



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José do Rio Preto

Íris Martins Diamantino

Efeito de substitutos de gordura na qualidade de queijo Prato com
reduzido teor de gordura

São José do Rio Preto

2011

Íris Martins Diamantino

Efeito de substitutos de gordura na qualidade de queijo Prato com
reduzido teor de gordura

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, área de Ciência e Tecnologia de Alimento junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Prof^a. Dr^a. Ana Lúcia Barretto Penna
Orientadora

São José do Rio Preto
2011

Diamantino, Íris Martins.

Efeito de substitutos de gordura na qualidade de queijo Prato com reduzido teor de gordura / Íris Martins Diamantino. - São José do Rio Preto : [s.n.], 2011.

68 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Ana Lúcia Barretto Penna
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Tecnologia de alimentos. 2. Queijo prato – Teor de gordura. 3. Queijo prato - Qualidade. I. Penna, Ana Lúcia Barretto. II. Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. III. Título.

CDU – 637.33

Íris Martins Diamantino

Efeito de substitutos de gordura na qualidade de queijo Prato com
reduzido teor de gordura

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, área de Ciência e Tecnologia de Alimento junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Banca examinadora

Prof.^a Dr.^a Ana Lúcia Barretto Penna
Professor Adjunto
UNESP – São José do Rio Preto
Orientadora

Prof.^a Dr.^a Elisa Helena Giglio Ponsano
Professor Adjunto
UNESP - Araçatuba

Prof.^a Dr.^a Célia Maria Landi Franco
Professor Adjunto
UNESP – São José do Rio Preto

São José do Rio Preto
Março/2011

Agradecimentos

À Profa. Dra. Ana Lúcia Barretto Penna pela orientação nesses dois anos de muito aprendizado.

Às meninas do laboratório, Aline, Grazi, Michele, Janaína, Tati e Sabrina, pela amizade, as orientações e o companheirismo incondicional. Cada uma delas, a sua maneira, contribuiu para a realização desta pesquisa e tornaram o ambiente de trabalho mais agradável.

À Nina e à Vicky pelo auxílio na realização das análises e no processamento dos queijos.

A todas as pessoas que auxiliaram na fabricação dos queijos, me acompanhando de dia ou de madrugada.

Aos técnicos dos laboratórios do DETA: Ginaldo, José Jesuíno, Luiz, Newton e Tânia, e ao Luiz Roberto, do Centro de Microscopia Eletrônica, pelos diversos auxílios, tirando dúvidas e resolvendo os problemas técnicos, contribuindo muito na realização desta pesquisa.

A todos os professores e alunos do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos pelo incentivo e apoio.

À Natália e outras faxineiras do laboratório que contribuíram por proporcionarem um ambiente limpo e agradável para a realização desta pesquisa.

À CAPES e à FAPESP pela concessão da bolsa de estudos.

Às Professoras Doutoras Mirna Gigante, Célia Maria Landi Franco e Elisa Helena Giglio Ponsano, pelas sugestões para a redação final desta dissertação.

Aos meus pais, Hélio e Elisete, pela minha vida, pelos bons exemplos, pelas orientações, e pelos ensinamentos, sempre com muito amor, carinho, e o apoio em todas as minhas decisões. Agradeço também todos os esforços que fizeram para a minha formação e todas as torcidas.

Aos meus irmãos Clarice, Felipe, Lucas e Cecília pela amizade, conselhos sinceros, apoio e companheirismo.

Ao Junior, pela dedicação, pelo amor, carinho e companheirismo. Nos momentos de stress também agradeço a paciência e a compreensão.

À toda minha família, tios, tias, primos, primas, avós e avôs, que de longe ou de perto, sempre torceram pela minha felicidade e sucesso.

Agradeço a todas as pessoas que, direta ou indiretamente, participaram da realização desse trabalho e também aquelas que participaram da minha formação como pessoa e como mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

RESUMO

O queijo Prato é caracterizado como gordo e de média umidade, sendo o segundo mais consumido no país. Contudo, a associação da ingestão de gorduras com o desenvolvimento de doenças coronarianas e carcinogênicas tem incentivado a procura por alimentos menos calóricos e que, ao mesmo tempo, sejam tão agradáveis ao paladar quanto às versões integrais. Algumas melhorias tecnológicas foram desenvolvidas para promover bons aspectos físicos e sensoriais para queijos com baixo teor de gordura, incluindo o uso de substitutos de gordura. Nesta pesquisa, foram incorporados ao queijo Prato dois diferentes substitutos de gordura, aplicados simultaneamente, a fim de avaliar o efeito sobre a qualidade tecnológica desse queijo. Foram feitos dois processamentos dos queijos conforme 3 tratamentos: um controle, fabricado com leite integral e dois fabricados com leite padronizado a 1,5% de gordura: um queijo Prato *light* e outro queijo Prato *light* modificado, adicionado dos substitutos de gordura concentrado protéico de soro (CPS) e colágeno hidrolisado, nas concentrações de 1,0 e 0,5%, respectivamente. Durante o processo de maturação foram realizadas análises físico-químicas para a caracterização dos produtos, avaliação da proteólise, do derretimento e da textura. Os resultados obtidos para o conteúdo de gordura permitiram que os queijos fossem classificados como produtos *light*, por apresentarem redução maior que 25%, em relação ao conteúdo médio de gordura do queijo Prato integral. A adição dos substitutos promoveu aumento do teor de umidade e, conseqüentemente, do rendimento dos queijos. O comportamento da glicólise e da proteólise durante a maturação do queijo Prato *light* modificado foi próximo ao observado para o queijo Prato integral. Entretanto, não houve uma relação entre a adição dos substitutos de gordura e aumento da capacidade de derretimento e melhoria da textura do queijo Prato com baixo teor de gordura. Assim, outros estudos são necessários para compreender melhor o efeito do concentrado protéico de soro e do colágeno hidrolisado na qualidade dos produtos, a fim de avaliar seu potencial para a produção do queijo Prato com reduzido teor de gordura com características semelhantes aos queijos integrais.

Palavras chave: queijo Prato *light*, alimentos com reduzido teor de gordura, concentrado protéico de soro, colágeno hidrolisado, proteólise.

ABSTRACT

Prato cheese is characterized as fatty and with medium moisture, it is very appreciated by consumers, being the second most consumed in the country. However, the association of fat intake with the development of coronary heart disease and cancers has prompted the search for food with fewer calories, but, at the same time, it must be as pleasing to taste as the full fat counterparts. Some alternatives were developed to improve physical and sensory characteristics in cheeses with reduced fat, including the use of fat substitutes. In this research, two different types of substitutes were incorporated into Prato cheese, to evaluate the effect on the technological quality of this cheese. The cheeses were prepared according to three treatments: a control, made with full fat milk and two made from standardized milk, a Prato *light* cheese and another Prato *light* cheese with added fat replacers: whey protein concentrate (WPC) and hydrolyzed collagen, respectively at a concentration of 1.0 and 0.5%, and repeated twice. During the ripening, the cheeses were submitted to analyses of the evaluation of proteolysis, melting and texture. The results obtained for the fat content allow the cheeses to be classified as *light* products, because they presented more than 25% of reduction, compared with the average fat content of a full fat Prato cheese. The addition of substitutes promoted an increase in moisture content and, consequently, in the yield of cheese; there was no influence on the acidity and proteolysis development. On the other hand, there was no relationship between the addition of fat substitutes and increasing the melting capacity and improving the texture of the Prato light cheese. Thus, further studies are needed to better understand the effect of whey protein concentrate and hydrolyzed collagen in the quality of these products, in order to assess their potential for production of Prato light cheeses with similar characteristics to full fat cheese.

Keywords: Prato *light* cheese, low fat food, whey protein concentrate, hydrolyzed collagen, proteolysis.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	1
2. OBJETIVOS	3
2.1. Gerais.....	3
2.2. Específicos	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1. Queijos.....	4
3.2. Maturação do queijo Prato.....	7
3.3. Funções da gordura nos queijos	10
3.4. Mercado de queijos com reduzido teor de gordura	13
3.5. Tecnologias para a melhoria de queijos com reduzido teor de gordura.....	14
3.5.1. Técnicas de processamento.....	14
3.5.2. Culturas adjuntas e enzimas	16
3.5.3. Substitutos de gordura	18
3.5.3.1. Proteínas do soro como substituto de gordura.....	20
3.5.3.2. Colágeno hidrolisado como substituto de gordura	23
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
4.1. Caracterização do leite pasteurizado	26
4.2. Planejamento dos ensaios experimentais	26
4.3. Fabricação dos queijos.....	27
4.4. Caracterização físico-química dos queijos integral, <i>light</i> e modificado	29
4.5. Caracterização do rendimento dos queijos integral, <i>light</i> e modificado.....	31
4.6. Caracterização do perfil de textura dos queijos integral, <i>light</i> e modificado	31
4.7. Capacidade de derretimento dos queijos integral, <i>light</i> e modificado.....	32
4.8. Caracterização do perfil eletroforético em gel de poliacrilamida (Urea – PAGE).....	32
4.9. Análise estatística dos resultados experimentais	33
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5.1. Caracterização do leite pasteurizado	34
5.2. Análises físico-químicas dos queijos.....	35
5.2.1. Composição centesimal	35
5.2.2. Acidez.....	39
5.2.3. Proteólise	41

5.2.3.1 Relação entre NS pH 4,6 e nitrogênio total.....	41
5.2.3.2. Relação entre NS TCA 12% e nitrogênio total	43
5.3. Rendimento	45
5.4. Capacidade de derretimento.....	46
5.5. Caracterização do perfil de textura.....	48
5.5.1. Dureza.....	48
5.5.2. Elasticidade	49
5.5.3. Coesividade.....	50
5.6. Caracterização do perfil eletroforético	51
5.7. Considerações finais.....	52
6. CONCLUSÕES	54
7. REFERÊNCIAS.....	55

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O queijo Prato é de grande popularidade no país e é fabricado em todas as regiões brasileiras, sendo o segundo mais consumido. É o único queijo tipicamente brasileiro que sofre maturação, apresentando textura macia e sabor suave, resultado das reações bioquímicas que ocorrem durante este período.

O consumo de produtos lácteos é incentivado principalmente devido à presença de cálcio e de proteínas, essenciais ao desenvolvimento físico e manutenção da saúde. No caso dos queijos, devido à sua composição, há, paralelamente, um consumo significativo de gordura.

A gordura desempenha funções importantes nos alimentos, contribuindo para o sabor, aroma, suculência, maciez e cremosidade. Contudo, a ingestão de altas quantidades de gordura está associada ao desenvolvimento de doenças coronarianas, à obesidade e a alguns tipos de câncer. Neste contexto, há um incentivo para que as pessoas tenham uma alimentação mais saudável, resultando na necessidade de produção de alimentos com reduzido teor calórico, incluindo os queijos.

O queijo com reduzido teor de gordura geralmente apresenta características indesejáveis de sabor e textura, principalmente quando comparado ao queijo tradicional. Os defeitos de textura mais comuns são o aumento da dureza e da elasticidade, enquanto que os problemas de sabor compreendem a baixa intensidade, redução do aroma, presença de adstringência e amargor.

Várias alternativas têm sido apresentadas para melhorar a qualidade dos queijos com reduzido teor de gordura. As principais estratégias utilizadas são modificações tecnológicas do processo de fabricação, uso de culturas adjuntas, uso de enzimas e uso de substitutos de gordura.

Estudos avaliaram algumas alternativas de melhoria em queijo Prato com reduzido teor de gordura, tais como o uso de culturas adjuntas, uso de enzimas e uso de substitutos de gordura. No entanto, estudos mais detalhados ainda são escassos.

Os substitutos de gordura desempenham importantes funções tecnológicas na indústria alimentícia, com resultados satisfatórios na produção de alimentos de baixa caloria. Os substitutos podem ser compostos de proteínas, carboidratos e lipídios, ou de sua combinação.

O concentrado protéico de soro (CPS) e o colágeno hidrolisado são exemplos de substitutos de gordura de caráter protéico. O CPS é obtido do soro de leite, sendo capaz de reter umidade e promover sensação de cremosidade, semelhante à proporcionada pela gordura, além de atuar como emulsificante. O colágeno hidrolisado tem origem na proteína animal e apresenta capacidade emulsificante, texturizante e estabilizante. As características funcionais de ambos os substitutos são coerentes com as necessidades de melhoria em queijo com reduzido teor de gordura. Esses substitutos de gordura podem auxiliar na melhoria da qualidade do queijo Prato com reduzido teor de gordura, possibilitando que esse produto apresente características físicas e sensoriais semelhantes às versões integrais.

2. OBJETIVOS

2.1. Gerais

Este trabalho teve por objetivo estudar o efeito do uso de substitutos de gordura sobre a qualidade do queijo Prato com reduzido teor de gordura.

2.2. Específicos

- Analisar o efeito do uso de concentrado protéico de soro (CPS) e colágeno hidrolisado na composição centesimal e no rendimento dos queijos;
- Avaliar o efeito do uso de concentrado protéico de soro (CPS) e colágeno hidrolisado na maturação do queijo Prato, pela avaliação da glicólise e da proteólise desenvolvida (índices da maturação e frações protéicas), da capacidade de derretimento e do perfil de textura.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Queijos

Dentre os produtos lácteos, o grupo dos queijos é o mais diversificado. Enquanto muitos produtos lácteos são biológica, bioquímica e quimicamente estáveis, nos queijos ocorre justamente o oposto, sendo esses produtos caracterizados como instáveis. Durante a produção e a maturação do queijo estão envolvidos diversos eventos bioquímicos consecutivos e concomitantes, que, quando ocorrem em sincronia e de maneira balanceada, dão origem a produtos com sabor, aroma e textura desejáveis (FOX et al., 1993).

A produção da massa do queijo é, essencialmente, um processo de concentração, no qual a gordura e a caseína do leite são concentradas pela ação ácida ou do coalho, sendo que as proteínas do soro, a lactose e os sais solúveis são removidos com o soro. Uma vez formada a massa, esta pode sofrer acidificação adicional, aquecimento e salga, procedimentos usados para reduzir a umidade e preservar os sólidos do leite. As modificações desse processo básico ocorreram acidentalmente ou por necessidade, através de séculos de produção de queijo, originando uma ampla variedade existente hoje no mundo (FOX, 1993; FOX; McSWEENEY, 1998; BANKS, 1998).

Os diversos tipos de queijo disponíveis no mercado podem ser classificados em três grandes superfamílias, baseado no método de coagulação do leite. Dessa maneira a primeira superfamília utiliza a coagulação enzimática (representando 75% do total da produção), a segunda aplica coagulação ácida e a terceira emprega processos que utilizam uma combinação de aquecimento com a coagulação ácida (representando o menor grupo) (FOX; McSWEENEY, 1998).

