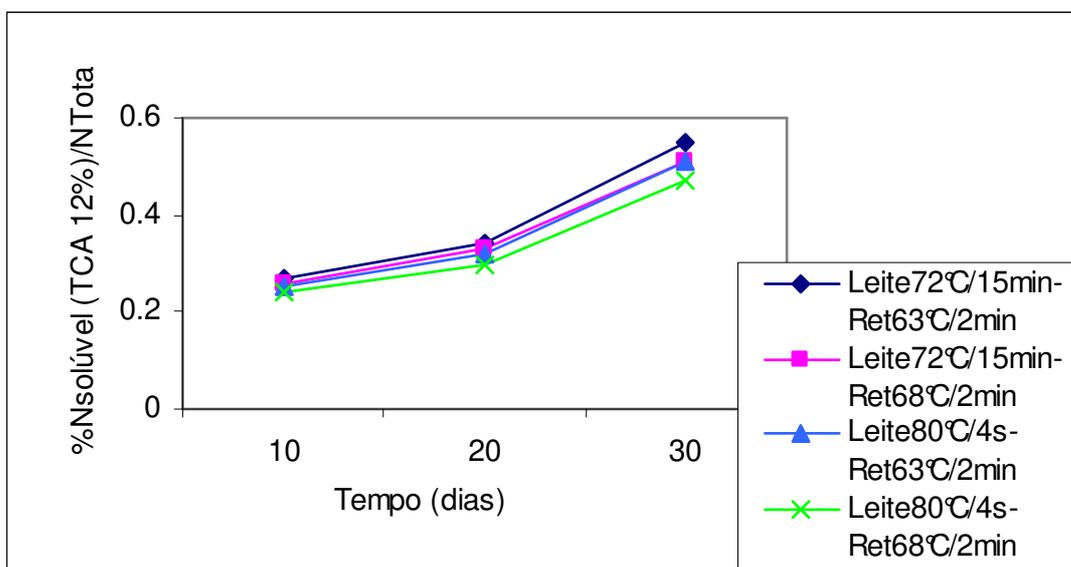


Fig. 4. Evolução da profundidade da proteólise dos queijos Minas frescal *light* fabricados por ultrafiltração com o tempo de armazenamento refrigerado.

Tabela 11. Graus de liberdade, quadrados médios e probabilidades para profundidade de proteólise

Fonte	G.L	Q.M.	p
Tratamento térmico do leite	1	0.00760772	0.0001
Tratamento térmico do retentado	1	0.00722500	0.0002
Tratamento térmico do leite*Tratamento térmico do retentado	1	0.00005216	0.3290
Tempo	2	0.20147870	<.0001
Tempo*Tratamento térmico do leite	2	0.00083735	<.0001
Tempo*Tratamento térmico do retentado	2	0.00085093	<.0001

GL = graus de liberdade; QM = quadrado médio; P = probabilidade.

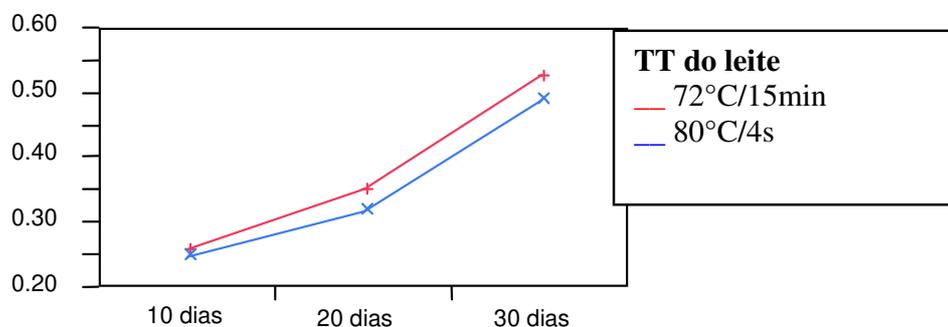


Fig. 5. Efeitos do tratamento térmico do leite e do tempo na profundidade de proteólise dos queijos Minas frescal *light* fabricados por ultrafiltração.

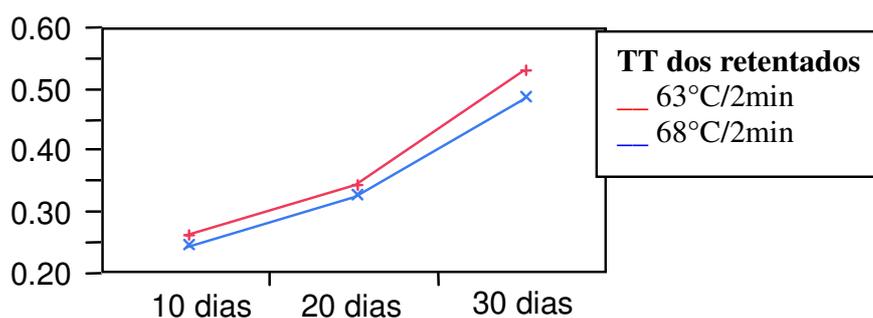


Fig. 6. Efeitos do tratamento térmico dos retentados e do tempo na profundidade de proteólise dos queijos Minas frescal *light* fabricados por ultrafiltração.

A Figura 7 mostra a evolução do pH durante a proteólise dos queijos determinado nos dias 10, 20 e 30 de armazenamento refrigerado.

O tratamento térmico do leite (Fig. 8) e do retentado (Fig. 9) influenciaram significativamente os valores de pH, sendo que quanto mais intensos foram os tratamentos térmicos aplicados, maiores os valores de pH do queijo.

O tempo de armazenamento refrigerado também afetou a evolução do pH, sendo que os queijos apresentaram um leve aumento do pH com o aumento do tempo de armazenamento (Fig.10). O aumento do pH pode estar associado com a formação de compostos nitrogenados como aminoácidos, amins e/ou amônia, oriundos da proteólise que ocorre com o tempo.

A variação de pH também está relacionada à degradação da lactose residual presente no queijo. Como os queijos foram fabricados sem adição de fermento láctico e o leite e o retentado foram tratados termicamente inibindo o desenvolvimento de microrganismos contaminantes, os valores de pH não decresceram com o tempo de armazenamento refrigerado. Esse resultado está de acordo com os baixos índices de profundidade de proteólise encontrados, que também estão relacionados ao desenvolvimento de microrganismos no queijo.

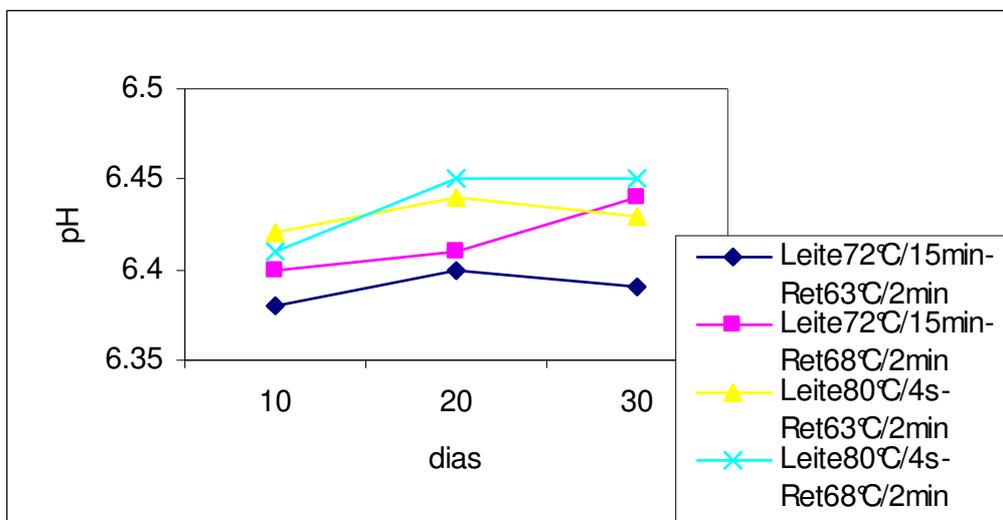


Fig. 7. Evolução do pH durante a proteólise dos queijos Minas frescal *light* fabricados por ultrafiltração com o tempo de armazenamento refrigerado.

Tabela 12. Graus de liberdade, quadrados médios e probabilidades para a evolução do pH durante a proteólise

Fonte	G.L.	Q.M.	p
Tratamento térmico do leite	1	0.00977901	0.0048
Tratamento térmico do retentado	1	0.00169012	0.0196
Tratamento térmico do leite*Tratamento térmico do retentado	1	0.00065309	0.0790
Tempo	2	0.00110216	0.0003
Tempo*Tratamento térmico do leite	2	0.00002809	0.7163
Tempo*Tratamento térmico do retentado	2	0.00005957	0.4998

GL = graus de liberdade; QM = quadrado médio; P = probabilidade

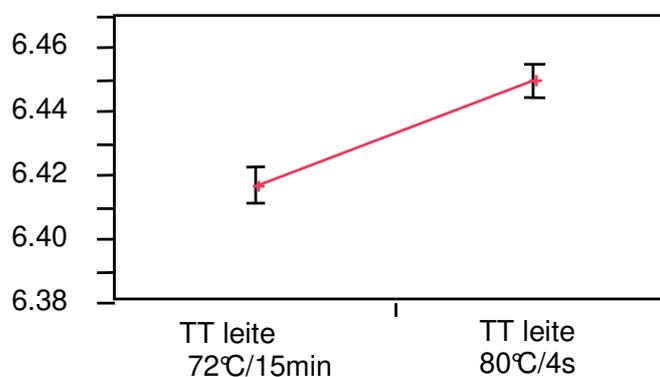


Fig. 8. Efeito do tratamento térmico do leite na evolução do pH durante a proteólise dos queijos Minas frescal *light* fabricados por ultrafiltração.