Os queijos produzidos por coagulação ácida e os produzidos por coagulação ácida e aquecimento são normalmente consumidos frescos, mas a maioria dos queijos produzidos por coagulação enzimática são consumidos depois de maturados, por períodos que variam de 3 semanas a mais de 2 anos. Durante este processo de maturação, ocorrem muitas mudanças microbiológicas, bioquímicas e químicas, que resultam em características específicas de sabor, aroma e textura (FOX; McSWEENEY, 1998).

O queijo Prato tem origem nos queijos Dambo dinamarquês e Gouda holandês e foi introduzido na década de 20, na região sul de Minas Gerais, por imigrantes dinamarqueses. No Brasil, a tecnologia de fabricação do queijo Prato foi adaptada às condições locais, o que explica as diferenças de textura e sabor em relação aos queijos que lhe deram origem (FURTADO; LOURENÇO NETO, 1994).

Segundo o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de queijo Prato, a definição desse produto é a de um queijo maturado que se obtém por coagulação do leite por meio do coalho e/ou outras enzimas coagulante apropriadas, complementada ou não pela ação de bactérias lácticas específicas. O queijo Prato apresenta 26 a 29% de gordura e 42 a 44% de umidade, sendo classificado como gordo e de média umidade, além disso, apresenta pH de 5,2-5,4 e 1,6-1,9% de sal. O rendimento do queijo Prato situa-se ao redor de 9,5 litros de leite/Kg de queijo. No processo de elaboração do queijo Prato, são características específicas a obtenção de uma massa semi-cozida, que sofre remoção parcial do soro, é salgada, geralmente em salmoura, e maturada por no mínimo 25 dias (FURTADO; LOURENÇO NETO, 1994; BRASIL, 1997).

Segundo o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de queijo Prato, de acordo o formato desse queijo outras denominações também podem ser utilizadas, como queijo Prato lanche (na forma de paralelepípedo de seção transversal retangular), queijo Prato cobocó (na forma cilíndrica) e queijo Prato Esférico ou Bola (na forma esférica). O peso pode variar de 0,4 a 5 Kg de acordo com a variedade correspondente (BRASIL, 1997).

Atualmente o queijo Prato é o segundo mais consumido no país, como queijo de mesa ou ingrediente culinário, e nos últimos anos tem apresentado um crescimento na fabricação. A produção em toneladas foi de 79.000 em 1998, passando por 97.600 em 2002 e 141.000 em 2009 (ABIQ, 2009)¹.

O queijo Prato é fabricado com leite pasteurizado, podendo esse processo ser lento (63°C por 30 minutos) ou rápido (72 – 75 °C por 15-20 segundos). A composição do leite, principalmente o teor de gordura, é importante para a produção de queijos padronizados e de qualidade. Na fabricação do queijo Prato tradicional, o teor de gordura no leite deve ser de aproximadamente 3,5%.

¹ Informação fornecida pela ABIQ – Associação Brasileira das Indústrias de Queijos. Mercado total de queijos no Brasil, 2009.

Além disso, o leite deve ter acidez entre 15 e 18°D (Dornic) (OLIVEIRA, 1986). Além do leite, outros ingredientes são necessários para a produção do queijo Prato, a cultura lática, o cloreto de cálcio, o corante urucum, o coalho ou coagulante. A cultura lática comumente utilizada para a produção do queijo Prato é composta pelas bactérias ácido-láticas, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e/ou *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*. Esses micro-organismos possuem a capacidade de degradar a lactose do leite produzindo exclusivamente o ácido láctico. O uso dessas culturas origina um queijo de massa fechada e aroma suave. Também podem ser acrescentados outros micro-organismos, como *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* e *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, que produzem, além do ácido láctico, aroma e gás carbônico, conferindo ao queijo sabor e olhaduras típicas (FURTADO; LOURENÇO NETO, 1994; FURTADO; AMORIM, 2000).

A presença do cálcio solúvel, sob a forma ionizada é importante na etapa de coagulação do leite. Assim, o cloreto de cálcio deve ser adicionado no processo de fabricação do queijo Prato para corrigir a perda de cálcio solúvel que pode ocorrer no processo de pasteurização. Normalmente, a adição de 0,02% de cloreto de cálcio é suficiente para corrigir o balanço de cálcio no leite. Ao reagir com os fosfatos do leite, ocorre a formação de fosfato tricálcico, liberando prótons H^+ , com o consequente abaixamento do pH do leite. Há ainda um aumento no teor de cálcio ionizado, de cálcio coloidal e da caseína micelar, o que provoca o crescimento da micela, a qual se torna mais estável, facilitando a coagulação do leite (FURTADO, 1991; SCOTT; ROBINSON; WILBEY, 1998).

A adição do corante urucum não possui uma finalidade química ou biológica, sua função é apenas conferir a coloração característica do queijo Prato. Esse corante natural é extraído da semente de *Bixa orellana*. É adquirido sob a forma de extrato alcoólico-alcálico, com concentração padronizada, de modo que um volume de 5 a 10 mL de corante para 100 L de leite forneça a coloração desejada ao produto final (OLIVEIRA, 1986).

O agente coagulante utilizado para a coagulação enzimática do leite produz uma modificação das micelas de caseína. O agente coagulante mais utilizado é constituído pela enzima quimosina, que hidrolisa as ligações peptídicas da fração κ -caseína da micela de caseína, entre os aminoácidos (Phe105-Met106), originando para- κ -caseína e glucomacropéptidos. A proteólise da κ -caseína é referida como a primeira fase da

coagulação enzimática. Quando 85% a 90% do total de κ -caseína é hidrolisada, a estabilidade coloidal das micelas é reduzida e, na presença de cálcio e temperatura de aproximadamente 30 °C, ocorre a coagulação. Este processo é referido como a segunda fase da coagulação enzimática (FOX; McSWEENEY, 1998; SCOTT; ROBINSON; WILBEY, 1998).

O processo de fabricação do queijo Prato inicia-se com o aquecimento do leite até 32 a 35 °C, então, adiciona-se a cultura láctica, o cloreto de cálcio, o corante urucum e o agente coagulante. Após a coagulação, de aproximadamente 45 minutos, a massa é cortada e agitada por aproximadamente 20 minutos, a fim de promover a dessoragem dos grãos. Em seguida, retira-se 30% do soro e inicia-se o aquecimento gradativo da mistura soro/massa (semi-cozimento), com adição de água a 80 °C, até que a mistura alcance 40 °C. A mistura é mantida nesta temperatura, sob agitação, até obtenção do ponto de massa. As etapas seguintes são dessoragem, enformagem, prensagem, salga em salmoura e maturação (OLIVEIRA, 1986; FURTADO; LOURENÇO NETO, 1994).

3.2. Maturação do queijo Prato

Durante o período de maturação, ocorrem complexas reações biológicas, bioquímicas e químicas, através das quais os compostos flavorizantes característicos são produzidos e a textura alterada (FOX; McSWEENEY, 1998; BANKS, 1998).

Dependendo do tipo do queijo, as mudanças na maturação envolvem de 4 a 6 agentes. O primeiro deles é o leite utilizado para a fabricação do queijo, devido à contribuição com enzimas endógenas, como a plasmina, a fosfatase ácida e a xantina oxidase. O segundo é o coagulante, cuja maior parte é perdida no soro, mas um pouco é retido na massa, sendo um importante contribuinte na proteólise. Outro agente atuante é a cultura láctica, que fornece enzimas extra e intra celulares, sendo a última decorrente da lise celular. Esses micro-organismos contribuem também no desenvolvimento de condições para a formação de sabor e textura. As bactérias que não fazem parte da cultura (*non starter lactic acid bacteria* – NSLAB), presentes no ambiente de fabricação dos queijos, também contribuem, principalmente no final da maturação. As culturas adjuntas e as enzimas exógenas, adicionadas aos queijos, cumprem funções específicas na maturação, dependendo da variedade (FOX; McSWEENEY, 1998; BANKS, 1998; SCOTT; ROBINSON; WILBEY, 1998).

A extensão da maturação é influenciada pelo teor de umidade, pH, teor de sal, além da temperatura e umidade do ambiente da maturação (BANKS, 1998). No caso do queijo Prato o ambiente da maturação deve apresentar temperatura de 12°C e umidade relativa de 70-85% (SILVA, 1998). Durante a maturação ocorrem três reações primárias, a glicólise, a lipólise e a proteólise, que são seguidas e sobrepostas por uma série de mudanças catabólicas, como desaminação, descarboxilação, desulfuração dos aminoácidos e β -oxidação dos ácidos graxos. Todas essas mudanças contribuem para o desenvolvimento de características típicas de aroma, sabor e textura dos queijos (FOX, 1993; FOX; McSWEENEY, 1998).

A glicólise é o processo pelo qual a lactose, principal açúcar do leite, é degradada em ácido láctico, através da fermentação láctica, realizada por bactérias do próprio leite ou da cultura láctica. O ácido láctico formado na fermentação do leite é convertido em lactato, geralmente na forma de L-isômero, que na maioria dos casos é isomerizado para uma mistura racêmica (DL), numa taxa influenciada pelas NSLAB. Esse lactato serve de substrato para bactérias que não fazem parte da cultura láctica ou para micro-organismos específicos adicionados, sendo que ambos dependem da disponibilidade de oxigênio para o seu desenvolvimento. A conversão da lactose em lactato define o pH do queijo e é de grande importância na regulação das reações químicas que ocorrem no queijo durante a maturação (FOX, 1993; LIN et al., 2001).

A lipólise ocorre em todos os queijos, resultando em ácidos graxos que contribuem com as características de sabor. Contudo, na maioria das variedades a lipólise é limitada devido à baixa atividade lipolítica das bactérias da cultura e daquelas não originárias da cultura. Essa reação é bastante encontrada em queijos de massa firme, aqueles maturados por fungos e aqueles que apresentam coalho contendo lipase e esterase (FOX; STEPANIAK, 1993; FOX; McSWEENEY, 1998).

A proteólise é a reação mais complexa e, talvez, a mais importante das três principais reações bioquímicas que ocorrem durante a maturação. Como a maior parte da proteína do soro é perdida no processo de fabricação, as proteínas presentes no queijo incluem a α - e a β -caseína. Ao longo do processo de maturação, essas proteínas são hidrolisadas pelas enzimas presentes no coagulante residual, por aquelas naturais do leite, especialmente a plasmina, e por aquelas produzidas pelos micro-organismos da cultura láctica e dos contaminantes, não originários da cultura (FOX; McSWEENEY, 1998; SCOTT; ROBINSON; WILBEY, 1998).

A proteólise é essencial para a produção de aroma e sabor, que são formados pela liberação de aminoácidos e peptídeos através da hidrólise, ou via catabolismo de aminoácidos, transformando-os em aminas, ácidos, tióis e tioésteres. Estes compostos responsáveis pelo sabor são liberados durante a mastigação. Além disso, a proteólise contribui também para mudanças na textura pela quebra da cadeia de proteínas, aumento do pH (via formação de NH_3) e aumento na capacidade de ligar água pela formação de novos grupos amínicos e carboxílicos. A massa inicialmente borrachenta e resistente dará origem a um queijo maleável e suave (FOX, 1989; FOX; McSWEENEY, 1998).

A α_{s1} -caseína é a fração caseica degradada mais rapidamente durante a proteólise no período de maturação. Sua degradação é favorecida pelo pH do queijo e pela proximidade do pH ótimo de atuação do coagulante, bem como pelo conteúdo de sal. A β -caseína é hidrolisada mais lentamente e aproximadamente 50% desta fração caseica permanece intacta após 6 meses de maturação (WALSTRA et al., 1999).

As mudanças na proteólise do queijo podem ser caracterizadas pela relação entre nitrogênio solúvel em pH 4,6 (ou nitrogênio não caséico - NNC) e nitrogênio total, e a relação entre nitrogênio solúvel em TCA (ou nitrogênio não protéico - NNP) e nitrogênio total. A primeira relação envolve a caracterização, separação e quantificação dos compostos nitrogenados do queijo durante a maturação, é caracterizada pela proporção de moléculas de proteínas que são decompostas, predominantemente em peptídeos grandes. A segunda relação refere-se ao grau destes produtos quebrados em componentes menores, entre os quais estão os aminoácidos, oligopeptídeos e aminas, acumulados durante o processo. A determinação analítica do NNC em relação ao nitrogênio total baseia-se na precipitação isoelétrica da caseína em pH 4,6 em uma amostra diluída de queijo, seguida pela quantificação do nitrogênio solúvel pelo método de Kjeldahl. A relação entre NNP e nitrogênio total é quantificada pelo nitrogênio não protéico, ou seja, as substâncias de baixo peso molecular que não se precipitam na presença de ácido tricloroacético a 12% (WOLFSCHOON-POMBO, 1983; WALSTRA et al., 1999).

Durante a maturação, várias enzimas, provenientes do coagulante, do leite e da cultura láctica, podem contribuir com a proteólise. O coalho residual é responsável pela formação da maior parte do NNC e fornece uma pequena contribuição na formação do NNP. As enzimas do leite, sendo a plasmina a principal delas, contribuem com

quantidades consideráveis para a presença do NNC e NNP. A cultura lática fornece proteinases e peptidases, influenciando na formação de pequenos peptídeos e aminoácidos livres, demonstrados através do NNP (FOX et al., 1993).

Outra maneira de avaliar a proteólise do queijo é através da eletroforese, geralmente urea - PAGE, que é apropriada para monitorar a proteólise primária, ou seja, a proteólise da caseína, resultando na formação de grandes polipeptídios (FOX; McSWEENEY, 1998).

Vakaleris e Price (1959) sugeriram o uso da quantificação dos aminoácidos tirosina e triptofano, através da análise espectrofotométrica, como um procedimento rápido e seguro para avaliar a proteólise durante a maturação de queijos. O método baseia-se na concentração total de tirosina e triptofano (livres e em ligações peptídicas), em um extrato de queijo composto por citrato de sódio e ácido clorídrico, e a determinação da densidade óptica desse extrato, que está em constante proporção com o conteúdo de nitrogênio solúvel do queijo.

3.3. Funções da gordura nos queijos

A quantidade de gordura nos alimentos influencia as características nutricionais, sensoriais, físicas e químicas dos produtos. Nutricionalmente, a gordura atua como fonte de ácidos graxos essenciais (ácido linoléico e linolênico), como transportador de vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) e, além disso, se relaciona com a sensação de saciedade após as refeições. A gordura também desempenha importantes funções sensoriais nos alimentos, sendo quatro as principais: aparência, textura, sabor e sensação provocada na boca. Nas características de sabor, a gordura destaca-se por ser solvente para substâncias que interferem no gosto e aroma dos alimentos (ROLLER; JONES, 1996, BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009).

As características físico-químicas da gordura afetam as propriedades físicas dos alimentos. Por exemplo, o grau de insaturação, a distribuição de ácidos graxos e sua configuração molecular vão afetar as propriedades físicas dos alimentos, como viscosidade, espalhabilidade e cristalinidade. Além disso, a gordura é importante no comportamento do alimento durante e após o processamento. Neste caso é importante avaliar a estabilidade durante o armazenamento, incluindo as características químicas e microbiológicas do produto (ROLLER; JONES, 1996).

A gordura é um dos principais componentes do leite e se apresenta na forma de pequenos glóbulos, de tamanho entre 0,1 e 20,0 μm . Os triacilgliceróis representam 97-98% do total de lipídios no leite, na maioria das espécies. Esses triacilgliceróis apresentam uma ampla riqueza de ácidos graxos, que proporcionam o sabor característico da gordura do leite, considerado superior quando comparado com de outras gorduras (WALSTRA; JENNESS, 1984; FOX, 1998).

Portanto, o desenvolvimento de produtos com baixo teor de gordura é bastante complexo, pois a gordura apresenta caráter multifuncional. Assim, cada produto alimentício deve ser analisado individualmente para identificar as funções específicas da gordura na matriz desse alimento.

Queijos com reduzido teor de gordura geralmente têm menor aceitação quando comparados com as versões integrais devido aos defeitos de textura e sabor (DRAKE; SWANSON, 1995; MISTRY, 2001; BANKS, 2004).

Na estrutura da matriz do queijo, os glóbulos de gordura estão aprisionados fisicamente em uma rede de proteína com ligações cruzadas de fosfato de cálcio. A matriz é elástica quando a caseína está intacta, mas diminui com a evolução da proteólise 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 parte da gordura é removida, a caseína passa a desempenhar uma função maior na textura do queijo. Além disso, com essa remoção também ocorre insuficiente quebra da caseína, especialmente na hidrólise da α_{s1} -caseína. Assim, a textura de um queijo com reduzido teor de gordura é caracterizada como dura e elástica (JAMESON, 1990; ARDÖ, 1997; MISTRY, 2001; BANKS, 2004).

A interferência da gordura no sabor característico do queijo está relacionada à sua hidrólise. Esse sabor pode ser obtido diretamente pela presença de ácidos graxos, de acordo com o tipo, concentração e proporção definida, ou indiretamente, após transformações bioquímicas, que resultam na formação de outros compostos aromatizantes, tais como cetonas, metil-cetonas e lactonas (SABIONI, 2000). Além disso, a gordura do leite pode contribuir com o desenvolvimento de sabor do queijo através da dissolução de compostos flavorizantes originados da hidrólise da gordura ou da proteína. A gordura também é benéfica para mascarar sabores, como o amargo, por exemplo. A composição de muitos peptídios amargos compreende aminoácidos

carregados negativamente em uma extremidade e principalmente aminoácidos hidrofóbicos na outra e essa disposição na interface entre gordura e água pode mascarar o amargor. Essa característica enfatiza o conceito de que a redução da gordura aumenta a tendência do queijo apresentar gosto amargo (ARDÖ, 1997).

Assim, os defeitos de sabor em queijo com reduzido teor de gordura incluem a baixa intensidade do gosto e aroma típico em relação à versão integral, além de amargor e adstringência. Estes defeitos relacionam-se com a alteração do balanço entre gordura, proteína e umidade na produção do queijo que devem resultar em deficiências não apenas dos compostos de sabor da gordura do leite, mas também nos compostos gerados da interação dos produtos de degradação da lipólise e da proteólise (ARDÖ, 1997; BANKS, 2004).

No queijo Cheddar com reduzido teor de gordura, a falta de sabor foi associada aos baixos níveis de ácidos graxos, como o butanóico e o hexanóico, e com as metilcetonas. Durante a mastigação, a diferença na taxa de liberação de compostos de sabor no queijo também é um fator importante na percepção do sabor. Os compostos 2-butanona e 2-heptanona são liberados em quantidades maiores em queijos com reduzido teor de gordura. Portanto a percepção total do sabor é diferente (MISTRY, 2001).

Outro problema relacionado à redução da gordura em queijos é a diminuição no rendimento. O rendimento em queijo é importante devido aos aspectos econômicos e do controle de processamento (EMMONS, 1993; DRAKE; SWANSON, 1995; MISTRY, 2001; BANKS, 2004).

Vários fatores interferem no rendimento do queijo, como a composição e a qualidade do leite, a umidade final do queijo, o grau de recuperação de gordura e caseína na massa e as condições de processamento. Dentre os constituintes do leite, os teores de gordura e proteína são importantes para a obtenção de um bom rendimento. Durante o corte e a agitação da coalhada, podem ocorrer perdas desses componentes, portanto, interferindo no rendimento. O tipo de coagulante e as condições de pasteurização do leite, que podem ocasionar perda de sais de cálcio, também são fontes de interferência no rendimento em queijos (LAWRENCE, 1993; FURTADO, 1999; KOSIKOWSKI; MISTRY, 1997).

A composição do leite é influenciada por fatores como raça do animal, estágio de lactação, estação do ano, tipo de ração, idade do animal, doenças como a mastite, e por procedimentos de ordenha. Além disso, outros fatores podem interferir na qualidade

do leite e, conseqüentemente, no rendimento, como mudanças físico-químicas na caseína micelar e o aumento da contagem de psicrotróficos, que podem produzir enzimas, hidrolisando proteínas e lipídios (LAWRENCE, 1993; FURTADO, 1999).

3.4. Mercado de queijos com reduzido teor de gordura

O maior mercado para alimentos com baixo teor de gordura é nos Estados Unidos, onde em 1998, a venda de queijos com reduzido teor de gordura correspondeu a 20% da venda total de queijos. Na Europa, o mercado para esse tipo de produto é pequeno e pouco desenvolvido, sendo que no Reino Unido estão os principais consumidores de queijos com reduzido teor de gordura, sendo que estes correspondem a 8% do total de vendas de queijos. Nos países mediterrâneos, como França, Itália e Espanha, o consumo de queijos integrais continua a ter uma forte influência no mercado, pois é priorizado o sabor e a autenticidade em detrimento ao conteúdo de gordura desses produtos (HILLIAM, 1996; MISTRY, 2001; BANKS, 2004).

Observações do mercado varejista nos Estados Unidos sugerem que, atualmente, o mercado é similar. Em comparação com os queijos de teor integral de gordura, a oferta de queijos com reduzido teor de gordura ainda é restrita, menos de 25% do volume total, com crescimento bastante pequeno nos últimos anos (JOHNSON et al., 2009).

Atualmente 15% dos adultos americanos restringem o consumo de queijo e 29% desses consumidores retomariam o consumo normal de queijo se o sabor e textura dos queijos de reduzido teor de gordura fossem comparáveis às versões integrais dos queijos. Contudo, o desenvolvimento de novos produtos para atender essa demanda tem sido bastante lento nos últimos anos (NARASIMMON, 2008; JOHNSON et al., 2009).

Childs e Drake (2009) avaliaram a aceitabilidade de queijo Mozzarella e Cheddar com diferentes níveis de redução de gordura, concluindo que os consumidores ainda não estão satisfeitos com esses queijos *light*, principalmente se a redução for maior que 50% do teor de gordura. Os autores afirmam, ainda, que a maioria dos consumidores não está disposta a sacrificar sabor e textura para obter redução de gordura em queijos.

Assim, mudanças significativas no sabor e textura são necessárias para que os queijos sejam bem aceitos pelos consumidores. Essas características sensoriais dos

queijos com baixo teor de gordura devem ser melhoradas e comparáveis às versões integrais para ter maior aceitação dos consumidores. Embora a indústria tenha alcançado avanços significativos na melhoria da qualidade de queijos com reduzido teor de gordura, os consumidores continuam a não aceitar as perdas na qualidade desses produtos em relação às versões integrais (MISTRY, 2001; RYHANNEN; PIHLANTO-LEPPALA; PAHKALA, 2001; JOHNSON et al., 2009).

No Brasil, o consumo de produtos lácteos, em geral, é inferior em relação aos países desenvolvidos. No caso dos queijos, houve um crescimento de produção e consumo ao longo dos anos. Contudo, o consumo de queijos com reduzido teor de gordura ainda não é expressivo, não aparecendo nas últimas tabelas fornecidas pela Associação Brasileira da Indústria de Queijos – ABIQ (CARVALHO, 2007; ABIQ, 2009).

3.5. Tecnologias para a melhoria de queijos com reduzido teor de gordura

Alguns procedimentos foram desenvolvidos para a produção de queijos com reduzido teor de gordura, visando minimizar os defeitos de sabor e textura. Os procedimentos envolvem alternativas como técnicas de processamento, uso de culturas adjuntas, adição de enzimas e também uso de substitutos de gordura (DRAKE; SWANSON, 1995; MISTRY, 2001; BANKS, 2004).

3.5.1. Técnicas de processamento

É a alternativa de melhoria mais antiga, que se iniciou há mais de 50 anos, e também a mais econômica. Através de estudos, foram estabelecidos alguns parâmetros para a produção de queijos com baixo teor de gordura. Esses parâmetros incluem baixa temperatura de cozimento, alto pH durante o corte, lavagem da massa com água fria e uso de leite homogeneizado (DRAKE; SWANSON, 1995; MISTRY, 2001).

A redução da temperatura de cozimento, o aumento do valor de pH para a dessora e o corte proporcionam uma menor sinérese, resultando em uma maior retenção de umidade na coalhada. Para o queijo Cheddar com reduzido teor de gordura, a temperatura de cozimento deve ser de 30 a 35°C, dependendo da umidade final desejada

(BANKS; BRECHANY; CHRISTIE, 1989) e o valor de pH para o corte deve ser de 5,6 a 5,8 (DRAKE; SWANSON, 1995; MISTRY, 2001).

A lavagem da massa com água fria também auxilia na retenção de umidade na massa e, além disso, remove a lactose e solubiliza o cálcio, favorecendo o desenvolvimento de uma textura mais macia. Essa alternativa também contribui para prevenir a acidez excessiva durante a maturação (DRAKE; SWANSON, 1995; MISTRY, 2001, BANKS, 2004).

A homogeneização da gordura no leite utilizado para a fabricação de queijos com reduzido teor de gordura é outra alternativa de processo que possibilita a retenção de umidade na massa e melhora o aspecto sensorial do queijo. Esse aspecto melhora devido ao aumento da superfície de contato dos glóbulos de gordura, de maneira que estes sejam mais bem distribuídos na matriz do queijo, melhorando a textura e o corpo (TUNICK et al., 1993; METZGER; MISTRY, 1995; DRAKE; SWANSON, 1995).

Uma outra alternativa utilizada para melhorar a textura dos queijos produzidos a partir de leite desnatado é a pré-concentração do leite para obter um alto teor de sólidos totais, através da ultrafiltração. Teoricamente, este processo resulta na melhoria da textura do queijo comparada com a produzida por métodos convencionais, devido à incorporação de proteínas do soro, que aumentam a capacidade de retenção de água do queijo, tornando-o mais macio (McGREGOR; WHITE, 1990).

Silva (2003) realizou estudos com requeijão cremoso *light* a partir de retentado obtido pela ultrafiltração (UF) de leite desnatado, que foi diretamente acidificado com ácido láctico e posteriormente adicionado de concentrado protéico de soro (CPS) 34%, como substituto parcial de gordura. Os requeijões *light* apresentaram redução de 40-49% no valor calórico total, maior teor de nitrogênio solúvel, corpo mais firme e derretimento inferior quando comparados aos requeijões *light* tradicionais. Apesar disso, a avaliação sensorial demonstrou similaridade entre o requeijão cremoso *light* obtido a partir do retentado acidificado diretamente e os requeijões tradicionais.

Cunha; Viotto e Viotto (2006) avaliaram o efeito do uso de retentados de baixo fator de concentração (FC) no rendimento, proteólise e propriedades viscoelásticas de queijo Minas Frescal com reduzido teor de gordura. Os resultados mostraram que não houve diferença na proteólise. Com o decréscimo no fator de concentração dos retentados, houve aumento no teor de umidade dos queijos e, conseqüentemente, no rendimento. Além disso, os queijos com FC de 1,2 e 1,5 foram sensorialmente muito

aceitáveis. Contudo, o uso de retentados com FC superior a 1,5 não é recomendado, uma vez que resultaram em maior dureza e elasticidade, e em menor aceitação sensorial do produto final.

Outro estudo aplicou a mesma alternativa tecnológica para a produção de queijo Mussarela com reduzido teor de gordura. O uso de retentados de baixo FC promoveu uma redução na elasticidade e firmeza da Mussarela com reduzido teor de gordura fabricada por acidificação direta. Esse resultado deve estar relacionado a uma tendência de maior retenção de umidade, menor teor de caseína e cálcio e provável formação de uma rede de caseína menos fechada e compacta (FERREIRA et al., 2006).

O uso de retentados de baixo fator de concentração também foi estudado em queijo Prato com reduzido teor de gordura. Os resultados demonstram uma tendência de aumento do rendimento dos queijos fabricados com retentados, quando comparados aos queijos fabricados com leite não concentrado (BARROS; RIBEIRO; VIOTTO, 2006).

3.5.2. Culturas adjuntas e enzimas

Culturas adjuntas têm sido tradicionalmente utilizadas para promover e acelerar o desenvolvimento de sabor em queijos com teor normal de gordura. Essas culturas também têm sido importantes para os queijos com reduzido teor de gordura, podendo melhorar ou acelerar o desenvolvimento do sabor pelo aumento da proteólise, mais especificamente, pela atividade da aminopeptidase, a qual reduz o gosto amargo e aumenta a concentração de peptídeos de sabor desejável e precursores voláteis de sabor (DRAKE; SWANSON, 1995).

Dois tipos de culturas podem ser utilizadas: culturas adjuntas não viáveis (atenuadas) e culturas adjuntas viáveis (não atenuadas). O uso dessas culturas não é inovador, pois já são utilizadas comercialmente na produção de queijos, mas o interesse tem aumentado devido à necessidade de melhorar o sabor em queijos com reduzido teor de gordura (EL SODA; MADKOR; TONG, 2000).

As culturas adjuntas mais comumente utilizadas são os *Lactobacillus* ssp. *Lactobacillus helveticus* tem sido usado como cultura adjunta na produção de queijos semi-duros com reduzido teor de gordura, resultando em um aumento de proteólise, diminuição do gosto amargo e intensificação do sabor típico (DRAKE; SWANSON, 1995).

Barros (2005) avaliou o uso de culturas adjuntas na fabricação de queijo Prato com reduzido teor de gordura. Foram utilizados *Lactobacillus casei* e *Lactobacillus helveticus*, na quantidade de 10^5 UFC/mL de leite, e comparados a um queijo controle (sem cultura adjunta). Os queijos fabricados com adição de *L. helveticus* apresentaram maior índice de profundidade de proteólise ao final de 65 dias de maturação. A eletroforese mostrou que a degradação da α_{s1} -caseína com a formação da α_{s1-I} -caseína foi ligeiramente maior para o queijo adicionado de *L. helveticus*. A capacidade de derretimento aumentou significativamente ao longo do tempo ($p=0,0001$). Os queijos com *L. helveticus* apresentaram resultados satisfatórios nos testes com provadores, as notas foram significativamente ($p \leq 0,05$) mais altas para os atributos sabor, textura e impressão global.