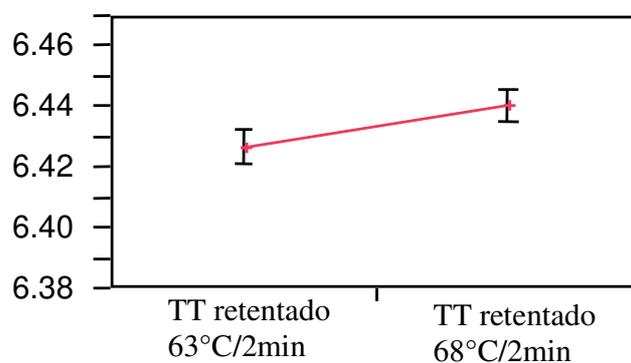


Fig. 9. Efeito do tratamento térmico dos retentados na evolução do pH durante a proteólise dos queijos Minas frescal *light* fabricados por ultrafiltração

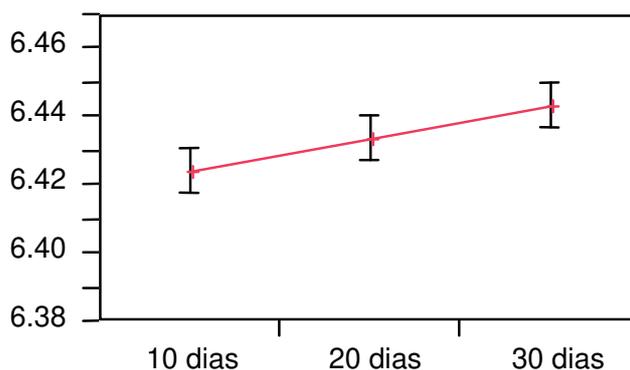


Fig. 10. Efeito do tempo na evolução do pH durante a proteólise de todos os queijos Minas frescal *light* fabricados por ultrafiltração.

6.6 Capacidade de retenção de água (CRA)

Os tratamentos térmicos do leite e do retentado influenciaram a capacidade de retenção de água dos queijos. Os tratamentos térmicos promoveram a desnaturação das soroproteínas, que se complexaram com a caseína, resultando em uma baixa contração da rede de paracaseinato, que aumentou a capacidade de retenção de água do coágulo (SINGH & WAUNGANA, 2001). As Figuras 11, 12 e 13 mostram que o tratamento térmico do leite e do retentado resultaram em mudanças na capacidade de retenção de água, provavelmente em função dos diferentes níveis de proteínas do soro desnaturadas incorporados aos queijos submetidos aos diferentes históricos de tratamentos térmicos. Os queijos fabricados com leite tratado a 80°C/4s apresentaram maior capacidade de retenção de água, o que pode ser explicado pela maior desnaturação de proteínas do soro durante o tratamento térmico mais intenso. Esse fato é confirmado quando se observa que o queijo que apresentou a maior capacidade de retenção de água foi fabricado a partir do retentado com o histórico de tratamento térmico mais intenso (leite tratado a 80°C/4s e retentado tratado a 68°C/2min).

Além disso, como pode ser observado na figura 11, também houve mudança da capacidade de retenção de água durante o tempo de armazenamento refrigerado do queijo. Todos os queijos apresentaram um leve aumento da capacidade de retenção de água por

volta do vigésimo dia de armazenamento refrigerado. Isso indica que a proteólise ocorrida com o tempo resultou em mudanças na capacidade de retenção de água dos queijos.

Os valores de CRA no decorrer do tempo de armazenamento refrigerado são mostrados na Figura 11.

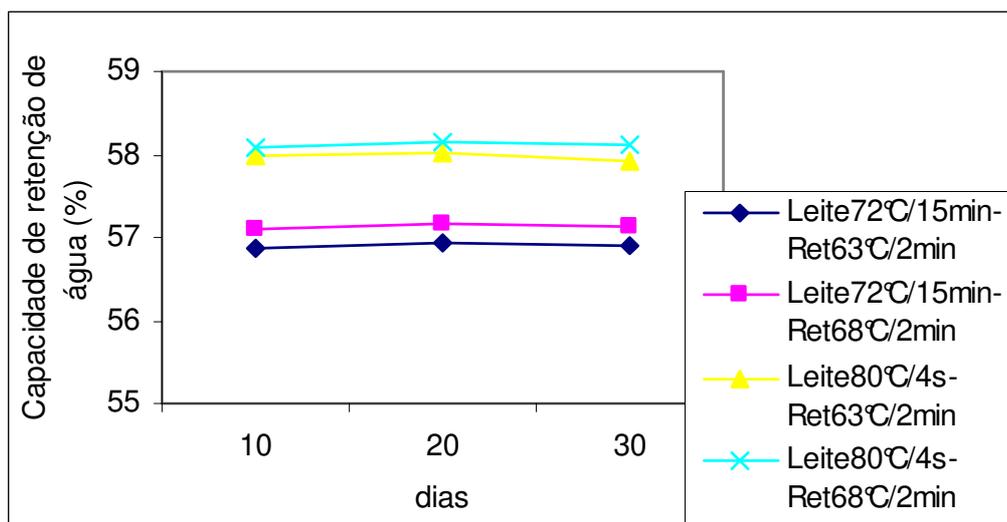


Fig. 11. Efeito do tratamento térmico do leite e dos retentados na Capacidade de Retenção de Água dos queijos Minas frescal *light* fabricados por ultrafiltração

A Tabela 13 apresenta o teste de F-ANOVA para Capacidade de Retenção de Água.

Tabela 13. Graus de liberdade, quadrados médios e probabilidades para Capacidade de Retenção de Água dos queijos Minas frescal *light* fabricados por ultrafiltração

Fonte	G.L	Q.M.	p
Tratamento térmico do leite	1	10.21512623	<.0001
Tratamento térmico do retentado	1	0.23630401	0.0023
Tratamento térmico do leite*Tratamento térmico do retentado	1	0.02167438	0.1051
Tempo	2	0.02047068	0.0053
Tempo*Tratamento térmico do leite	2	0.00962253	0.0581
Tempo*Tratamento térmico do retentado	2	0.00070031	0.7864

GL = graus de liberdade; QM = quadrado médio; P = probabilidade

As figuras 12 e 13 mostram as representações gráficas das diferenças de CRA encontradas para os tratamentos térmicos aplicados ao leite e aos retentados.

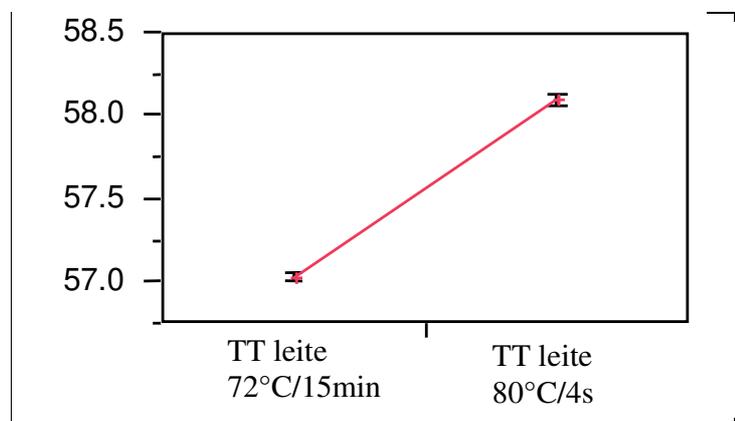


Fig. 12. Efeito do tratamento térmico do leite na capacidade de retenção de água das amostras

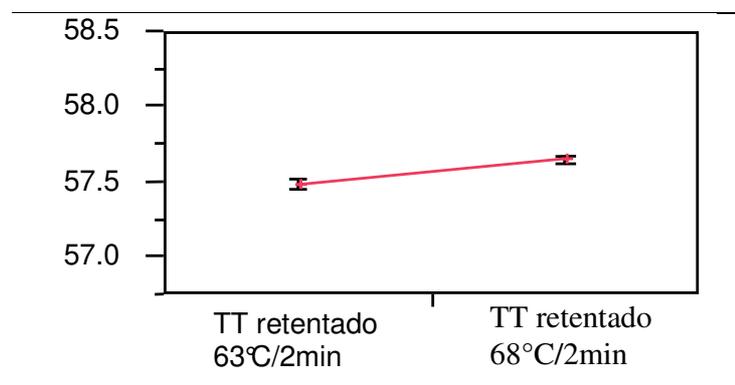


Fig. 13. Efeito do tratamento térmico dos retentados na capacidade de retenção de água das amostras.

6.7 Textura e reologia

A Figura 14 mostra os resultados da análise de perfil de textura (TPA) dos queijos analisados. Os atributos avaliados foram: dureza, adesividade, coesividade, mastigabilidade e elasticidade TPA.

Os tratamentos térmicos testados não afetaram significativamente o parâmetro adesividade dos queijos. A adesividade foi afetada apenas pelo tempo de armazenamento refrigerado, sendo que esse parâmetro apresentou queda acentuada para os queijos fabricados a partir do leite tratado a 72°C/15min (Fig 14 E). Para os queijos fabricados a partir do leite tratado a 80°C/4s esse parâmetro manteve-se praticamente inalterado.

O tratamento térmico mais intenso do leite resultou em queijos mais moles ($p=0,0019$) e com menor mastigabilidade ($p=0,0019$). O tratamento térmico dos retentados também influenciou esses parâmetros, sendo que os queijos obtidos do retentado tratado a 68°C/2min foram mais moles ($p=0,0138$) e com menor mastigabilidade ($p=0,320$). Esses parâmetros são relacionados, uma vez que quanto mais duro um produto, maior será sua mastigabilidade. A textura significativamente mais mole pode ser explicada pela maior desnaturação de soroproteínas que ocorre no tratamento térmico mais intenso. Quanto maior a desnaturação das proteínas do soro, maior a capacidade de retenção de água do gel, que torna a matriz proteica mais macia. Steffl (1999) encontrou um decréscimo contínuo da firmeza do gel quando os teores de β -lactoglobulina desnaturadas aumentaram. Os resultados obtidos nesse experimento estão de acordo com os de Steffl, como pode ser observado na figura 14 (A).

O tratamento térmico do leite a 80°C/4s resultou em queijos significativamente mais coesos ($p=0,0097$) e mais elásticos ($p=0,0019$). Os parâmetros elasticidade (D) e coesividade (C) estão relacionados, uma vez que quanto mais elástico for o queijo, maior será sua resistência à ruptura e, portanto, sua coesividade. Geralmente, queijos com baixo teor de gordura são mais elásticos devido à maior interação protéica de sua matriz. Embora o aumento da capacidade de retenção de água torne o queijo mais mole, seu efeito sobre a elasticidade não está claro (GUNASEKARAN & AK, 2002). Neste estudo, houve um leve

aumento da elasticidade com o aumento da capacidade de retenção de água, embora outros autores tenham encontrado resultados contrários.