Silva (2006) avaliou o uso do *Lactobacillus casei* como cultura adjunta para queijo Prato com reduzido teor de gordura. Houve aumento da proteólise (relação entre NNC e nitrogênio total e NNP e nitrogênio total) nos queijos contendo a cultura adjunta, em relação ao controle. A melhor característica de textura, devido à maior proteólise, foi observada no queijo com 70% de cultura tradicional e 30% de cultura adjunta.

Além do uso de culturas adjuntas, o uso de enzimas também pode colaborar no desenvolvimento da proteólise e na qualidade de queijos com baixo teor de gordura. As enzimas podem ser usadas na forma livre ou microencapsulada (ARDÖ, 1997).

Garcia (2007) avaliou o uso de enzima proteolítica, fastuosaína, extraída do fruto gravatá (*Bromelia fastuosa*), na maturação de queijo Prato com reduzido teor de gordura. A adição de enzima promoveu, desde o primeiro dia, aceleração da maturação. O uso de enzimas com baixa atividade enzimática resultou em maior proteólise e na melhoria das características físico-químicas, sensoriais e de textura dos queijos modificados.

Garcia (2010) verificou que o uso da enzima proteolítica Protemax® aumentou a proteólise e a acidez de queijo Prato *light* quando comparado com queijos Prato *light* sem adição da enzima. Além disso, os queijos adicionados da enzima apresentaram aumento na concentração de compostos voláteis e não influenciou no perfil de ácidos graxos.

O uso de micro-organismos e enzimas para melhorar a proteólise de queijos também tem sido utilizado em queijos Prato com teor integral de gordura.

Schulz (2003) estudou o processamento e a caracterização de *slurry* de queijo Prato com teor integral de gordura. O *slurry* foi fabricado com coágulo de queijo Prato, maturado a 30°C por 7 dias e posteriormente adicionado no processo de fabricação do queijo como uma fonte de enzimas e microorganismos com a finalidade de acelerar o processo de maturação. Os resultados obtidos demonstraram que os queijos adicionados de *slurry* apresentaram maior proteólise e composição semelhante em relação aos queijos tradicionais.

A enzima Neutrase® foi utilizada em queijo Prato com teor integral de gordura e resultou em aumento da proteólise. A eletroforese apresentou maior degradação das frações α_{s1} e β -caseínas nos queijos modificados, quando comparados aos tradicionais. Dentre as frações, a degradação da fração β foi maior do que a observada para α_{s1} -caseína (SILVA, 1998).

3.5.3. Substitutos de gordura

Neste trabalho o termo substituto de gordura será empregado de maneira genérica, considerando o substituto como um aditivo que tem a capacidade de promover melhorias sensoriais e funcionais em queijos *light* (MISTRY, 2001).

Para esclarecimentos, será apresentada uma adaptação sistemática dos termos utilizados em inglês (ROLLER; JONES, 1996; TAMIME, 1997; PINHEIRO; PENNA, 2004):

- repositor ou substituto de gordura (“fat replacer”) – um termo coletivo para descrever qualquer ingrediente para repor a gordura,
- substitutos de gordura (“fat substitute”) – composto sintético desenvolvido para repor a gordura na base peso por peso, usualmente tendo uma estrutura química similar a da gordura, mas resistente à hidrólise pelas enzimas digestivas,
- imitadores de gordura (“fat mimetic”) – um repositor de gordura que necessita de alto conteúdo de água, mas resiste à hidrólise por enzimas digestivas,
- gorduras de baixas calorias (“low-calorie fat”) – triglicerídeos sintéticos combinando ácidos graxos não convencionais na cadeia de glicerol, que resulta em reduzido valor calórico,
- extensores de gordura (“fat extender”) um sistema de gorduras contendo uma proporção de gorduras padrões ou óleos combinados com outros ingredientes.

Assim, considerando o termo substituto de gordura de maneira genérica, sua classificação está baseada principalmente, na natureza química e na origem do produto, juntamente com seu valor energético. Eles são tecnicamente divididos em carboidratos, incluindo produtos à base de fibras; proteínas modificadas, que possuam boas propriedades emulsificantes ou gelificantes, aliadas ao baixo valor energético. Também são substitutos de gordura as gorduras naturais menos calóricas e as gorduras sintéticas (ROLLER; JONES, 1996; TAMIME, 1997).

Um melhor resultado no uso dos substitutos de gordura pode ser obtido através da utilização de misturas, proporcionando maior funcionalidade para aplicações específicas. A escolha é determinada pelo custo, qualidade, inocuidade e pelo desempenho dos substitutos de gordura (CÂNDIDO; CAMPOS, 1996).

Stevens e Shah (2002) analisaram a textura e o derretimento de Mussarela fabricada com dois níveis do substituto de gordura Maltrin[®] M100 (Maltodextrina). Valores de dureza e elasticidade foram significativamente maiores nos queijos sem gordura comparados com os integrais, com decréscimo durante a estocagem. Houve uma melhora nas propriedades de derretimento em todos os queijos durante a estocagem. Os queijos contendo 2,5% de Maltrin[®] apresentaram as melhores propriedades de derretimento entre os queijos sem gordura, sugerindo que a adição desses substitutos de gordura pode melhorar as características de textura desses queijos.

Bullens, Krawczyk e Geithman (1994) avaliaram a combinação de celulose microcristalina, carragena e leite com reduzido teor de gordura na fabricação de queijo Cheddar. A carragena e a celulose microcristalina interferiram na interação caseína-caseína, produzindo um queijo de estrutura tenra e macia.

Konuklar et al. (2004) utilizaram o substituto de gordura Nutrim (hidrocolóide β -glucana) para fabricar queijos Cheddar com baixo teor de gordura. Os queijos controle (11,2% de gordura) foram comparados com os modificados que continham Nutrim-I (6,8% de gordura) e Nutrim-II (3,47% de gordura). Os queijos modificados demonstraram menores valores de dureza, rachaduras e menor tempo de derretimento quando comparados com o controle. Além disso, a textura foi similar entre todos os queijos, exceto pelo queijo com Nutrim-II, mais pastoso. Em relação ao sabor, os queijos do grupo controle foram menos amargos, mais amanteigados e com menor gomosidade.

Os efeitos de diferentes concentrações de k-carragena e i-carragena (0,05%, 0,15% e 0,25%) sobre a viscoelasticidade de queijo processado, com 45 e 50% de gordura, foram avaliados. Os resultados demonstraram que as duas maiores concentrações da i-carragena foram mais eficientes para produzir queijos processados mais duros, quando comparadas com a k-carragena (CERNÍKOVÁ et al., 2008).

Haque e Aryana (2002) estudaram os efeitos de substitutos de gordura à base de proteínas (Dairy Lo™ e Simplese) e à base de carboidratos (Novagel e Stellar) na estrutura de queijos Cheddar. Queijos elaborados com Simplese e Novagel amoleceram os queijos Cheddar com baixos teores de gordura pela descontinuidade na matriz de caseína. Os substitutos Dairy Lo™ e Simplese parecem amolecer os queijos pelo menor número de camadas que conferem resistência ao esmagamento na interface proteína-gordura. Os substitutos de gordura atenuaram os odores voláteis do queijo. Durante o estágio inicial da maturação, os voláteis predominantes foram ácido octanóico, acetoína e 2,3 butanodiona.

Haque; Kuçukoner e Aryana (2007) avaliaram a influência de substitutos de gordura comerciais à base de proteína, Dairy Lo e Simplese, e de carboidrato, Novagel e Stellar, na maturação do queijo Cheddar com reduzido teor de gordura. Todos os tratamentos, com exceção daquele adicionado de Stellar, apresentaram redução do tempo de proteólise, quando comparado ao controle. A análise de microestrutura demonstrou que o queijo Cheddar com reduzido teor de gordura adicionado do substituto Dairy Lo foi o tratamento que mais se aproximou da microestrutura de um queijo Cheddar tradicional.

3.5.3.1. Proteínas do soro como substituto de gordura

As proteínas do soro de leite são formadas por 25% de α -lactoalbumina e 55% de β -lactoglobulina. Essas proteínas são caracterizadas por serem globulares, compactas, solúveis em ampla faixa de pH, termolábeis e não coaguláveis pela renina. O efeito da concentração, além do controle de pH e temperatura, origina propriedades, como desenvolvimento de viscosidade devido à sua capacidade de reter água, formação de géis, capacidade emulsificante, retenção e incorporação de gordura. Além disso, as proteínas do soro facilitam o batimento, a formação de espuma e a aeração, realçam a

cor, o sabor e a textura dos alimentos (FOX; McSWEENEY, 1998; USDEC, 1997; ANTUNES, 2003).

Devido às suas propriedades funcionais, as proteínas do soro de leite podem ter diversos usos para a indústria alimentícia: na produção de queijos e correlatos, concentrado protéico de soro (CPS), panificação e produtos similares, alimentos infantis, produtos dietéticos para ganho ou redução de peso, sopas, sucos de frutas fortificadas com proteínas, bases para molhos, iogurtes, bebidas fermentadas, chocolates e sorvetes (HUFFMAN, 1996; PINHEIRO; PENNA, 2004).

Quando hidratadas, as proteínas do soro fornecem apenas 1 a 2 calorias por grama, permitindo grande redução no consumo de gordura. A vantagem de se utilizar ingredientes à base de proteínas como substitutos de gordura é que as proteínas se ligam bem aos componentes aromáticos (BRANDÃO; SILVA; REIS JUNIOR, 1995; ALEGRET, 1997).

A incorporação da proteína do soro na fabricação de queijos proporciona alguns benefícios como o maior valor nutricional, o aumento do rendimento do queijo e a melhoria do aspecto sensorial. Além disso, essa aplicação proporciona um bom uso para o soro, que normalmente é descartado (HINRICHS, 2001).

As proteínas do soro de leite podem ser incorporadas no queijo na forma nativa ou desnaturada. Em sua forma nativa, elas podem ser obtidas a partir do processamento em membranas de filtração, promovendo uma concentração. Na forma desnaturada, podem ser obtidas por algumas tecnologias: tratamento a alta temperatura, a fim de permitir a complexação das proteínas do soro com as caseínas e então ficarão retidas na matriz do queijo; combinando aquecimento a alta temperatura e tecnologia de membrana para reter o soro desnaturado e agregado da fase de soro; recirculação de proteína do soro particulada modificada termicamente via incorporação de proteínas ao leite do queijo, ou ainda, por adição destas proteínas à matriz do queijo (HINRICHS, 2001).

As proteínas do soro também podem ser utilizadas em um estado mais agregado (particulado ou microparticulado), incorporado na rede de gel. A particulação é a tecnologia na qual as proteínas do soro são desnaturadas e agregadas por aquecimento, com ruptura simultânea em partículas do concentrado de soro de leite. A eficiência do uso está relacionada com a composição e as condições de processo. Essa particulação é importante, pois a sensação que uma substância provoca na boca está relacionada com a

sua composição química e com o tamanho das partículas. As partículas de proteína com diâmetro maior que 8 μm são reconhecidas como arenosas, aquelas que variam entre 3 e 8 μm como quebradiças, aquelas entre 0,1 e 3 μm como cremosas e macias e quando são menores que 0,1 μm são aguadas. Assim, a microparticulação de concentrados de proteína originam partículas entre 0,1 e 3 μm , conferindo uma sensação na boca próxima daquela produzida pelos glóbulos de gordura (ROLLER; JONES, 1996; BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009).

As aplicações das proteínas microparticuladas revelam que esse ingrediente é bastante compatível com uma grande variedade de ingredientes culinários. A mais importante interação parece ser o sinergismo observado entre as proteínas microparticuladas e os outros ingredientes do alimento, necessários para completar a ilusão de consumir um alimento com baixo teor de gordura, mas muito próximo da sua versão integral (SINGER, 1996; ROLER; JONES, 1996).

O concentrado protéico de soro é obtido através da ultrafiltração de soro e posterior secagem por *spray dryer*. Nesse processo, as proteínas são desnaturadas e microparticuladas, conferindo propriedades funcionais específicas ao produto. Uma característica desse produto que tem despertado interesse é a solubilidade numa ampla faixa de pH (de 2 a 10). Estão disponíveis diferentes tipos de CPS, diferenciados de acordo com o teor protéico, que varia de 35 a 80% (ANTUNES, 2003).

O uso do concentrado protéico de soro é reconhecido como seguro (*generally recognized as safe* - GRAS) pela FDA (*Food and Drug Administration*). Nutricionalmente, o CPS é digerido e absorvido como proteína (LUCCA; TEPPER, 1994).

Além disso, o uso do concentrado protéico de soro, por ser derivado de leite, está de acordo com os parâmetros definidos na lei para a utilização em queijos. Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos, a denominação queijo está reservada aos produtos em que a base láctea não contenha gordura e/ou proteínas de origem não láctea (BRASIL, 1996).

As propriedades do concentrado protéico de soro, tais como capacidade de formação de gel, contribuição para a viscosidade, o poder emulsificante e a capacidade de retenção de água faz com que este seja um produto adequado para a produção de alimentos com reduzido teor de gordura (MORR, 1992; LUCCA; TEPPER, 1994).

Diversos autores se dedicaram em avaliar o efeito do uso de concentrado protéico de soro em queijos. Lebeuf; Lacroix e Paquin (1998) avaliaram dois tipos de concentrado protéico de soro, aquecido-desnaturado em pH 4,2 e em pH 6,7, ambos seguidos de microparticulação, para a produção de queijo Cheddar com baixo teor de gordura. Houve um aumento do rendimento e da umidade dos queijos experimentais, quando comparados com o controle. Além disso, as análises de microscopia eletrônica revelaram que o queijo controle tinha uma textura mais compacta em relação aos queijos experimentais.

O uso de leite com baixo teor de gordura incorporado de concentrado protéico de soro (CPS) como substituto de gordura permitiu a produção de um queijo Manchego com características estruturais similares ao queijo produzido com leite integral. Os resultados satisfatórios na estrutura dos queijos foram atribuídos às interações da proteína do soro com a caseína e da proteína com a água (LOBATO-CALLEROS et al., 2001).

Lobato-Calleros et al. (2007) utilizaram óleo de canola emulsificado e o concentrado protéico de soro como substitutos de gordura na produção de queijo fresco, que apresentaram uma estrutura diferente quando comparado com o queijo fresco integral. Quando o CPS predominou, foi produzido um queijo mais denso, compacto e com uma matriz protéica contínua. Diferentemente, quando o óleo de canola emulsificado predominou, foi formada uma matriz protéica mais frouxa.

Sahan et al. (2008) avaliaram o uso do substituto de gordura comercial Simplesse[®] D - 100, constituído de concentrado protéico de soro, na maturação do queijo Kashar com reduzido teor de gordura. Foi observado um aumento do teor de proteína total, da proteólise e uma maior capacidade de retenção da umidade, aumentando o rendimento, em relação ao controle. Os atributos sensoriais também foram melhores para o queijo Kashar adicionado do substituto.

3.5.3.2. Colágeno hidrolisado como substituto de gordura

O colágeno é uma proteína fibrosa responsável pela estrutura e sustentação do tecido de diversos animais, sendo a principal proteína presente na pele, ossos, tendões, cartilagens e dentes. É amplamente utilizado na formulação de alimentos e cosméticos. (FIGUEIRÓ, 2004; KARIM; BHAT, 2008).

O colágeno natural é uma escleroproteína baseada em uma cadeia de polipeptídeos que compreende aproximadamente 1.050 aminoácidos. Três destas cadeias formam um helicóide triplo. A superposição de vários helicóides triplos produz as fibras de colágeno, que são estabilizadas por meio de ligações cruzadas e formam uma estrutura de rede tridimensional. Esta estrutura é a responsável pela insolubilidade do colágeno, que através de uma hidrólise parcial bastante forte é transformado em colágeno solúvel, resultando ou em gelatina, ou em colágeno hidrolisado (GELITA, 2009).

O destaque da proteína colagênica em relação às outras proteínas animais é devido aos altos teores de glicina e prolina e à presença de 4-hidroxiprolina e 5-hidroxilina, além de conter também carboidratos (glicose e galactose) unidos de forma O-glicosídica à cadeia peptídica, por meio da hidroxilisina (BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009).

O colágeno e suas frações têm um importante papel na composição da dieta humana, pois são fontes de fibras nutritivas e de proteína animal. Além disso, seu perfil atípico de aminoácidos estimula a síntese de colágeno nas cartilagens e na matriz extracelular de outros tecidos (NEKLYUDOV, 2003; NICKERSON, 2006).

A gelatina pode ser obtida por hidrólise ácida ou básica e tem a capacidade de se solubilizar em água quente. Desempenha múltiplos papéis funcionais no processamento e na formulação de alimentos, suas propriedades podem ser divididas em dois grupos. O primeiro grupo inclui a capacidade de formar gel, como, por exemplo, texturização, viscosidade, tempo para a formação do gel, estiramento do gel, temperatura de endurecimento e derretimento. O outro grupo está relacionado ao comportamento de superfície da gelatina como, por exemplo, capacidade emulsionante, estabilizante, formação de filme e adesão/coesão (SCHRIEBER; GAREIS, 2007).

Estas propriedades são utilizadas pela indústria de alimentos de diversas formas, tais como clarificador de bebidas, estabilizante de sorvetes, creme de queijo e queijo Cottage, além do uso em tortas, iogurtes, sopas, entre outros (IGOE, 1983, KARIM; BHAT 2008).

O uso de gelatina como substituto de gordura tem sido proposto devido à vantagem de produzir um gel termo reversível a 30 °C (temperatura da boca) e pode melhorar as características na mastigação de queijo com reduzido teor de gordura

(JOHNSON et al., 2009). No entanto, publicações do uso de colágeno, e suas frações, na indústria de alimentos não são abundantes (NEKLYUDOV, 2003).

O uso de proteínas de origem não láctea em queijos não é permitido pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos (BRASIL, 1996). Por outro lado, o estudo do efeito do colágeno em queijos tem demonstrado bons resultados, e se houver comprovação de seus benefícios, poderia ser proposta uma modificação na legislação, permitindo a produção comercial de queijo Prato adicionado de colágeno hidrolisado.

Wolf (2007) analisou a capacidade das fibras de colágeno e do colágeno em pó de formar biofilmes. O pó de colágeno, isoladamente, se mostrou adequado para o desenvolvimento de filmes, apresentando boa coesão e habilidade de manipulação. Contudo, a fibra de colágeno não foi capaz de formar filmes contínuos quando usada isoladamente, mas melhorou as propriedades mecânicas dos filmes, quando em mistura com o colágeno em pó.

Moretti (2009) avaliou a suplementação do leite com diferentes fontes protéicas, entre elas a fibra de colágeno, para a produção de iogurtes. A fibra de colágeno promoveu uma maior retenção de água e menor sinérese, características importantes para o iogurte.

Marfil (2010) realizou estudo reológico e microestrutural de suspensões aquosas de gelatina e amido de milho modificado para possíveis aplicações em alimentos. A melhor combinação obtida em relação à microestrutura foi verificada na utilização de 37,5% de gelatina e 62,5% de amido, quando não foi observada separação de fases.

Ghisleni (2008) avaliou o uso de gelatina (0 - 10g/L) como substituto de gordura na produção de queijo Prato com reduzido teor de gordura, além disso, também foi adicionado micro-organismo probiótico (0 - 0,014g/L) e fibra de trigo (0 - 10g/L). De maneira geral, a presença da gelatina e do probiótico no queijo favoreceram a retenção de umidade e das fibras. Na análise sensorial, os queijos demonstraram boa aceitação.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Caracterização do leite pasteurizado

Para a caracterização do leite pasteurizado comercial utilizado na fabricação dos queijos foi utilizado o equipamento Ekomilk - M (Bulteh 2000 Ltda, Stara - Zagora, Bulgária), que forneceu os teores de proteína, de gordura, de sólidos totais, a água adicionada, o ponto de congelamento e a densidade pela aplicação de ultra-som nas amostras (VENTUROSOSO et al., 2007). As análises foram realizadas em triplicata. Também foram avaliados os valores de acidez, a presença de resíduos de antibióticos e a atividade de fosfatase alcalina, conforme metodologia a seguir:

- Acidez: foi determinada por titulação com NaOH 0,1 N e solução de fenolftaleína como indicador, sendo expressa em °Dornic (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985);
- Presença de antibióticos: foi avaliada utilizando o Teste SnapTM Beta Lactam (IDEXX, Maine, Estados Unidos), conforme citado por Tronco, 1997;
- Teste de fosfatase alcalina: foi utilizado o kit Fosfatase Alcalina (Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda, Pinhais-PR, Brasil), um teste colorimétrico para análise qualitativa de fosfatase alcalina no leite, a fim de verificar a eficiência da pasteurização do leite.

4.2. Planejamento dos ensaios experimentais

As concentrações dos substitutos concentrado protéico de soro e colágeno hidrolisado foram definidas em testes preliminares, através de dois processamentos. No primeiro processamento foram produzidos três queijos, um controle e dois modificados, contendo 0,5% e 1,0% de concentrado protéico de soro. No segundo processamento foram produzidos os queijos controle e os modificados contendo 0,5% e 1,0% de colágeno hidrolisado. Os queijos de ambos os processamentos foram maturados por 30 dias. Após as análises físico-químicas desses queijos, foram definidas as concentrações de 0,5% para o colágeno hidrolisado e 1,0% para o concentrado protéico de soro para a condução do planejamento experimental. Em outra etapa dos estudos preliminares, avaliando os queijos Prato contendo substitutos de gordura de maneira isolada e em conjunto, comparados com o controle, observou-se que o melhor rendimento e

características gerais dos queijos modificados foram obtidos através da combinação de ambos os substitutos.

Assim, o planejamento experimental incluiu três tratamentos: queijo prato integral, queijo Prato *light* e queijo Prato *light* adicionado de substitutos de gordura, concentrado protéico de soro e colágeno hidrolisado, conforme mostra a Tabela 1. O efeito dos tratamentos foi avaliado sobre a composição e qualidade do queijo Prato com baixo teor de gordura, durante a maturação. Foram realizados dois processamentos de cada tratamento.

Tabela 1 - Planejamento dos ensaios experimentais

Tratamentos	Redução do teor de gordura	Adição dos substitutos de gordura
I	-	-
M	Sim	Sim
L	Sim	-

I – Queijo Prato com teor integral de gordura. M – Queijo Prato modificado, *light* com adição de concentrado protéico de soro (1,0%) e colágenos hidrolisado (0,5%). L – Queijo Prato *light* sem adição de substitutos de gordura.

4.3. Fabricação dos queijos

Primeiramente as amostras de leite pasteurizado integral e desnatado, marca Salute Produção e Comércio de Leite Ltda, foram analisados pelo Ekomilk. A padronização da proporção de leite integral e desnatado para a produção do queijo *light* (L) e modificado (M) foi realizada utilizando-se o diagrama de Pearson (TAMIME; ROBINSON, 1999). O teor de gordura presente no leite padronizado foi de 1,5%, a fim de obter um teor de gordura de 18 a 20% no produto final.

Os lotes de leite recebidos tiveram a embalagem higienizada e foram armazenados sob refrigeração para serem utilizados no dia seguinte.

Os queijos foram fabricados manualmente em tanques de aço inox com capacidade de 20 L, na Planta Piloto do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, IBILCE, UNESP. Foram utilizados 18 litros de leite pasteurizado integral para a produção do queijo Prato integral e 18 litros de leite pasteurizado padronizado

para a produção dos queijos Prato *light* e Prato *light* adicionado dos substitutos (modificado). O leite, previamente padronizado no caso dos queijos *light* e modificado, foi colocado nos tanques de fabricação e aquecido até 32°C. Posteriormente, foram adicionados os seguintes coadjuvantes técnicos:

- Cloreto de cálcio: solução a 50%, sendo 0,25 g de cloreto de cálcio/L de leite.
- Cultura láctica: foi utilizada a cultura láctica mista composta por *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, do fornecedor Christian Hansen Indústria e Comércio Ltda. A cultura mista liofilizada R- 704, 50 U foi armazenada sob congelamento. Antes da fabricação dos queijos, a cultura liofilizada foi suspensa em 1 litro de leite integral estéril e distribuída em tubos de ensaio, com adição de 1 mL de glicerol como crioprotetor e assim armazenada sob congelamento. No dia de fabricação a cultura preparada nos tubos de ensaio foi descongelada. Nessas condições, a proporção utilizada foi de 1 mL da cultura preparada para cada litro de leite.
- Corante: foi utilizado corante vegetal comercial extraído do urucum (0,04%).
- Substitutos de gorduras: foram utilizados dois substitutos de gordura Concentrado Protéico de Soro (Kerrylac 750), fornecido pela empresa Kerr do Brasil Ltda, e Colágeno Hidrolisado Alimentício (Colágeno Hidrogel) fornecido pela empresa Gelita do Brasil Ltda. Esses substitutos foram aplicados, respectivamente, na proporção de 1,0% e 0,5% sobre a massa de leite utilizado em cada processamento.
- Coagulante: para a coagulação do leite (32°C/45 min.) foi utilizado o coagulante em pó CHY-MAX[®] obtido da empresa Christian Hansen Indústria e Comércio Ltda (1,6 g/100L de leite).

Após a adição dos ingredientes ocorreu a coagulação em aproximadamente 45 minutos. Posteriormente foi verificado o ponto de corte, através da inserção de uma espátula na massa e formação de uma fenda retilínea. Assim, foi realizado o corte da massa em grãos de aproximadamente 0,3 – 0,5 cm³, através do uso de uma lira vertical e outra horizontal, ambas de aço inox. Em seguida, foi feita a primeira agitação lenta, de 15 minutos, e a dessora de 30%. Posteriormente, adicionou-se a água aquecida a 80 °C, a cada 3 minutos, até que a massa atingisse a temperatura de 40 °C, passando por agitação rápida até a obtenção do ponto de massa. Em seguida, a massa foi dessorada e enformada. A massa de queijo obtida a partir dos 18 litros de leite, de cada tratamento, foi dividida nas formas de maneira a originar 4 queijos, de aproximadamente 450 g. A

massa, nas formas, passou em seguida para a etapa de prensagem, utilizando uma prensa coletiva com peso de aproximadamente 10 kg. Os queijos foram mantidos em uma primeira posição por 30 minutos e posteriormente invertidos, em relação à prensa e em relação aos próprios queijos, ficando na segunda posição por 5 a 7 horas, até a obtenção de pH próximo a 5,2. Após esse período, foi realizada a salga em salmoura, preparada com cloreto de sódio comercial, da marca Cisne, na concentração de 18%, seguida de pasteurização a 72°C por 4 minutos. Em seguida, foi resfriada e filtrada em dessorador. Os queijos com peso médio de aproximadamente 450 gramas foram mantidos na salga por 4 horas. Posteriormente, foram imergidos em solução de sorbato de potássio (20%) por 60 segundos, utilizado como conservante permitido pela legislação na proporção de 1000mg/kg de queijo em ácido sórbico (BRASIL, 1996; FURTADO, 1991). Em seguida os queijos passaram pela secagem de 24 horas em câmara refrigerada do tipo B.O.D., com umidade controlada a 85% e temperatura de 12°C. Após a secagem, os queijos foram embalados a vácuo, em plástico termo-encolhível e armazenados sob as mesmas condições de secagem. Os 4 queijos de cada tratamento foram escolhidos aleatoriamente para serem utilizados para as análises, aos 1, 7, 14 e 28 dias de maturação). A Figura 1 mostra o fluxograma de fabricação do queijo Prato integral e com reduzido teor de gordura, adicionado ou não de substitutos de gordura.

4.4. Caracterização físico-química dos queijos integral, *light* e modificado

A determinação da composição centesimal dos queijos foi realizada em triplicata com 1 dia de fabricação, conforme metodologias descritas a seguir:

- Teor do extrato seco total (EST): determinado pela secagem em estufa a vácuo por 24 horas a 70°C, conforme recomendado pela *American Public Health Association* (CASE; BRADLEY JUNIOR; WILLIAMS, 1985);
- Teor de gordura (G): determinado pelo método de Gerber–Van Gulik (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985);
- Teor de gordura no extrato seco (GES): calculado pela fórmula: $\%GES = (G/EST) \times 100$;
- Teor de cinzas: determinado por incineração em mufla a 550 °C (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985);

- Teor de sal: determinado pelo método de doseamento nas cinzas (SILVA et al., 1997).