Com exceção da coesividade, todos os parâmetros foram afetados significativamente pelo tempo de armazenamento refrigerado. Os parâmetros dureza e elasticidade apresentaram tendência de diminuição para todos os queijos. Esses resultados estão de acordo com os valores encontrados para a evolução da extensão de proteólise, que está relacionada com a proteólise primária dos queijos. Durante a proteólise o coagulante residual promove a hidrólise da caseína e o conseqüente enfraquecimento da rede protéica. Como resultado o queijo tende a ficar mais mole e menos elástico. Durante a proteólise secundária, enzimas provenientes da cultura lática ou da flora contaminante são responsáveis pela continuação do processo (PRENTICE *et al.*, 1993; FOX *et al.*, 1998). Entretanto, como pode ser observado na figura 14, essas alterações foram muito pequenas, sendo praticamente inexistentes.

Tabela 14. Graus de liberdade, quadrados médios e probabilidades para Adesividade TPA

Fonte	G.L	Q.M.	p
Tratamento térmico do leite	1	0.84763	0.1077
Tratamento térmico do retentado	1	0.0904	0.4816
Tratamento térmico do leite*Tratamento térmico do retentado	1	0.00022	0.9725
Tempo	2	2.34226	0.0002
Tempo*Tratamento térmico do leite	2	1.27225	0.0039
Tempo*Tratamento térmico do retentado	2	0.02352	0.8759

GL = graus de liberdade; QM = quadrado médio; P = probabilidade

Tabela 15. Graus de liberdade, quadrados médios e probabilidades para Dureza e Mastigabilidade TPA

Parâmetro	Fator	G.L	Q.M.	p
Dureza	Tratamento térmico do leite	1	12.3576	0.0019
	Tratamento térmico do retentado	1	1.1852	0.0138
	Tratamento térmico do leite*Tratamento térmico do retentado	1	0.27528	0.0557
	Tempo	2	2.77389	<.0001
	Tempo*Tratamento térmico do leite	2	2.44897	<.0001
	Tempo*Tratamento térmico do retentado	2	0.32019	0.0201
Mastigabilidade	Tratamento térmico do leite	1	0.01262	0.0019
	Tratamento térmico do retentado	1	0.00039	0.0320
	Tratamento térmico do leite*Tratamento térmico do retentado	1	1.11e-7	0.9694
	Tempo	2	0.00237	<.0001
	Tempo*Tratamento térmico do leite	2	0.00102	0.0001
	Tempo*Tratamento térmico do retentado	0.00061	2	0.0021

GL = graus de liberdade; QM = quadrado médio; P = probabilidade

Tabela 16. Graus de liberdade, quadrados médios e probabilidades para Coesividade e Elasticidade TPA

Parâmetro	Fator	G.L	Q.M.	p
Coesividade	Tratamento térmico do leite	0.00543	1	0.0097
	Tratamento térmico do retentado	1e-6	1	0.8997
	Tratamento térmico do leite*Tratamento térmico do retentado	0.00005	1	0.3819
	Tempo	6.18e-5	2	0.3827
	Tempo*Tratamento térmico do leite	2.18e-5	2	0.7059
	Tempo*Tratamento térmico do retentado	0.00012	2	0.1631
Elasticidade	Tratamento térmico do leite	0.01262	1	0.0019
	Tratamento térmico do retentado	0.00039	1	0.0320
	Tratamento térmico do leite*Tratamento térmico do retentado	1.11e-7	1	0.9694
	Tempo	0.00237	2	<.0001
	Tempo*Tratamento térmico do leite	0.00102	2	0.0001
	Tempo*Tratamento térmico do retentado	0.00061	2	0.0021

GL = graus de liberdade; QM = quadrado médio; P = probabilidade.

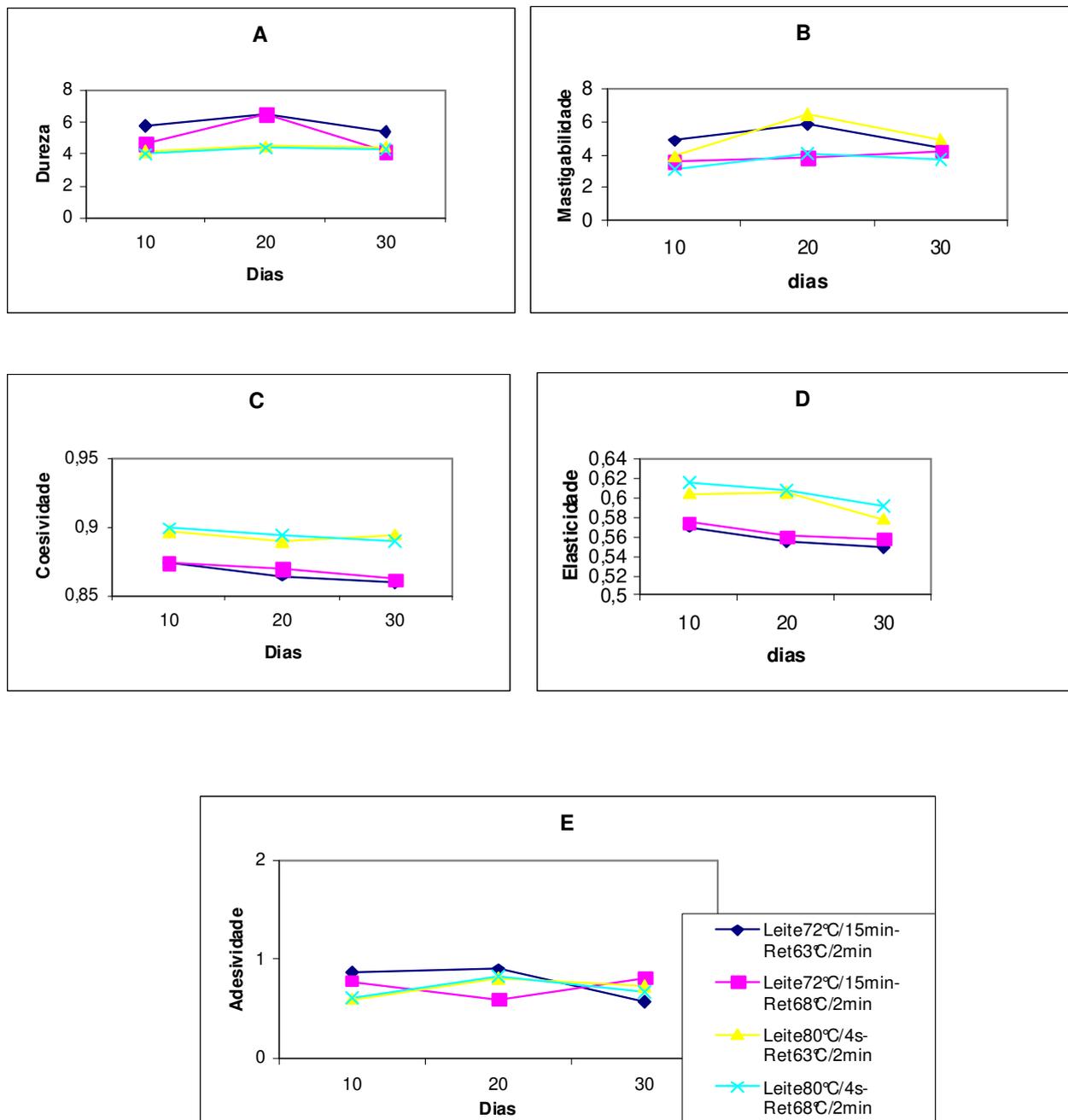


Fig. 14 Gráficos obtidos para os parâmetros de dureza(A), mastigabilidade(B), coesividade(C), elasticidade(D) e adesividade (E) na avaliação do perfil de textura das amostras de queijo

6.8 Creep

A figura 15 mostra a evolução do parâmetro compliância instantânea (J_0) ao longo do tempo de armazenamento refrigerado.

O modelo generalizado de Kelvin apresentou boa correlação com as curvas obtidas ($R^2 > 0,90$). As curvas foram ajustadas por regressão não-linear, utilizando o programa Statistica®, sendo obtidos os parâmetros compliância instantânea (J_0), compliância do elemento de Kelvin com maior tempo de retardação (J_1), viscosidade (η) e tempo de retardação (τ_1). O parâmetro τ_1 não foi afetado pelos tratamentos térmicos do leite e retentado e pelo tempo de estocagem dos queijos.

Os queijos fabricados com leite tratado a $80^\circ\text{C}/4\text{s}$ apresentaram compliância instantânea (J_0) levemente maiores que os demais, ou seja, são menos elásticos que os queijos fabricados com leite tratado a $72^\circ\text{C}/15\text{min}$. O tratamento do retentado a $68^\circ\text{C}/2\text{min}$ resultou em queijos com valores de J_0 significativamente maiores, indicando que esses queijos, por apresentarem maior quantidade de proteínas do soro desnaturadas e, portanto, uma matriz protéica mais frágil, apresentaram menor elasticidade. O parâmetro J_0 foi afetado pelo tempo de armazenamento refrigerado para todos os queijos produzidos. Entretanto, apenas o queijo fabricado com retentado tratado a 63°C obtido do leite tratado a $72^\circ\text{C}/15\text{min}$ apresentou aumento da compliância instantânea (J_0), indicando que sua elasticidade diminuiu com o passar do tempo. A perda de elasticidade está relacionada à proteólise mais intensa sofrida por esse queijo.

A compliância instantânea está relacionada com rede protéica intacta. Quanto menor o valor de J_0 , mais duro/firme é o queijo. Assim, os queijos fabricados com leite tratado a $80^\circ\text{C}/4\text{s}$ apresentaram maiores valores de J_0 , sendo portanto mais moles.