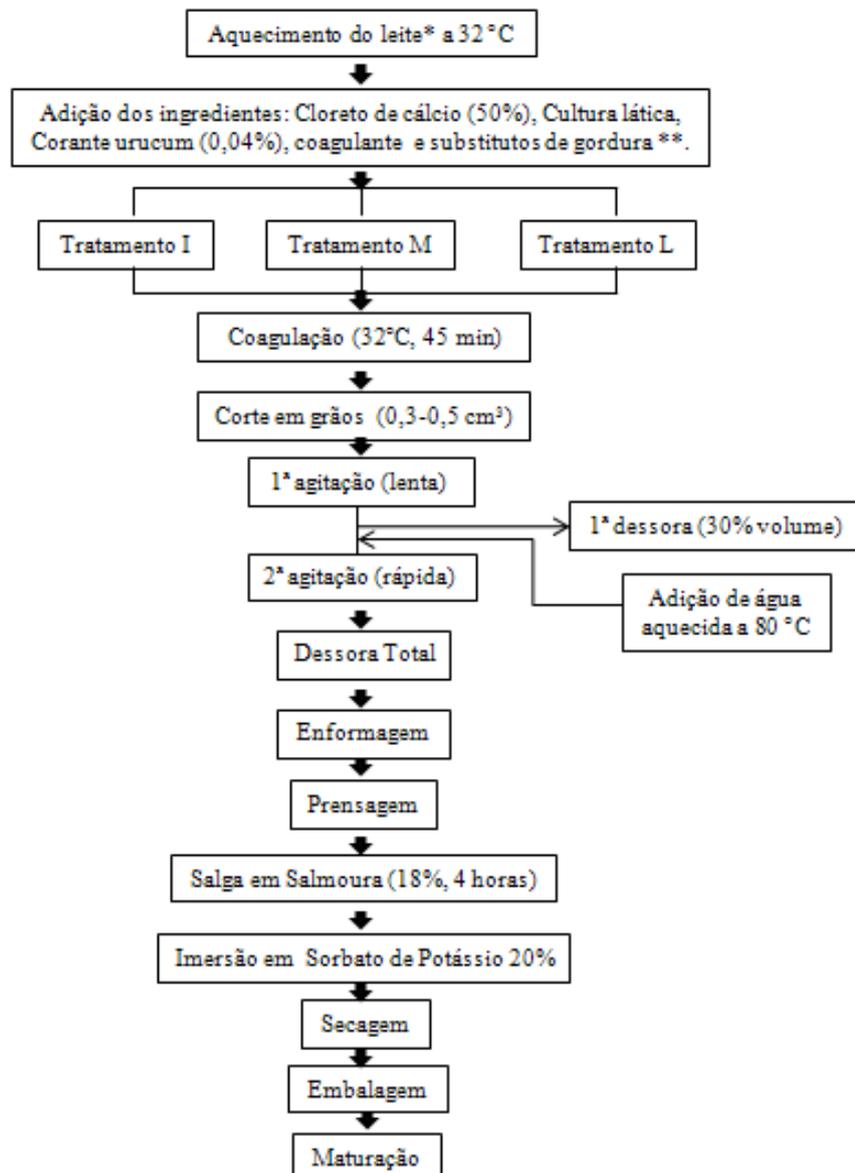


Figura 1 - Fluxograma do processamento de queijo Prato. I – Queijo com teor integral de gordura. M – Queijo Prato modificado, queijo Prato *light* com adição de concentrado protéico de soro e colágenos hidrolisado. L – Queijo Prato *light*, sem adição de substitutos de gordura. * Para os ensaios M e L foi utilizado leite pasteurizado padronizado a 1,5% de gordura e para o ensaio I foi utilizado somente o leite integral. ** Os substitutos de gordura foram utilizados apenas no tratamento M.

As análises de acidez, teores de nitrogênio solúvel em pH 4,6 e em TCA 12% e nitrogênio total foram realizadas em triplicata após 1, 7, 14, e 28 dias de fabricação, a fim de avaliar a maturação dos queijos, conforme metodologia a seguir:

- Acidez: determinada por titulação com NaOH 0,1 N (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985);
- Teor de nitrogênio solúvel em pH 4,6 (NS pH 4,6) ou nitrogênio não caseíco (NNC): determinado pela dosagem do nitrogênio total no filtrado obtido após precipitação isoelétrica das caseínas (SILVA et al., 1997).
- Teor de nitrogênio solúvel em TCA 12% (NS TCA) ou nitrogênio não protéico (NNP): determinado pela dosagem de nitrogênio total no filtrado obtido após precipitação da totalidade das proteínas em presença do ácido tricloroacético a 12% (SILVA et al., 1997).
- Teor de proteína (PT): calculado multiplicando-se o valor do nitrogênio total, determinado pelo método de Kjeldahl, por 6,38 (AOAC-ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1997);
- Relação entre NS pH 4,6 e nitrogênio total (WOLFSCHOON-POMBO, 1983);
- Relação entre NS TCA 12% e nitrogênio total (WOLFSCHOON-POMBO, 1983);

4.5 Caracterização do rendimento dos queijos integral, *light* e modificado

O rendimento dos queijos (kg de queijo/100L de leite) foi calculado pela relação entre a massa de queijo obtida e a massa de leite utilizada.

4.6. Caracterização do perfil de textura dos queijos integral, *light* e modificado

O perfil de textura dos queijos foi avaliado após 1, 7, 14 e 28 dias de maturação utilizando-se o texturômetro TA-XT2 (Stable Micro Systems, Haslemere, Inglaterra). As amostras de queijo foram cortadas em formato cilíndrico, com 2,5 cm de diâmetro e 2,0 cm de altura. O procedimento adotado foi o de dupla compressão, utilizando-se um cilindro de acrílico (probe) de 4,5 cm de diâmetro, com velocidade de deslocamento de 2,0 mm/s e distância percorrida de 6,0 mm. Foram determinados os seguintes parâmetros: dureza, elasticidade e coesividade (GONZÁLEZ; GIOIELLI; OLIVEIRA, 1998; GARCIA, 2007).

4.7. Capacidade de derretimento dos queijos integral, *light* e modificado

A capacidade de derretimento (CD) foi determinada após 1, 7, 14 e 28 dias de maturação, em triplicata, pelo método modificado de Schreiber, conforme descrito por Kosikowski e Mistry (1997). Foi cortado um cilindro de 36 mm de diâmetro e com o auxílio de um fatiador, foram cortados discos de 5 mm de espessura. As fatias foram colocadas em placas de Petri divididas em 8 áreas iguais por meio de diâmetros. Foram medidos 8 diâmetros iniciais (D_i) da amostra e as placas foram transferidas para a estufa a 130°C por 10 minutos (NONOGAKI; MONTEIRO; GIGANTE, 2004; NARIMATSU et al., 2003). Posteriormente, as placas foram deixadas por 30 minutos à temperatura ambiente e os diâmetros finais (D_f) de cada amostra foram medidos.

A capacidade de derretimento foi calculada por meio da equação:

$$CD (\%) = \frac{D_f^2 - D_i^2}{D_i^2} \times 100$$

4.8. Caracterização do perfil eletroforético em gel de poliacrilamida (Urea – PAGE).

As amostras dos queijos integral, *light* e modificado foram coletadas após 1, 7, 14 e 28 dias de maturação e congeladas para posterior avaliação. A eletroforese em gel de poliacrilamida (Urea- PAGE) foi realizada utilizando-se uma cuba de eletroforese vertical Omniphor usando o método descrito por Shalabi e Fox (1987). Os extratos para eletroforese foram preparados dissolvendo-se 20 mg de amostra em 1 mL de tampão, preparado a partir de 1,50 g de tris-hidroximetil aminometano (TRIS) e 84 g de uréia em 150 mL de água destilada, adicionado de ácido clorídrico até pH 6,7, para um volume final de 200 mL. As amostras foram aquecidas em banho-maria, a 37 °C por 1 hora, após, foi adicionado 5 µL de β-mercaptoetanol, seguido de aquecimento a 37 °C por 45 minutos.

Finalmente, foi adicionada uma pequena quantidade de azul de bromofenol. Foram aplicados 5 µL das amostras no gel, sendo estas separadas com 100 V, até o

corante azul de bromofenol atingir o final do gel. Os géis foram corados com solução de *Brilliant Blue Colloidal*, por 24 h e descorados com água destilada.

4.9. Análise estatística dos resultados experimentais

Os resultados experimentais foram submetidos inicialmente ao teste de homogeneidade das variâncias, através do teste de Levene, quando o resultado foi $P > 0,05$, seguiu-se para verificar a normalidade dos resíduos, através do teste de Anderson-Darling. Quando a normalidade também apresentou $P > 0,05$, utilizou-se o teste paramétrico ANOVA com comparação das médias pelo teste de Tukey para comparar os resultados experimentais. Contudo, quando não houve homogeneidade ou a normalidade nos resultados, realizou-se o teste não-paramétrico Kruskal-Wallis, com comparação das medianas pelo teste de Dunn. Foram utilizados os programas estatísticos Instat 3 e Minitab 15.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização do leite pasteurizado

A maioria dos valores encontrados para a composição centesimal das amostras de leite atende aos requisitos estabelecidos no Regulamento Técnico de Identidade de Qualidade de Leite Pasteurizado tipo A, anexo 5 da Instrução Normativa n. 51 (BRASIL, 2002).

Os resultados da avaliação do leite integral, utilizado na fabricação dos queijos Prato integral, e do leite padronizado, utilizado na fabricação dos queijos Prato *light* e modificado, estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Caracterização das amostras de leite, médias para os parâmetros avaliados no leite pasteurizado integral (I) e padronizado (P)¹.

Análises	I 1	I 2	P 1	P 2
SNG* (%)	8,34 ^b ±0,01	8,29 ^c ±0,01	8,69 ^a ±0,01	8,70 ^a ±0,01
Proteína (%)	3,04 ^b ±0,01	3,03 ^c ±0,01	3,17 ^a ±0,01	3,16 ^a ±0,01
Gordura (%)	3,21 ^b ±0,01	3,48 ^a ±0,01	1,54 ^c ±0,01	1,53 ^c ±0,01
Densidade (g/cm³)	1,030 ^b ±0,00	1,029 ^c ±0,00	1,033 ^a ±0,00	1,033 ^a ±0,00
Água adicionada (%)	0,00 ^a ±0,00	0,00 ^a ±0,00	0,00 ^a ±0,01	0,00 ^a ±0,01
PC** (°H)	-0,50 ^b ±0,00	-0,49 ^c ±0,00	-0,52 ^a ±0,00	-0,52 ^a ±0,00
Acidez (°D)	13,43 ^a ±0,17	13,48 ^a ± 0,10	13,71 ^a ±0,20	13,37 ^a ±0,10
pH	6,71 ^b ±0,01	6,93 ^a ±0,01	6,69 ^b ±0,01	6,93 ^a ±0,02
Presença de antibiótico	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Fosfatase alcalina	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

^{a, b, c} Letras iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si ($P \geq 0,05$).

* SNG: Sólidos não gordurosos. ** PC: Ponto de congelamento. ¹I 1 e P 1: leite utilizado na primeira repetição de processo. I 2 e P 2: leite utilizado na segunda repetição de processo

Na composição centesimal apenas os SNG e acidez, apresentaram valores ligeiramente mais baixos ao mínimo estabelecido, de 8,4% e 14 °D, respectivamente, para o leite pasteurizado (BRASIL, 2002).

Não foram detectados resíduos de antibióticos e a atividade de fosfatase alcalina foi negativa nas amostras. Dessa forma, a pasteurização utilizada atingiu a temperatura mínima exigida, pois a enzima fosfatase alcalina é termo-sensível a essa temperatura (FOX; McSWEENEY, 1998). Segundo Brasil (1997), o queijo Prato deve ser fabricado a partir de leite pasteurizado, por isso, a importância de verificar a presença dessa enzima. A constatação da ausência de antibióticos no leite também é importante, pois permite o adequado desenvolvimento das bactérias lácticas, que interferem nas características de acidez, pH e no sabor característico do queijo.

As diferenças observadas na composição centesimal e nas características químicas das amostras de leite utilizadas na fabricação dos queijos são consideradas comuns em processamento industrial de leite e derivados. Dessa maneira, as amostras de leite foram consideradas adequadas para a produção de queijo Prato.

A semelhança entre a maioria dos parâmetros verificados nas amostras de leite para o primeiro e o segundo processamento permitiu a análise conjunta dos queijos processados com leite de dois lotes diferentes.

5.2. Análises físico-químicas dos queijos

5.2.1. Composição centesimal

. A Tabela 3 apresenta a composição centesimal dos queijos: integral, *light* e modificado. A composição centesimal demonstrou algumas diferenças entre os queijos produzidos, principalmente comparando o queijo integral com aqueles com reduzido teor de gordura

Tabela 3 – Medianas dos parâmetros da composição centesimal dos queijos I (queijo Prato integral), M (queijo Prato modificado, *light* com adição de 0,5% de colágeno hidrolisado e 1,0% de concentrado protéico de soro) e L (queijo Prato *light*).

Análises (%)	I	M	L	Valor P
Umidade	46,12 ^b	49,65 ^a	46,82 ^{ab}	0,002
Gordura	29,50 ^a	17,00 ^b	18,75 ^{ab}	0,001
GES*	55,22 ^a	33,86 ^b	35,29 ^{ab}	0,001
Proteína Total	20,55 ^b	27,13 ^{ab}	28,28 ^a	0,001
PES**	38,16 ^b	53,64 ^a	53,14 ^a	0,003
Nitrogênio	3,22 ^b	4,26 ^{ab}	4,43 ^a	0,001
Cinzas	3,50 ^b	4,43 ^a	4,44 ^a	0,003
Sal	1,33 ^a	1,40 ^a	1,37 ^a	0,391
SU***	2,88 ^a	2,82 ^a	2,93 ^a	0,849

^{a, b, c} Os valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente entre si ($P \geq 0,05$).

* GES - Gordura no Extrato Seco. ** PES - Proteína no Extrato Seco. ***SU – Sal na umidade.

Em todos os tratamentos, o teor de umidade dos queijos foram maiores, que os valores estabelecidos pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo Prato, de 42 a 44% (BRASIL, 1997). Esses resultados podem ter sido influenciados pelas características de processamento, como pH, agitação e aquecimento da massa, pela prensagem manual da massa, e também pela capacidade de retenção de água da massa com a adição de substitutos de gordura.

O maior teor de umidade foi observado no queijo M, demonstrando que o colágeno hidrolisado e o CPS, como têm elevada capacidade de retenção de água, contribuíram para incorporar a umidade no queijo. Não houve diferença de umidade entre os queijos I e L e entre os queijos M e L..

Diversos autores observaram aumento do teor de umidade em queijos com a adição de substitutos de gordura em diferentes tipos de queijo. Lobato-Calleros (2001) utilizou concentrado protéico de soro em queijo Manchego com reduzido teor de gordura, Haque; Kuçukoner e Aryana (2007) utilizaram substitutos à base de proteína (Dairy Lo e Simplese) e de carboidrato (Novagel e Stellar) em queijo Cheddar com reduzido teor de gordura e Sahan et al. (2008) utilizou Simplese[®] D - 100, constituído de concentrado protéico de soro, na maturação do queijo Kashar com reduzido teor de

gordura. Adicionalmente, o concentrado protéico de soro, quando adicionado em queijos também contribui para o aumento da umidade em queijos (HINRICHS, 2001).

De maneira geral, em queijo *light* é importante o uso de aditivos que permitam a incorporação de água na matriz do queijo, pois isso representa uma maneira de diminuir a dureza, típica de queijo com baixo teor de gordura (MISTRY, 2001; BANKS, 2004).

Em queijo Prato *light*, Ghisleni (2008) observou que a gelatina, uma proteína obtida a partir de colágeno, apresentou maior capacidade de retenção de umidade, quando comparado ao queijo controle, com reduzido teor de gordura.

Com a redução do teor de gordura os queijos foram classificados como produtos *light*, pois houve mais de 25% de redução em relação ao teor integral de gordura médio de um queijo Prato, que é de 28% (BRASIL, 1998). Os valores de redução observados foram de 39,26% para o queijo Prato modificado e de 33,03% para o queijo Prato *light*.

Esses resultados foram próximos aos obtidos para queijo Prato (controle) com reduzido teor de gordura por Garcia (2007) e Silva (2006). Em outros estudos, Barros (2005) e Ghisleni (2008) produziram queijo Prato *light* com maior redução no teor de gordura, pela utilização de leite padronizado com teores de gordura inferiores a 1,5%.

Embora o leite utilizado na fabricação dos queijos L e M tenham a mesma origem e mesmo teor de gordura, foram observados diferentes níveis de redução do teor de gordura entre esses queijos. Essas diferenças podem ser explicadas por possíveis perdas de gordura no soro, pela maior incorporação de umidade e má distribuição da gordura na massa dos queijos (FURTADO, 1999; GARCIA, 2007).

O teor de proteína total e PES foram maiores para os queijos com reduzido teor de gordura comparados ao integral, sem diferença significativa entre os queijos *light* e o *light* com adição de CPS e colágeno hidrolisado (modificado). O maior teor protéico em queijo com reduzido teor de gordura, em comparação com a versão integral, é uma característica comum, pois a redução de gordura resulta em aumento proporcional no conteúdo de proteína (BANKS, 2004). Resultados semelhantes foram observados por outros autores em diferentes tipos de queijos (LOBATO-CALLEROS, 2001; HAQUE; ARYANA, 2007; SAHAN et al., 2008).

Embora os substitutos de gordura utilizados sejam de fonte protéica, não foi observado aumento do teor protéico do queijo modificado em relação ao teor de proteína do queijo *light*, sem adição de substituto, provavelmente pela baixa concentração utilizada. Resultados semelhantes foram obtidos por Haque; Kuçukoner e

Aryana (2007), para queijo Cheddar contendo dois substitutos de gordura comerciais de composição protéica, Dairy Lo e Simplese. Os queijos que continham os substitutos não apresentaram diferenças estatísticas significativas, no teor protéico, quando comparados ao controle, indicando que a adição do substituto não contribuiu com o aumento no teor de proteína dos queijos.

Os teores de proteína total observados foram próximos daqueles encontrados por Ghisleni (2008) para queijo Prato *light* adicionado de gelatina, fibras e culturas adjuntas, por De Rensis; Petenate; Viotto (2009) para queijo Prato *light* comercial e Barros (2005) em queijo Prato *light* adicionado de cultura adjunta.

Não houve diferença significativa para os teores de sal e de sal na umidade entre os três tratamentos. Segundo Furtado e Lourenço Neto (1994), a quantidade de sal do queijo Prato deve estar entre 1,6-1,9%, assim, os valores encontrados foram menores na maioria dos ensaios. Teores ainda menores foram relatados por Cichoski et al. (2002), 0,86 a 1,03%, em queijo Prato artesanal. Valores próximos foram relatados por De Rensis, Petenate e Viotto (2009), em queijos Prato comerciais com teores de gordura reduzidos, contudo, o teor do sal na umidade nesses queijos foi menor que os valores observados.

5.2.2. Acidez

A Figura 2 apresenta a evolução dos valores de acidez dos três tratamentos ao longo do período de maturação. A Tabela 4 apresenta a análise estatística do efeito dos tratamentos e do tempo de cura.

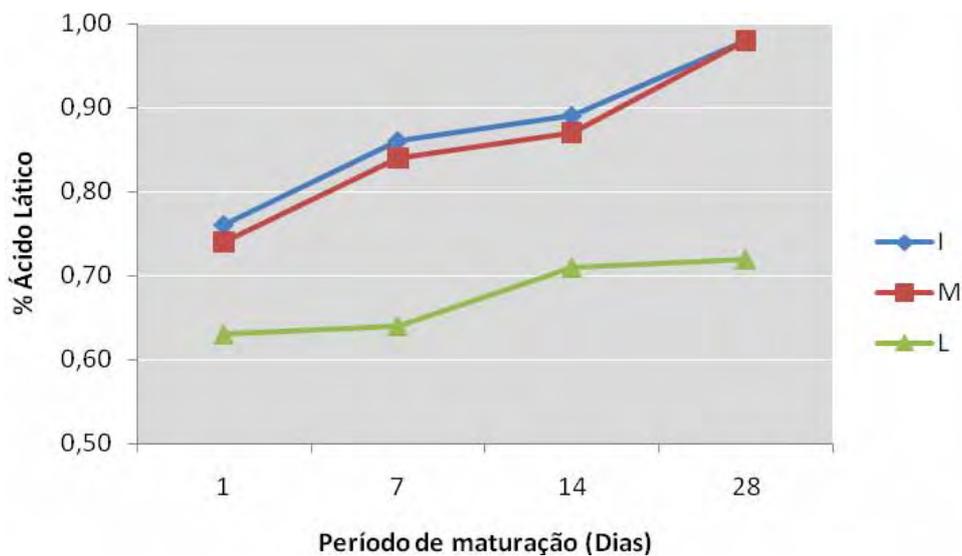


Figura 2 – Evolução da acidez dos queijos I (queijo Prato integral), M (queijo Prato modificado, *light* com adição de 0,5% de colágeno hidrolisado e 1,0% de concentrado protéico de soro) e L (queijo Prato *light*) ao longo do período de maturação.

Tabela 4: Mediana dos valores de acidez titulável dos queijos I (queijo Prato integral), M (queijo Prato modificado, *light* com adição de 0,5% de colágeno hidrolisado e 1,0% de concentrado protéico de soro) e L (queijo Prato *light*) ao longo do período de maturação.

Dias de Análise	Processamentos			Valor P*
	I	M	L	
1	0,7646 ^{aB}	0,7398 ^{abB}	0,6351 ^{bC}	0,001
7	0,8682 ^{aAB}	0,8456 ^{aAB}	0,6378 ^{bBC}	0,003
14	0,8811 ^{aAB}	0,8643 ^{aAB}	0,7049 ^{bAB}	0,003
28	0,9791 ^{aA}	0,9830 ^{aA}	0,7242 ^{bA}	0,003
Valor P **	<0,001	<0,001	0,001	

^{a, b, c} Letras iguais na mesma linha e ^{A, B, C} Letras iguais na mesma coluna não diferem entre si ($P \geq 0,05$). * Valor P – comparação entre os tratamentos. ** Valor P – comparação entre o tempo de maturação, para um mesmo tratamento.

Em todos os tratamentos foi observado um aumento da acidez ao longo do período de maturação dos queijos. Outros autores observaram o mesmo comportamento no queijo Prato, sendo este integral (CICHOSCKI et al., 2002; AUGUSTO, 2003) ou com reduzido teor de gordura (SILVA, 2005; GARCIA et al., 2009; GHISLENI, 2008). Essa evolução é comum devido à ação das bactérias lácticas, que produzem o ácido láctico, ao metabolizar a lactose residual presente no queijo através da glicólise (FOX et al., 1993; SCOTT; ROBINSON; WILBEY, 1998).

Os maiores valores da acidez foram observados para os queijos I e M, que apresentaram comportamento semelhante. Para o queijo L os valores foram menores durante toda a maturação. O desenvolvimento das bactérias lácticas é favorecido pela umidade, além disso, outros fatores, como o teor de sal, podem interferir no desenvolvimento das bactérias lácticas.

De maneira geral, os teores de acidez foram próximos àqueles obtidos por Silva (2005), que encontrou variação de 0,62 a 0,81% para queijo Prato *light* comercial e Garcia (2009), que encontrou valores de 0,49 a 1,76%, na produção de queijo Prato com reduzido teor de gordura e adicionado de enzimas. Essas diferenças podem ser decorrentes das variações das matérias primas e dos processamentos.

5.2.3. Proteólise

5.2.3.1 Relação entre NS pH 4,6 e nitrogênio total

A Figura 3 demonstra a proteólise ao longo do período de maturação, quantificada pela relação entre NS pH 4,6 e nitrogênio total para os três tratamentos. A Tabela 5 mostra a análise estatística do efeito dos tratamentos e do tempo de cura.

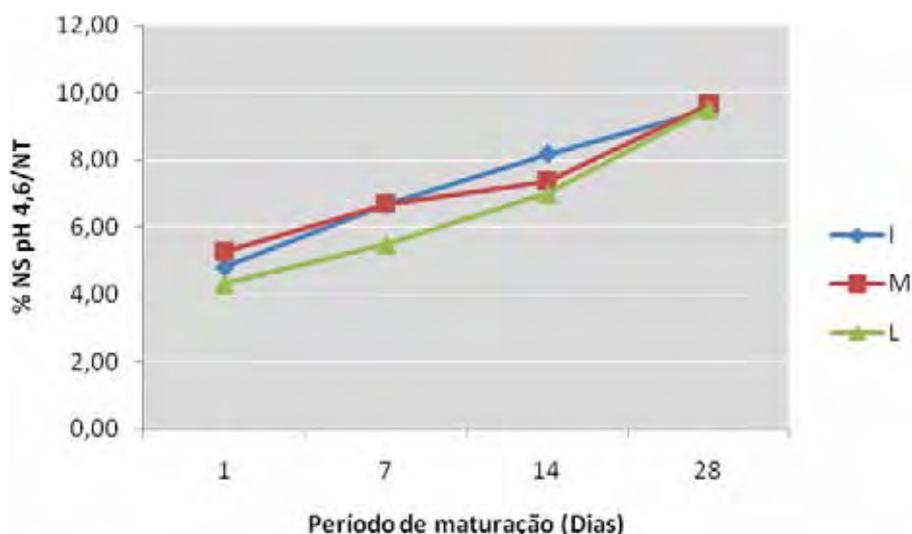


Figura 3 – Evolução da relação entre NS pH 4,6 e nitrogênio total dos queijos I (queijo Prato integral), M (queijo Prato modificado, *light* com adição de 0,5% de colágeno hidrolisado e 1,0% de concentrado protéico de soro) e L (queijo Prato *light*) ao longo do período de maturação.

Em todos os queijos foi observado um aumento da proteólise durante a maturação. Esse comportamento ocorre devido à ação das enzimas proteolíticas naturais do leite e do coalho residual sobre as proteínas do queijo, principalmente a caseína, resultando em peptídeos de alto peso molecular, processo que caracteriza a proteólise primária (NARIMATSU et al. 2003; MORENO et al. 2002). O aumento gradativo da extensão da proteólise em queijo Prato, na maioria das vezes, estatisticamente significativo, também foi observado por outros autores como Gorostiza et al. (2004), Mazal (2005), Barros (2005), Ghisleni (2008) e Garcia (2009).

Tabela 5 - Mediana dos valores obtidos para a relação entre NS pH 4,6 e nitrogênio total dos queijos I (queijo Prato integral), M (queijo Prato modificado, *light* com adição de 0,5% de colágeno hidrolisado e 1,0% de concentrado protéico de soro) e L (queijo Prato *light*) ao longo do período de maturação.

Dias de Análise	Processamentos			Valor P *
	I	M	L	
1	4,805 ^{abC}	5,305 ^{aB}	4,255 ^{bC}	0,004
7	6,600 ^{aBC}	6,695 ^{aAB}	5,490 ^{aBC}	0,117
14	8,110 ^{aAB}	7,340 ^{aAB}	6,965 ^{aAB}	0,191
28	9,475 ^{aA}	9,690 ^{Aa}	9,510 ^{aA}	0,431
Valor P **	< 0,001	< 0,001	< 0,001	

^{a, b, c} Letras iguais na mesma linha e ^{A, B, C} Letras iguais na mesma coluna não diferem entre si ($P \geq 0,05$). * Valor P – comparação entre os tratamentos. ** Valor P – comparação entre o tempo de maturação, para um mesmo tratamento.

No início da maturação os tratamentos I e M apresentaram comportamento semelhante para a relação entre NS pH 4,6 e nitrogênio total. O tratamento L apresentou valores inicialmente diferentes, mas ao longo na maturação esses valores se aproximaram daqueles verificados nos tratamentos I e M.

A estrutura e o acesso aos sítios de clivagem da caseína na matriz do queijo determinam a velocidade e a extensão da proteólise (FARKYE, 1995). Além disso, outros fatores podem interferir na proteólise como a composição do queijo, principalmente a umidade, o teor de sal e o pH do queijo e também a temperatura de maturação (FOX et al., 1993; SCOTT; ROBINSON; WILBEY, 1998). A análise estatística dos valores da relação NS pH 4,6 e nitrogênio total não demonstrou diferença entre os tratamentos, na maioria dos dias de análise, apesar de haver diferença no teor de umidade dos queijos. Os resultados demonstram que o uso dos substitutos de gordura não promoveu alterações significativas na formação de peptídeos de alto peso molecular.

Os valores finais da relação entre NS pH 4,6 e nitrogênio total foram próximos daqueles obtidos por De Rensis; Petenate e Viotto (2009) em queijo Prato *light* comercial e por Barros (2005), em queijo Prato *light* adicionado de culturas adjuntas. Contudo, a proteólise foi ligeiramente menor que a obtida por Gorostiza et al. (2004), em queijos Prato artesanais.

5.2.3.2. Relação entre NS TCA 12% e nitrogênio total

A Figura 4 demonstra a proteólise ao longo do período de maturação, quantificada pela relação entre NS TCA 12% e nitrogênio total para os três tratamentos. A Tabela 6 mostra a análise estatística do efeito dos tratamentos e do tempo de cura.