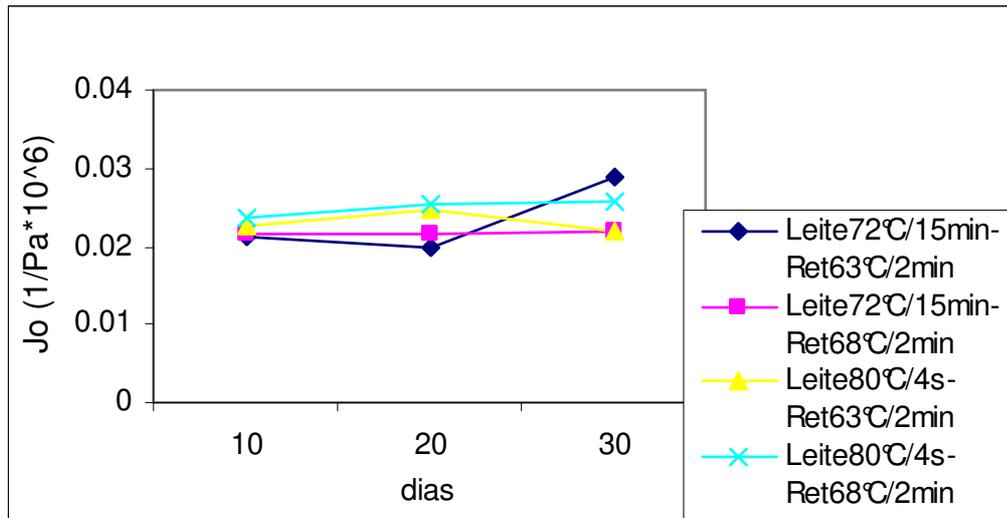


Fig 15. Evolução da compliância instantânea (J_0) em função do tempo de armazenamento refrigerado para os queijos Minas frescal *light* fabricados por ultrafiltração

Tabela 17. Graus de liberdade, quadrados médios e probabilidades para compliância instantânea (J_0)

Fator	Q.M.	G.L	p
Tratamento térmico do leite	0.00001878	1	0.1369
Tratamento térmico do retentado	0.00012100	1	0.0001
Tratamento térmico do leite*Tratamento térmico do retentado	0.00004011	1	0.0011
Tempo	0.00002878	2	0.0048
Tempo*Tratamento térmico do leite	0.00002678	2	0.0063
Tempo*Tratamento térmico do retentado	0.00001300	2	0.0601

GL = graus de liberdade; QM = quadrado médio; P = probabilidade

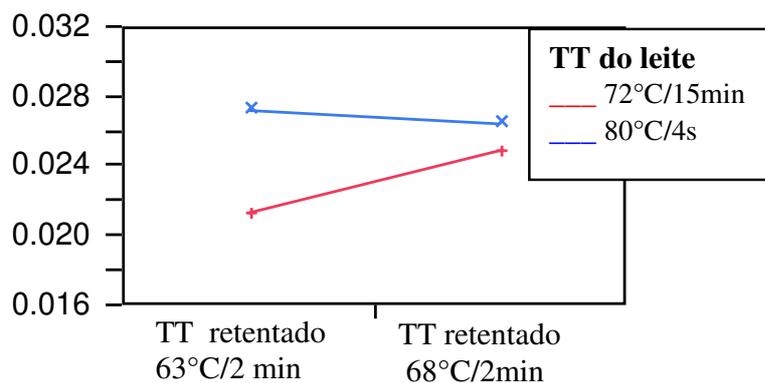


Fig. 16. Efeito da interação do tratamento térmico do leite com o tratamento térmico do retentado na compliância instantânea dos queijos Minas frescal *light* fabricados por ultrafiltração.

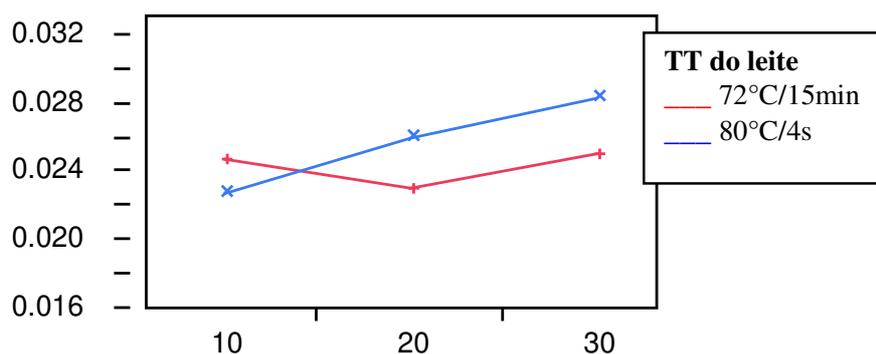


Fig. 17. Efeitos do tratamento térmico do leite e do tempo na evolução do parâmetro J_0 dos queijos Minas frescal *light* fabricados por ultrafiltração

O parâmetro J_1 não foi afetado significativamente por nenhum dos tratamentos testados, sendo influenciado apenas pelo tempo de armazenamento refrigerado. O tempo também apresentou interação com o tratamento térmico do leite e do retentado, sendo que para o leite tratado a 80°C/4s e para o retentado tratado a 68°C/2min, esse parâmetro aumentou.

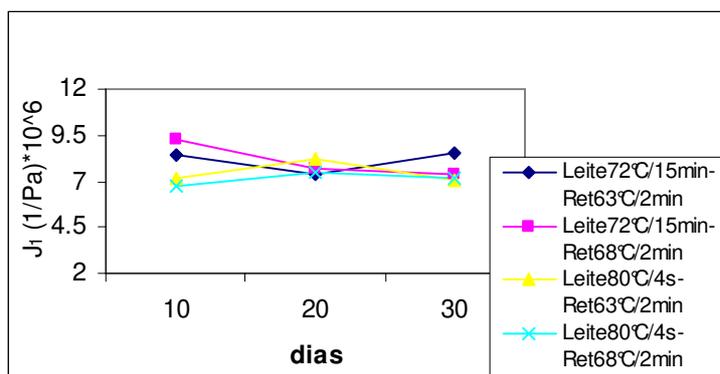


Fig 18. Compliância do elemento de Kelvin com maior tempo de retardação (J_1) em função do tempo de armazenamento refrigerado para os queijos Minas frescal *light* fabricados por ultrafiltração

Tabela 18. Graus de liberdade, quadrados médios e probabilidades para compliância do elemento de Kelvin com maior tempo de retardação (J_1).

Fator	Q.M.	G.L	p
Tratamento térmico do leite	0.25100100	1	0.1565
Tratamento térmico do retentado	0.01116544	1	0.8209
Tratamento térmico do leite*Tratamento térmico do retentado	1.01673611	1	0.0824
Tempo	1.71449811	2	0.0079
Tempo*Tratamento térmico do leite	1.86421233	2	0.0058
Tempo*Tratamento térmico do retentado	1.76586211	2	0.0071

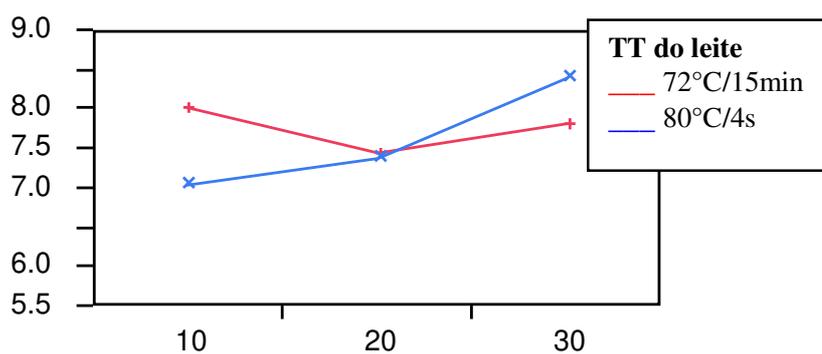


Fig. 19. Efeitos do tratamento térmico do leite e do tempo na evolução do parâmetro J_1 dos queijos Minas frescal *light* fabricados por ultrafiltração.

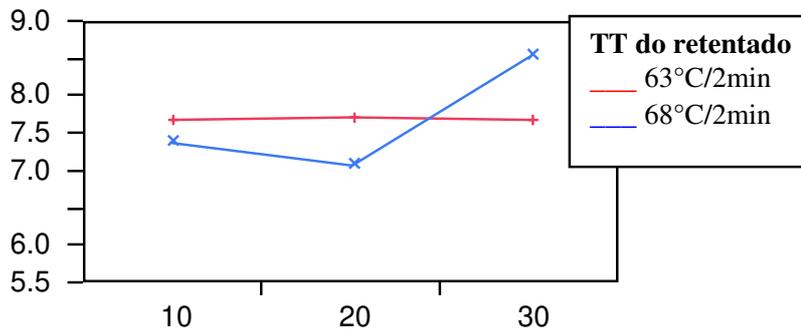


Fig. 20. Efeitos do tratamento térmico dos retentados e do tempo na evolução do parâmetro J_1 dos queijos Minas frescal *light* fabricados por ultrafiltração.

A figura 21 mostra a evolução da viscosidade (η) ao longo do tempo de armazenamento refrigerado.

A viscosidade é uma medida da resistência do corpo à deformação quando este é submetido a uma certa tensão. Assim, quanto maior a viscosidade, maior a tensão necessária para deformar o material. Segundo Fox et al. (1998), a maciez é definida como baixa resistência à deformação. Dessa forma, a viscosidade pode ser vista como uma medida da maciez ou da firmeza do queijo. Os tratamentos térmicos do leite e dos retentados não influenciaram a viscosidade dos queijos. Entretanto, houve interação do tempo com o tratamento térmico do leite e dos retentados. Os queijos fabricados com leite tratado a 72°C/15 min e com retentados tratados a 63°C/2min, apresentaram um aumento da viscosidade por volta do vigésimo dia de armazenamento refrigerado.

O aumento da dureza dos queijos que sofreram tratamento térmico mais brando pode estar relacionado com o fato desses queijos terem sofrido proteólise mais intensa. Segundo O'Mahony et al (2005), quando uma ligação peptídica é quebrada, dá origem a dois novos grupos iônicos ($\text{NH}_3^+ / \text{COO}^-$). Acredita-se que essas espécies iônicas competem pela água disponível, reduzindo o conteúdo de água livre e restringindo a solvatação da matriz caseica do queijo resultando em aumento da dureza e da elasticidade durante o tempo de estocagem. Essa teoria está de acordo com os resultados obtidos nesse trabalho,

como pode ser visto nas figuras 22 e 23. A posterior queda da dureza também pode ser explicada pelo aumento dos índices de proteólise ao final da vida de prateleira dos queijos, como pode ser visto nas figuras 1 e 4.

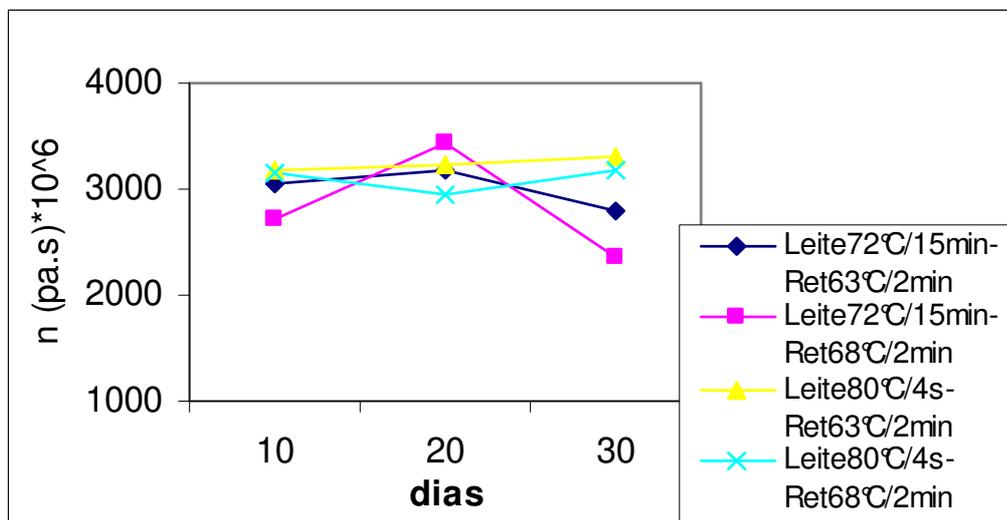


Fig 21. Evolução da viscosidade newtoniana (η) com o tempo de armazenamento refrigerado para os queijos Minas frescal *light* fabricados por ultrafiltração

Tabela 19. Graus de liberdade, quadrados médios e probabilidades para viscosidade newtoniana (η)

Fator	Q.M.	G.L	p
TT leite_plot	488009556.4	1	0.1004
TT Retent_split	561840283.9	1	0.0846
TT Retent_split*TT leite_plot	585489630.9	1	0.0803
Tempo_split_split	537366310	2	0.0537
Tempo_split_split*TT leite_plot	580199075	2	0.0441
Tempo_split_split*TT Retent_split	574128053	2	0.0454

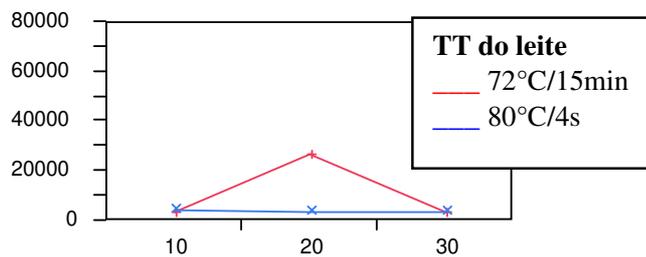


Fig. 22. Efeito da interação do tempo com o tratamento térmico do leite no parâmetro η das amostras

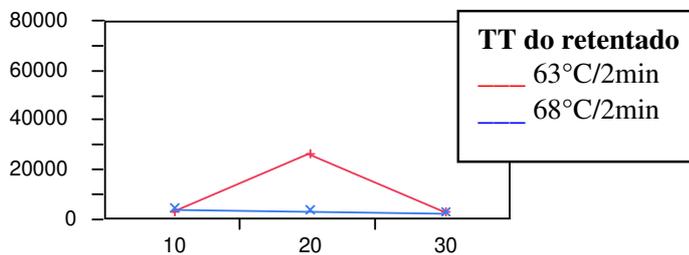


Fig. 23. Efeito da interação do tempo com o tratamento térmico do retentado no parâmetro η das amostras.

6.9 Análise Sensorial

O teste de aceitação foi aplicado a 50 provadores não treinados no décimo dia de armazenamento refrigerado. As amostras não diferiram significativamente entre si em nenhum dos atributos avaliados. Entretanto, pode-se observar que com relação à impressão global, o queijo fabricado com o retentado tratado a 63°C/2min obtido do leite tratado a 80°C/4s apresenta média superior aos demais, indicando uma tendência dos provadores a preferirem essa amostra. Em relação ao parâmetro textura os provadores não conseguiram notar diferença entre as amostras, diferentemente da análise instrumental (TPA), que demonstrou que o tratamento térmico mais intenso do leite e do retentado resultou em queijos mais moles (Fig.15).

A Tabela 20 mostra as notas dadas aos diferentes atributos avaliados pelos provadores não treinados.

A figura 24 mostra a intenção de compra dos queijos. Como se pode observar, a maioria dos provadores atribuiu nota 4 (*provavelmente compraria*) aos queijos fabricados com retentado tratado a 63°C/2min obtidos do leite tratado a 80°C/4s e aos queijos fabricados com retentado tratado a 63°C/2min obtidos do leite tratado a 72°C/15min.

Tabela 20. Médias de aceitação atribuídas pelos provadores para as amostras de queijos Minas UF produzidos a partir de leite e retentado tratado termicamente. (n= 50 provadores)

Atributo	Queijo			
	TT leite 72°C/15min		TT leite 80°C/4s	
	TT retentado 63°C/2min	TT retentado 68°C/2min	TT retentado 63°C/2min	TT retentado 68°C/2min
Aparência	7,48 ^a	7,34 ^a	7,62 ^a	7,68 ^a
Sabor	6,74 ^a	6,32 ^a	6,86 ^a	6,58 ^a
Textura	6,36 ^a	6,40 ^a	6,36 ^a	6,4 ^a
Impressão global	6,5 ^a	6,46 ^a	6,8 ^a	6,78 ^a
Intenção de compra	3,54 ^a	3,42 ^a	3,85 ^a	3,9 ^a

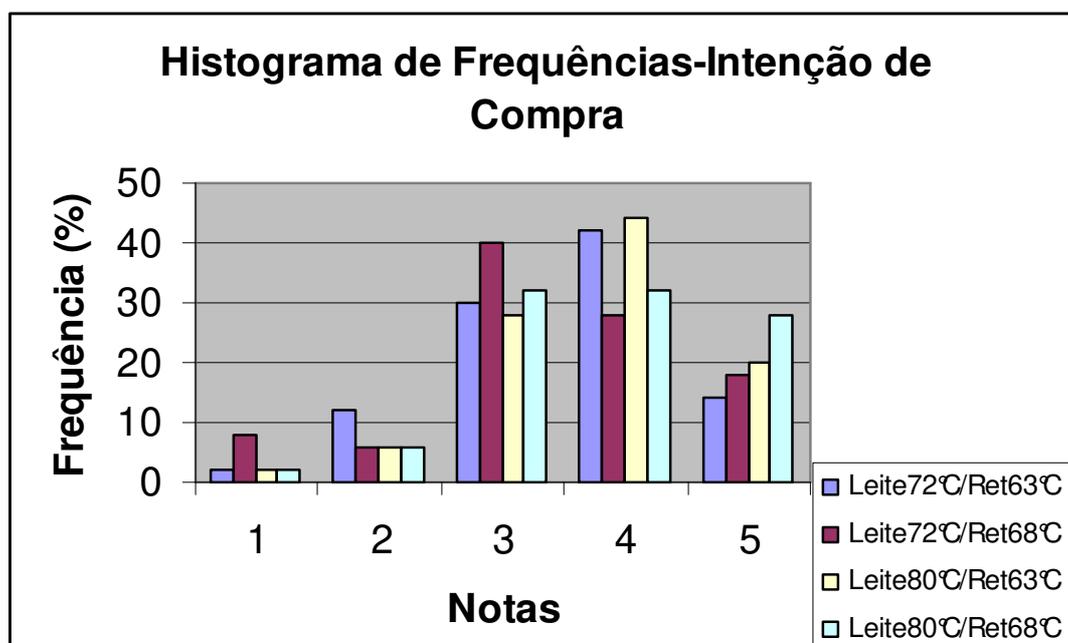


Fig 24. Histograma de Frequências de Intenção de compra.

6.10 Microestrutura

As figuras 25 a 28 mostram as micrografias dos queijos.

Como esperado para queijos fabricados por ultrafiltração, com acidificação direta, os queijos apresentaram uma estrutura protéica mais grosseira que os queijos fabricados pelo método tradicional.

O tratamento térmico do leite afetou a microestrutura dos queijos. A estrutura dos queijos obtidos do leite tratado a 80°C/4s foi mais compacta e densa que a dos queijos obtidos do leite tratado a 72°C/15min. A microestrutura dos queijos com baixo teor de gordura é diferente de um queijo tradicional devido à menor quantidade de gordura na matriz protéica, o que a torna mais compacta (MADALOU *et al.*, 2005). Esse fato está de acordo com os dados obtidos para o parâmetro coesividade da Análise de Perfil de Textura.

A microestrutura dos queijos com baixo teor de gordura é claramente diferente de um queijo tradicional, pois quando o número de glóbulos de gordura diminui, a matriz caseína torna-se mais compacta. Isso provavelmente explica a textura mais dura observada em queijos com reduzido teor de gordura, mesmo considerando-se que esses queijos apresentem teores de umidade significativamente maiores (BRYANT *et al.*, 1995).

As relações entre a microestrutura da rede caseína e as propriedades reológicas dos géis tem sido consideradas muito importante. Wium *et al.* (2003) citado em Bryant (1995) encontrou relações entre a estrutura mais grosseira da rede de caseína com o aumento da elasticidade de queijos fabricados por ultrafiltração. Na produção de queijos por ultrafiltração, o tempo de coagulação do leite e formação do gel é muito mais rápido e, portanto as propriedades de coagulação e a microestrutura são muito diferentes quando comparadas aos queijos feitos com leite não concentrado. (KARLSSON *et al.*, 2007).

O sistema protéico do leite desnatado é reorganizado em uma estrutura mais compacta pela ultrafiltração, e essa estrutura reorganizada torna-se mais forte quanto maior o fator de concentração alcançado ou quando o retentado é tratado termicamente, como foi o nosso caso. Erdem (2005) também encontrou que a compactação da estrutura do queijo UF também aumentou com o aumento do tratamento térmico. Isso sugere que a contribuição das proteínas do soro desnaturadas na estrutura da rede protéica foi importante.

Outros trabalhos (ERDEM, 2006; YUKSEL & ERDEM, 2005) também encontraram indicações que o tamanho das micelas de caseína diminuiu devido a rearranjos via ligações hidrofóbicas que tornaram a estrutura da micela mais compacta durante a ultrafiltração. Essa nova estrutura tornou-se mais forte quando o fator de concentração foi aumentado ou quando o retentado foi tratado termicamente. A compactação da estrutura da micela foi maior a temperaturas mais altas.

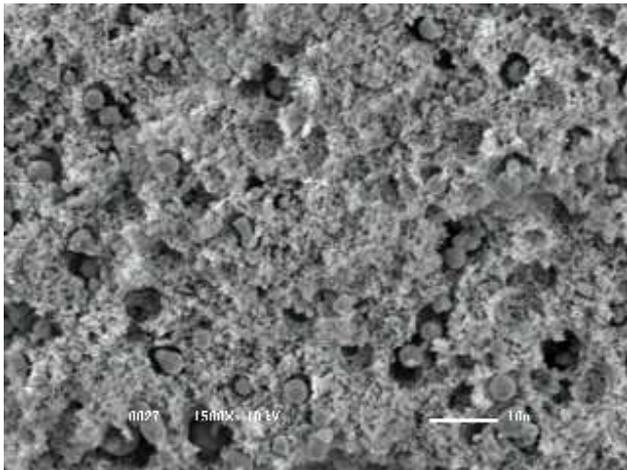


Fig25. Microestrutura do queijo fabricado com retentado tratado a 63°C/2min obtido do leite tratado a 72°C/15min

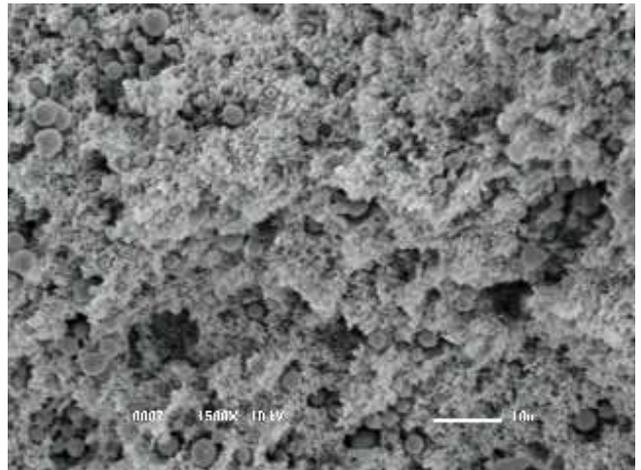


Fig26. Microestrutura do queijo fabricado com retentado tratado a 68°C/2min obtido do leite tratado a 72°C/15min

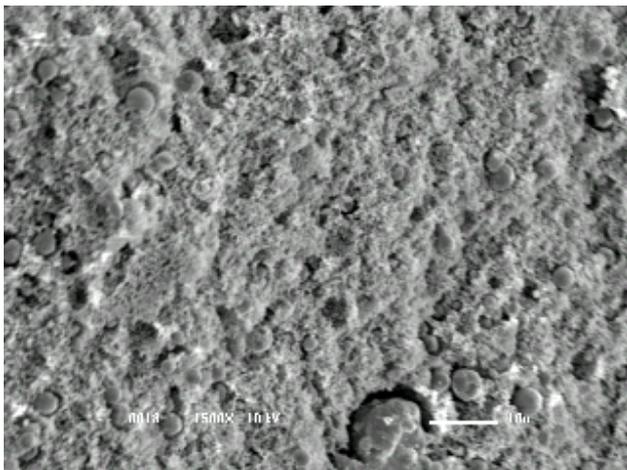


Fig27. Microestrutura do queijo fabricado com retentado tratado a 63°C/2min obtido do leite tratado a 80°C/4s

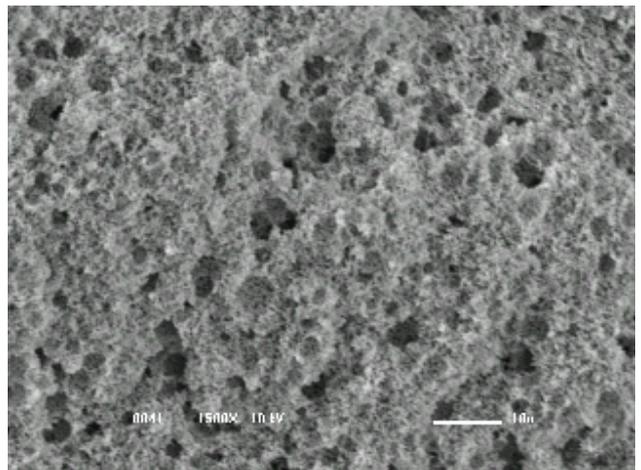


Fig28. Microestrutura do queijo fabricado com retentado tratado a 68°C/2min obtido do leite tratado a 80°C/4s

6.11 Eletroforese

As proteínas do soro foram determinadas através de SDS-Page. As figuras a seguir mostram os eletroforetogramas das amostras de leite e retentados.

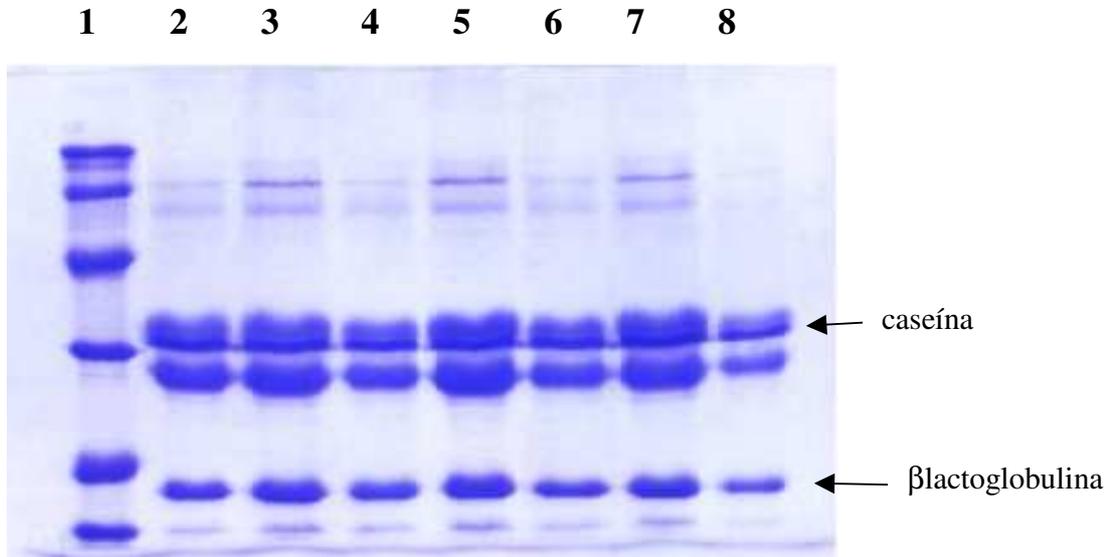


Figura 39. Eletroforetograma dos leites e retentados em meio redutor (com mercaptoetanol). Banda 1: padrão. Banda 2: leite tratado a 72°C/15min-retentado tratado a 68°C/2min. Banda 3: leite tratado a 72°C/15min-retentado tratado a 63°C/2min. Banda 4: leite tratado a 72°C/15min. Banda 5:leite tratado a 80°C/4s-retentado tratado a 68°C/2min. Banda 6:leite tratado a 80°C/4s-retentado tratado a 63°C/2min. Banda 7:leite tratado a 80°C/4s. Banda 8:leite cru.

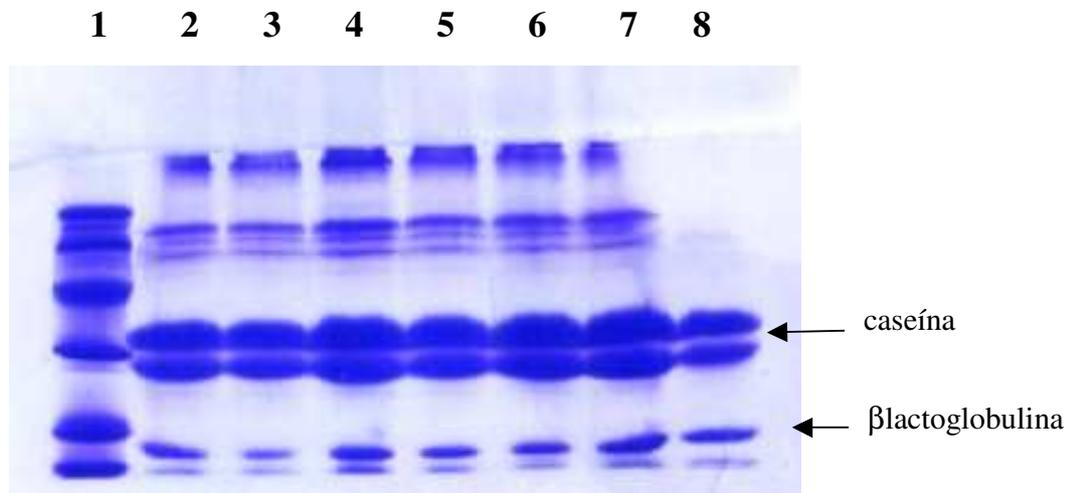


Figura 30. Eletroforetograma dos leites e retentados em meio redutor (sem mercapto etanol). Banda 1: padrão. Banda 2: leite tratado a 72°C/15min-retentado tratado a 68°C/2min. Banda 3: leite tratado a 72°C/15min-retentado tratado a 63°C/2min. Banda 4: leite tratado a 72°C/15min. Banda 5:leite tratado a 80°C/4s-retentado tratado a 68°C/2min. Banda 6:leite tratado a 80°C/4s-retentado tratado a 63°C/2min. Banda 7:leite tratado a 80°C/4s. Banda 8:leite cru.

O primeiro eletroforetograma mostra as amostras em ambiente redutor (com mercaptoetanol) e o segundo, em ambiente não redutor (sem mercaptoetanol). Observando-se as duas situações nota-se que a banda correspondente à β -lactoglobulina diminuiu sensivelmente no eletroforetograma em ambiente não redutor, indicando que a β -lactoglobulina realmente se complexou com a kapa caseína durante os tratamentos térmicos aplicados.

7. CONCLUSÕES

Os tratamentos térmicos testados influenciaram o tempo de coagulação dos retentados, sendo que quanto maior a carga térmica aplicada ao leite e ao retentado, maior o tempo de coagulação. Não houve diferença significativa no rendimento de fabricação nem no rendimento ajustado dos queijos para nenhum tratamento testado.

Os tratamentos térmicos testados praticamente não afetaram a composição dos queijos. Apenas o teor de caseína apresentou diferença significativa em função do tratamento térmico aplicado ao retentado, sendo que quanto mais intenso o tratamento térmico, maior o teor de caseína.

Houve interação entre o tratamento térmico do leite e do retentado para a extensão de proteólise. Assim, os queijos que tiveram um histórico de tratamento térmico mais intenso apresentaram índices de extensão de proteólise menores que os que sofreram tratamento térmico mais brando. O tratamento térmico mais intenso do leite e do retentado também resultou em índices de profundidade de proteólise significativamente mais baixos, o que está relacionado com uma maior inativação de microrganismos e enzimas. Tanto a extensão quanto a profundidade de proteólise foram afetadas pelo tempo, sendo que houve um aumento significativo desses índices para todos os queijos fabricados.

A capacidade de retenção de água foi maior quanto maior a carga térmica aplicada ao leite, provavelmente em função da maior quantidade de proteínas do soro desnaturadas incorporadas ao queijo.

A análise de Perfil de Textura (TPA) demonstrou que os queijos obtidos do leite tratado a 80 °C/4 s são menos duros e levemente mais elásticos e coesos que os obtidos do leite tratado a 72°C/15 min. De acordo com teste de Creep, o tratamento térmico mais intenso do retentado resultou em queijos significativamente mais moles.

A microestrutura dos queijos também mostra uma matriz protéica mais densa e compacta para os queijos produzidos a partir do leite tratado a 80 °C/4 s.

Sensorialmente os queijos não diferiram entre si em nenhum dos atributos avaliados.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANEMA, S.G.; LEE, S.K.; KLOSTERMEYER, H. Effect of pH at heat treatment on the hydrolysis of κ -casein and the gelation of skim milk by chymosin. **LWT** 40 p. 99-106, 2007.

ÄRDO, Y. Flavour and Texture in Low-fat cheese. In: LAW, B.L. (ed.) **Microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk**. London: Blackie Academic & Professional, 1997. Cap.6, p.207-218.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC International**. 16^a Ed., Washington, 1995.

BANKS, J.M. The technology of low-fat cheese manufacture. **International Journal of Dairy Technology**, vol. 57, n. 4, p. 199-207, 2004.

BARBANO, D.M.; LYNCH, J.M.; FLEMING, J.R. Direct and indirect of true protein content of milk by Kjeldahl analysis: collaborative study. **Journal of Association of Official Analytical Chemists**, vol.74, p.281, 1991.

BENFELD, C. Ultrafiltration of cheese milk: effect on plasmin activity and proteolysis during cheese ripening. **International Dairy Journal**, vol.16, p. 600-608, 2006.

BLAKESLEY, R.W.; BOEZI, J.A. A new staining technique for proteins in polyacrylamide gels using brilliant blue G250. **Analytical Biochemistry**, San Diego, vol.82, p.580-582, 1977.

BRANDSMA, R.L.; RIZVI, S.S.H. Depletion of whey proteins and calcium by microfiltration of acidified skim milk prior to cheese making. **Journal of Dairy Science**, 82, p.2063-2069, 1999.

BRYANT, A.; USTUNOL, Z.; STEEF, J. Texture of Cheddar cheese as influenced by fat reduction. **Journal of Food Science**, vol.60, p.1216-1236, 1995.

CAMPOS, A.C. **Efeito do uso combinado de ácido láctico com diferentes proporções de fermento ácido mesofílico no rendimento, proteólise, qualidade microbiológica e propriedades mecânicas do queijo Minas Frescal**. Campinas, 2000. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

CARVALHO, J.D.G; VIOTTO, W.H.; KUAYE, A.Y. The quality of Minas Frescal cheese produced by different technological process. **Food Control**, 2005, Article in press

CHERYAN, M. **Ultrafiltration handbook**. Lancaster: Technomic Publ. Co., 375p., 1986.

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.** Campinas, 2002. 114p. Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

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.

DIPOA – DEPARTAMENTO DE INSPEÇÃO DE ALIMENTOS DE ORIGEM ANIMAL **Regulamento Técnico Mercosul de Identidade e Qualidade de Queijo Minas Frescal.** Disponível em: www.agricultura.gov.br Acesso em: 20 nov. 2005.

DRAKE, M.A. & SWANSON, B.G. Reduced- and low-fat cheese technology: a review. **Trends in Food Science & Technology**, vol.6, p.366-369, 1995.

EMMONS, D.B.; KALAB, M.; LARMON, E., LOWRIE, R.J. Milk gel structure X Texture and microstructure in Cheddar cheese made from whole milk and homogenized low fat milk. **Journal Texture Studies**, v.18, p.389-404, 1980.

ERDEM, Y.K., Modification of casein micelle structure caused by ultrafiltration and heat treatment: a spectrofluorimetric and kinetic approach. **Jornal of Food Engineering**, vol.74, p. 536-541, 2006.

ERDEM, Y.K. Effect of ultrafiltration, fat reduction and salting on textural properties of white brined cheese. **Journal of Food Engineering** n.71, p.366–372, 2005.

FIFE, R.L.; McMAHON, D.J.; OBERG, C.J. Functionality of low fat mozzarella cheese. **Journal of Dairy Science**, v.79, p.1903-1910, 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, 1998a. 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, 1998b. 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, 1998c. Cap.13, p.305-340.

FURTADO, M.M.; LOURENÇO NETO, J.P.M. Queijo Minas Frescal. In: **Tecnologia de Queijos.** 1º Edição. 1994. p. 73-75.

FURTADO, M.M. A fabricação de queijos no Brasil. **Informativo do laticinista**, n.38, p.24-41, 1992.

FURTADO, M.M. Defeitos específicos de algumas variedades de queijo. In: **A arte e a ciência do queijo**. 2º edição. São Paulo: Globo, 1990. Cap.9, p. 239-279.

FURTADO, M.M.; SOUZA, H.M.; MUNCK, A.V. A fabricação do queijo Minas Frescal sem o emprego de culturas lácticas. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. vol. 35, n.207, p.15-21, 1980.

GRANDISON, A.S.; GLOVER, F.A. Membrane processing of milk. In: ROBINSON, R.K. (Ed.) **Modern dairy technology: advances in milk processing**. 2º edição, London: Chapman & Hall, 1994, vol. 1, cap. 6, p. 273-312.

GUINEE, T.P. *et. al.* The effect of fat content on the rheology, microstructure, and heat-induced characteristics of Cheddar cheese. **International Dairy Journal**, vol.10, p.277-288, 2000.

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**, v.6, p.581-596, 1996.

GUNASEKARAN, S.; AK, M.M. **Cheese Reology and Texture**. USA: CRC Press, 2002, cap. 7, p. 1-31.

GUO, M.R.; KINDSTEDT, P. Age-related changes in the water phase of mozzarella cheese. **Journal of Dairy Science**, v.78, p.2099-2107, 1995.

HINRICHS, J. Incorporation of whey proteins in cheese. **International Dairy Journal**, n.11, p.495-503, 2001.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do IAL**. São Paulo: D.B. Rebocho, 1985

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Determination of the total solids content of cheese and processed cheese. **IDF-FIL**, n.88, p.1-3, 1979.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Determination of the total nitrogen content of milk by the Kjeldahl method. **IDF-FIL**, n.20, p.1-3, 1962.

JELLEN, P. Physico-chemical properties of milk and whey in membrane processing. **Journal of Dairy Science**, vol.62, p.1343-1351, 1979.

KARLSSON, A.O, IPSEN, R. & ARDO, Y. Influence of pH and NaCl on rheological properties of rennet-induced casein gels made from UF concentrated skim milk. **International Dairy Journal** vol.17, p. 1053-1062, 2007.

KOSIKOWSKI, F. New cheese making procedures utilizing ultrafiltration. **Food Technologist**, vol. 40, n.6, p.71-77, 1986.

KOSIKOWSKI, F.; MISTRY, V.V. **Cheese and fermented milk foods**. 3^o edição, Westport: AVI, 728p., 1997.

KÜÇÜKÖNER, E.; HAQUE, Z.U. Physico-chemical and rheological properties of full fat and low fat edam cheeses. **Europe Food Research Technology**, 217:281–286, 2003.

LELIÉVRE, J.; LAWRENCE, R. C. Manufacture of cheese from milk concentrated by ultrafiltration. *Journal of Dairy Research*, v.55, p.465-478, 1988.

LEITE EM NÚMEROS. **Estatísticas do leite**. Disponível em : www.embrapa.br. Acesso em: 20 nov. 2007.

LO, C.G.; BASTIAN, E.D. Incorporation of native and denatured whey proteins into cheese curd for manufacture of reduced fat, Havarti-type Cheese. **Journal of Dairy Science**, 81, p.16-24, 1998.

LUCEY, J.A. Formation and physical properties of milk protein gels. **Journal of Dairy Science**, 85 p. 281-294, 2002.

MA, L. *et al.* Rheology of full-fat and low-fat Cheddar cheeses as related to type of fat mimetic. **Journal of Food Science**, vol.62, n.4, p. 748-752, 1997.

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.

MARSHALL, R.J. Increasing cheese yields by high heat treatment of milk. **Journal of Dairy Research**, v. 53, p.313-322, 1986.

McGREGOR, J.U.; WHITE, C.H. Optimizing ultrafiltration parameters for the development of a low-fat Cheddar Cheese. **Journal of Dairy Science**, 73, p. 314-318, 1990.

MERRIL, R.K.; OBERG, C.J.; McMAHON, D.J. A method for manufacturing reduced fat mozzarella cheese. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.1783-1789, 1994.

METZGER, L.E.; MISTRY, V.V. A new approach using homogenization of cream in the manufacture of reduced-fat Cheddar cheese. 1. Manufacture, composition and yield. **Journal of Dairy Science**, vol.77, p. 3506-3516, 1994.

MISTRY, V.V. Low fat cheese technology. **International Dairy Journal**, vol.11, p.413-422, 2001.

MISTRY, V.V; ANDERSON, D.L. Composition and microstructure of commercial full-fat and low-fat cheeses. **Food Structure**, v.12, p. 259-266, 1993.

MORTENSEN, H. MD Foods do Brasil – A threshold to South América. **Scandinavian Dairy Information**, vol.6, n.2, p.26-27, 1992.

MOTTAR, J.; BASSIER, A.; JONIAU, M. & BAERT, J. Effect of Heat-Induced Association of Whey Proteins and Casein Micelles on Yogurt Texture. **Journal of dairy Science**. v. 72, p. 2247-2256. 1989.

O'MAHONY, J.A.; LUCEY, J.A.; MCSENE, P.L.H. Chymosin-Mediated proteolysis, calcium solubilization, and texture development during the ripening of Cheddar cheese. **Journal of Dairy Science**, 88, p. 3101-3114, 2005.

PAULSON, D.; WILSON, R.L.; SPATZ, D.D. Crossflow membrane technology and its applications. **Food Technology**, Chicago, vol.38, n.12, p.77-87, 1984.

PETRUS, J.J.C. **Preparação, modificação e caracterização de membranas assimétricas para a clarificação de sucos de frutas**. Campinas, 1997. 139p. Tese (Doutor em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

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.

RAVAL, D.M.; MISTRY, V.V. Application of ultrafiltered sweet buttermilk in the manufacture of reduced fat process cheese. **Journal of dairy Science**, 82, p.2334-2343, 1999.

RENNER, E.; ABD EL-SALAM, M.H. **Application of ultrafiltration in the dairy industry**. London and New York: Elsevier Applied Science, 1991.

RODRÍGUEZ, J. *et al.* Effect of Different Membrane Separation Technologies (Ultrafiltration and Microfiltration) on the Texture and Microstructure of Semihard Low-Fat Cheeses. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** n. 47, p.558-565, 1999.

RODRÍGUEZ, J.; REQUENA, T.; JUAREZ, M. Process for low-fat cheese from ultrafiltered milk. **Journal of Food Science** vol. 63, n.4, p.665-667, 1998.

SCHREIBER, R. Heat-induced modifications in casein dispersions affecting their rennetability. **International Dairy Journal**, 11, p.553-558, 2001.

SINGH, H.; WAUNGANA, A. Influence on heat treatment of milk on cheesemaking properties. **International Dairy Journal**, 11, p.543-551, 2001.

TAMIME, A. G. *et al.* The effect of processing temperatures on the quality of labneh made by ultrafiltration. **Journal of the Society of Dairy Technology**. 44 (4): p. 99-103, 1991.

VAN DENDER, A.G.F. **Contribuição ao estudo de ultrafiltração na fabricação de queijo Minas Frescal**. Campinas, 1995. Tese (Doutor em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

VAN DENDER, A.G.F.; MORENO, I. Estudos de processos alternativos para fabricação de queijo Minas Frescal. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. vol. 47, n.279/281, p. 76-77, 1992.

VASBINDER, A. J.; de KRUIF, C. G. Casein-whey protein interactions in heated milk: the influence of pH. **International Dairy Journal**, vol. 13, p. 669-677, 2003.

VIOTTO, L.A. **Fracionamento das proteínas do leite utilizando membranas cerâmicas de micro e ultrafiltração**. Campinas, 1997. 142p. Tese (Doutor em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

WALSTRA, P.; JENNESS, R. **Dairy chemistry and physics**. New York: John Wiley, 1984. 423 p.

WAUNGANNA, A. *et al.* Rennet coagulation properties of skim milk concentrated by ultrafiltration: effects of heat treatment and pH adjustment. **Food Research International**, vol.31, n.9, p. 645-651, 1998.

WAUNGANNA, 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**, v.29, n.8, p.715-721, 1996.

WOLFSCHOON-POMBO, A.F.; FURTADO, M.M.; MUNCK, A.V. Estudo da fabricação de queijo Minas Frescal com ácido láctico em substituição ao fermento láctico. **Anais do V Congresso Nacional de Laticínios**. EPAMIG-ILCT, p. 160-182, 1978.

ZALAZAR, C.A. *et al.* Effect of moisture level and fat replacer on physicochemical, rheological and sensory properties of low fat soft cheeses. **International Dairy Journal**, vol.12, 45-50, 2002.

ANEXO I – Ficha de Avaliação Sensorial

Nome: _____ Data: ___/___/___

Você está recebendo cinco amostras de **queijo Minas Frescal *light***. Por favor, avalie as amostras da esquerda para a direita e indique, utilizando a escala abaixo, o quanto você gostou ou desgostou de cada amostra em relação à **APARÊNCIA**.

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

Amostra

Nota

Comentários: _____

Prove as amostras da esquerda para a direita e indique, utilizando a mesma escala, o quanto você gostou ou desgostou do **SABOR** de cada amostra.

Amostra	Nota
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____

Comentários: _____

Prove novamente as amostras da esquerda para a direita e indique, utilizando a mesma escala, o quanto você gostou ou desgostou da **TEXTURA** de cada amostra.

Amostra	Nota
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____

Comentários: _____

Prove novamente as amostras da esquerda para a direita e indique, o quanto você gostou ou desgostou de cada amostra **DE UM MODO GERAL**.

Amostra

Nota

_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____

Comentários: _____

Se estes queijos estivessem **À VENDA**, você:

5 – certamente compraria

4 – provavelmente compraria

3 – talvez comprasse / talvez não comprasse

2 – provavelmente não compraria

1 – certamente não compraria

Amostra

Nota

_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____

Comentários: _____

ANEXO II

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PESQUISA COM SERES HUMANOS

PROJETO DE MESTRADO:

Efeito do Tratamento Térmico na qualidade de queijo Minas Frescal *Light* fabricado por Ultrafiltração

RSPONSÁVEL PELA PESQUISA: **Mariana Kikuchi**

JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS: A combinação da ultrafiltração com o tratamento térmico pode resultar em diversas vantagens para a produção de queijo Minas Frescal com reduzido teor de gordura, tais como: aumento do rendimento de fabricação e da vida útil do produto, menores alterações durante a estocagem e melhor qualidade microbiológica. Além disso, a combinação desses processos pode aumentar a qualidade sensorial dos queijos com reduzido teor de gordura. O objetivo deste estudo é avaliar o efeito de diferentes níveis de tratamento térmico, aplicados ao leite e ao retentado, na composição, rendimento, textura e reologia, capacidade de retenção de água, proteólise, microestrutura e aceitação sensorial de queijo Minas Frescal com reduzido teor de gordura.

PROCEDIMENTO: Os queijos Minas Frescal *light* serão submetidos a um teste de aceitação sensorial, aplicado a 50 consumidores não-treinados. Os queijos serão servidos em pedaços pequenos e avaliados pelo provador com relação a aparência, sabor, textura e impressão global. O provador deverá experimentar os queijos e responder ao questionário que será entregue juntamente com a amostra.

O provador terá, durante a execução do projeto, toda a liberdade para questionamento de qualquer dúvida e esclarecimento sobre a pesquisa a ser realizada, bem como poderá deixar de participar a qualquer tempo, sem prejuízos. A equipe deixa claro ao provador que não haverá qualquer risco com a sua participação na pesquisa, a menos que o provador tenha alergia a algum dos ingredientes do requeijão cremoso e/ou seu análogo, o que deverá ser informado previamente à equipe responsável pela pesquisa. Além disso, a equipe assegura que os dados de identidade fornecidos são sigilosos.

Membros da Equipe:

MARIANA KIKUCHI

WALKIRIA HANADA VIOTTO

FONE: (19) 3788.4007

FONE: (19) 3788.3899

Comitê de Ética em Pesquisa em caso de reclamações: - (19) 3788-8936

Data ___/___/___

Assinatura do responsável pela pesquisa: _____

Assinatura do provador: _____

RG: _____

ANEXO III

Questionário de recrutamento de provadores

Questionário de Recrutamento de Provadores	
1. Nome:	_____
2. Idade:	_____
3. Sexo:	<input type="checkbox"/> feminino <input type="checkbox"/> masculino
4. Você costuma consumir requeijão cremoso e/ou especialidade láctea?	<input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não
5. Com que frequência você costuma consumir queijo tipo Minas Frescal <i>light</i> ?	<input type="checkbox"/> todos os dias <input type="checkbox"/> uma vez por semana <input type="checkbox"/> a cada quinze dias <input type="checkbox"/> uma vez por mês <input type="checkbox"/> menos de vez por mês
6. Quais os fatores que determinam sua escolha na hora de comprar Minas Frescal <i>light</i> ? Enumere as opções em ordem de importância, sendo 1 o fator mais importante.	<input type="checkbox"/> preço <input type="checkbox"/> marca <input type="checkbox"/> sabor <input type="checkbox"/> textura <input type="checkbox"/> valor calórico <input type="checkbox"/> outro. Qual? _____
9. Você é alérgico a algum tipo de alimento?	<input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não
10. Se você respondeu sim à pergunta anterior, qual(is)?	_____