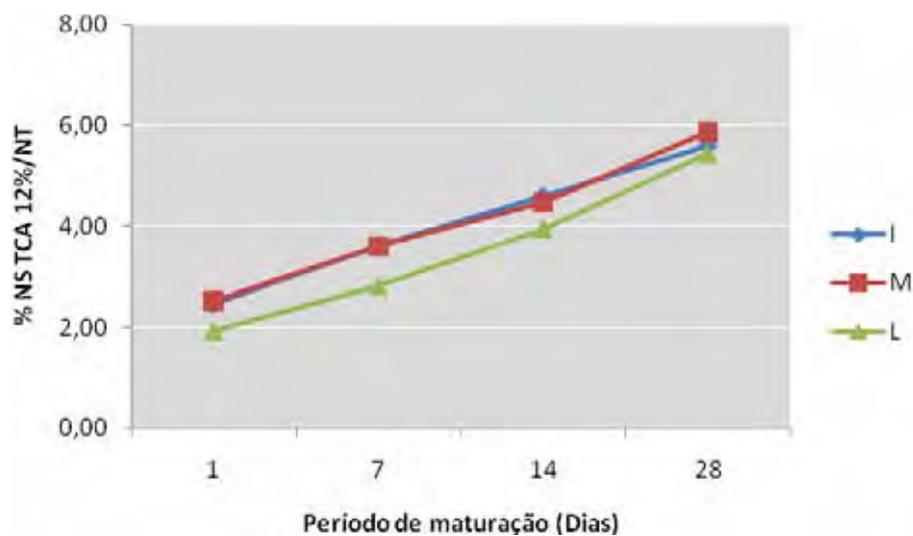


Figura 4 – Evolução da relação entre NS TCA 12% e nitrogênio total dos queijos I (queijo Prato integral), M (queijo Prato modificado, *light* com adição de 0,5% de colágeno hidrolisado e 1,0% de concentrado protéico de soro) e L (queijo Prato *light*) ao longo do período de maturação.

Tabela 6 - Mediana dos valores obtidos para a relação entre NS TCA 12% e nitrogênio total dos queijos I (queijo Prato integral), M (queijo Prato modificado, *light* com adição de 0,5% de colágeno hidrolisado e 1,0% de concentrado protéico de soro) e L (queijo Prato *light*) ao longo do período de maturação.

Dias de Análise	Processamentos			Valor P*
	I	M	L	
1	2,420 ^{aC}	2,525 ^{aC}	1,945 ^{bC}	0,003
7	3,565 ^{aBC}	3,580 ^{aBC}	2,850 ^{bBC}	0,003
14	4,555 ^{aAB}	4,500 ^{aAB}	3,955 ^{bAB}	0,007
28	5,595 ^{aA}	5,945 ^{aA}	5,465 ^{aA}	0,071
Valor P **	< 0,001	< 0,001	< 0,001	

^{a, b, c} Letras iguais na mesma linha e ^{A, B, C} Letras iguais na mesma coluna não diferem entre si ($P \geq 0,05$). * Valor P – comparação entre os tratamentos. ** Valor P – comparação entre o tempo de maturação, para um mesmo tratamento.

A Figura 4 e a Tabela 6 demonstram que nos três tratamentos houve aumento da proteólise (NS TCA 12%/NT) durante o período de maturação. Esse aumento também foi observado por outros autores como Gorostiza et al. (2004), Mazal (2005), Barros (2005), Ghisleni (2008) e Garcia et al. (2009) em queijo Prato. Esse comportamento ocorre principalmente devido à atividade das enzimas peptidases da cultura láctica e das bactérias naturalmente presentes no leite, sobre os peptídeos de alto peso molecular, originários da proteólise primária, resultando em peptídeos de baixo peso molecular, caracterizada como proteólise secundária (NARIMATSU et al. 2003; MORENO et al. 2002).

A evolução da relação entre NS TCA 12% e nitrogênio total foi semelhante entre os tratamentos I e M ao longo do período de maturação. Para o tratamento L, os valores foram inferiores aos dos tratamentos I e M até 14 dias de maturação, mas não diferiu dos tratamentos I e M aos 28 dias de maturação. Portanto, a adição de colágeno e concentrado protéico de soro não promoveu alterações na produção de peptídeos de baixo peso molecular.

No final da maturação (28 dias), os valores finais da relação entre NS TCA 12% e nitrogênio total foram um pouco maiores que aqueles obtidos por De Rensis, Petenate e Viotto (2009) em queijo Prato *light* comercial e próximos aos verificados por Barros (2005), em queijo Prato *light* adicionado de culturas adjuntas. Contudo, os resultados

obtidos foram ligeiramente menores que aqueles obtidos por Gorostiza et al. (2004), em queijos Prato artesanais.

5.3. Rendimento

Houve diferença no rendimento dos queijos quando se fez a comparação entre os tratamentos. O maior rendimento, $10,35 \pm 0,15$ kg queijo/100 kg leite foi verificado para o tratamento I. Entre os queijos com reduzido teor de gordura o rendimento obtido foi de $8,55 \pm 0,09$ kg queijo/100 kg leite para o queijo o tratamento M e de $7,72 \pm 0,18$ kg queijo/100 kg leite para o tratamento L.

Segundo Furtado e Lourenço Neto (1994), o rendimento do queijo Prato deve ser próximo de 9,0 a 9,5 litros de leite/kg de queijo. Assim, o rendimento observado para o tratamento I, queijo integral, foi superior ao relatado na literatura.

Os queijos com reduzido teor de gordura apresentam rendimento inferior, pois esse componente representa, geralmente, mais de 50% do peso seco. Dentre os queijos produzidos com reduzido teor de gordura, o maior rendimento verificado para o tratamento M deve estar relacionado ao elevado teor de umidade observado nos queijos. Essa maior umidade foi proporcionada, provavelmente, pela adição dos substitutos de gordura, CPS e colágeno hidrolisado, que apresentam elevada capacidade de retenção da umidade. O mesmo comportamento foi observado na adição de substitutos de gordura em outros queijos (DRAKE; SWANSON, 1995; MISTRY, 2001; LOBATO-CALLEROS, 2000; HAQUE; KUÇUKONER; ARYANA, 2007; SAHAN et al. 2008).

Quanto maior a umidade, maior o rendimento final observado no queijo. No entanto, o valor elevado de umidade pode provocar reações como a aceleração da maturação, alteração na consistência do produto e diminuição de sua vida útil (KOSIKOWSKI; MISTRY, 1997; FURTADO, 1999).

Os valores de rendimento observados foram próximos aos relatados por Ghisleni (2008), que variaram de 8,75 a 9,40 kg queijo/ 100 kg de leite, em queijo Prato com reduzido teor de gordura adicionado de gelatina, fibra de trigo e cultura adjunta.

5.4. Capacidade de derretimento

Não foi possível verificar uma tendência clara na capacidade de derretimento (Tabela 7). De maneira geral, a maior capacidade de derretimento foi observada para os queijos *light* seguido dos *light* com adição de CPS e colágeno hidrolisado (modificado). A pior capacidade de derretimento foi verificada no queijo integral, embora o teor de gordura fosse mais elevado, o que deveria ter auxiliado no derretimento (BANKS, 2004).

Tabela 7 – Média dos valores obtidos para a capacidade de derretimento (%) dos queijos I (queijo Prato integral), M (queijo Prato modificado, *light* com adição de 0,5% de colágeno hidrolisado e 1,0% de concentrado protéico de soro) e L (queijo Prato *light*) ao longo do período de maturação.

Dias de Análise	Processamentos			Valor P *
	I	M	L	
1	2,18 ± 2,40 ^{bA}	7,84 ± 6,09 ^{abA}	11,76 ± 3,63 ^{aA}	0,014
7	1,05 ± 2,60 ^{bA}	7,85 ± 6,49 ^{abA}	12,66 ± 8,61 ^{aA}	0,042
14	0,59 ± 3,82 ^{bA}	6,60 ± 5,23 ^{abA}	20,11 ± 13,71 ^{aA}	0,012
28	1,68 ± 2,26 ^{aA}	2,74 ± 2,05 ^{aA}	4,74 ± 5,73 ^{aA}	0,448
Valor P **	0,825	0,397	0,908	

a, b, c Letras iguais na mesma linha e ^{A, B, C} Letras iguais na mesma coluna não diferem entre si ($P \geq 0,05$). *Valor P – comparação entre os tratamentos. ** Valor P – comparação entre o tempo de maturação, para um mesmo tratamento.

De acordo com a Tabela 7, é possível observar que o desvio padrão foi bastante alto em todas as amostras de queijo ao longo do período de maturação. Esse desvio pode ter sido intensificado pela análise de queijos que, embora fossem provenientes de uma mesma massa, podem apresentar diferenças, pois esta massa foi dividida em quatro partes a partir da prensagem, o que pode ter promovido diferenciações nos queijos de um mesmo lote. A mesma metodologia para avaliar a capacidade de derretimento originou elevados desvios padrões nos resultados verificados por Garcia (2010) e Merheb-Dini (2010).

Um dos fatores de interferência na capacidade de derretimento é a proteólise, responsável pelo enfraquecimento da rede protéica, principalmente da α_{s1} -caseína, afetando na capacidade de derretimento do queijo, que aumenta significativamente (TUNICK et al. 1993; ROWNEY et al. 1999). Entretanto, o queijo integral e o queijo modificado apresentaram proteólise semelhante e capacidade de derretimento diferente. O queijo *light* foi justamente aquele que apresentou valores mais baixos de proteólise nos primeiros dias de análise, apesar de ter apresentado os maiores valores para capacidade de derretimento. Portanto, não foi possível fazer uma relação entre a proteólise e a capacidade de derretimento dos queijos neste experimento.

Outra possível interferência na capacidade de derretimento é a hidratação da matriz protéica. Após a salga do queijo, possivelmente ocorre uma reorganização da matriz protéica, com subsequente absorção de água em vacúolos durante a maturação. Assim, parte da água fica fisicamente retida entre sub-agregados de proteína que formam a estrutura básica da matriz protéica. Dessa maneira, a rede protéica torna-se mais hidratada e as interações entre proteínas são substituídas por interações entre proteína e água, fazendo com que o derretimento do queijo ocorra mais facilmente. Paralelamente, a proteólise também favorece a hidratação da matriz, pois a hidrólise de ligações peptídicas libera dois novos grupos carregados, $\text{NH}_3^+/\text{COO}^-$, que competem pela água, possibilitando as interações proteína – água, favorecendo o derretimento (LAWRENCE; CREAMER; GILLES, 1987; McMAHON; FIFE; OBERG, 1999; O' MAHONY; LUCEY; McSWEENEY, 2005).

Assim, como o tratamento I e L apresentaram queijos com umidades semelhantes seria esperado um comportamento de derretimento semelhante e inferior ao tratamento M, que apresentou maior umidade, mas a capacidade de derretimento não apresentou uma relação com o teor de umidade.

Além desses fatores, a capacidade de derretimento também pode ser influenciada pelo pH do queijo (GUINEE; AUTY; FENELON, 2000). Kindstedt et al. (2001) relataram que, em Mozzarella o pH interfere fortemente nas interações proteína - umidade e, conseqüentemente, no derretimento do queijo, uma vez que a capacidade de derretimento se perde em valores de pH abaixo de 5,0, devido à redução na solubilidade das caseínas (GE; ALMENA-ALISTE; KINDSTEDT, 2002; PASTORINO; HANSEN; McMAHON, 2003).

Outra possível interferência seria o teor de cálcio, que não foi quantificado. O cálcio é importante para controlar as interações de proteínas na matriz do queijo. Um teor reduzido de cálcio aumenta a hidratação da proteína, então ocorrem poucas interações entre as moléculas de proteínas. Assim, uma energia menor é necessária para romper essas interações quando aquecidos, resultando em um melhor derretimento (PAULSON; McMAHON; OBERG, 1998).

5.5. Caracterização do perfil de textura

5.5.1. Dureza

Houve um aumento da dureza ao longo do período de maturação em todos os queijos e os maiores valores de dureza foram observados para o queijo modificado (Tabela 8).

É comum que ocorra uma redução da dureza no queijo durante a maturação, devido à proteólise primária da caseína que resulta em mudanças na textura e formação dos compostos solúveis. O amolecimento inicial da estrutura dos queijos está relacionado com a hidrólise da α_{s1} -caseína, pela ação do coagulante, liberando α_{s1-I} - caseína (CREAMER; OLSON, 1982; FOX, 1998).

Entretanto, o oposto foi observado nos três tratamentos ao longo do período de maturação. O comportamento atípico observado nesses queijos pode ter ocorrido pelas diferenças entre os queijos, oriundos da mesma massa, mas com composições diferenciadas, influenciadas, principalmente pelo uso da prensa coletiva. Bansal et al. (2009) também verificou aumento da dureza em maturação do queijo Cheddar.

Tabela 8 – Medianas para os valores obtidos na caracterização da dureza (gf) dos queijos I (queijo Prato integral), M (queijo Prato modificado, *light* com adição de 0,5% de colágeno hidrolisado e 1,0% de concentrado protéico de soro) e L (queijo Prato *light*) ao longo do período de maturação.

Processamentos				
Dias de Análise	I	M	L	Valor P*
1	5724,8 ^{ab}	6464,5 ^{ab}	4730,7 ^{bb}	0,004
7	6095,9 ^{bb}	8489,0 ^{ab}	6232,7 ^{ba}	0,003
14	6140,4 ^{baB}	8500,9 ^{abB}	6256,3 ^{abA}	0,004
28	6794,8 ^{abA}	8720,1 ^{aA}	5415,8 ^{ba}	0,001
Valor P **	0,004	0,017	0,002	

^{a, b, c} Letras iguais na mesma linha e ^{A, B, C} Letras iguais na mesma coluna não diferem entre si ($P \geq 0,05$). * Valor P – comparação entre os tratamentos. ** Valor P – comparação entre o tempo de maturação, para um mesmo tratamento.

Na maioria dos dias de análise os queijos *light* e *light* com adição de CPS e colágeno hidrolisado (modificado), apresentaram maior dureza em relação ao queijo integral. Geralmente os queijos com reduzido teor de gordura são caracterizados como mais duros em relação à versão integral pois, quando parte da gordura é removida a caseína passa a desempenhar uma função maior na textura do queijo (GWARTNEY; FOEGEDING; LARICK, 2002; JOHNSON et al. 2009).

Solowiej et al. (2010) avaliaram a influência do CPS (35%) sobre a textura de análogo de queijo processado obtido a partir de caseína ácida. A adição do CPS promoveu uma maior dureza ao produto.

Por outro lado, Jooyandeh (2009) relatou que o uso do fermentado de CPS promoveu aumento da umidade e redução da dureza de queijo branco iraniano, que sofre maturação de um mês. Porém, além do CPS também houve a interferência de micro-organismos, já que o CPS utilizado passou por fermentação.

5.5.2. Elasticidade

Houve redução da elasticidade, ao longo do período de maturação, apenas no tratamento I. Entre os ensaios observa-se diferença apenas no último dia de maturação,

quando o tratamento I apresentou valor menor em relação aos tratamentos M e L (Tabela 9).

Os valores encontrados foram próximos aos observados em queijo Prato integral fabricado com diferentes coagulantes (MERHEB-DINI, 2010), em queijo Prato com reduzido teor de gordura adicionado de culturas adjuntas (SILVA, 2006) e em queijo Prato com reduzido teor de gordura adicionado de enzimas (GARCIA, 2010).

Tabela 9: Medianas para os valores obtidos na caracterização da elasticidade dos queijos I (queijo Prato integral), M (queijo Prato modificado, *light* com adição de 0,5% de colágeno hidrolisado e 1,0% de concentrado protéico de soro) e L (queijo Prato *light*) ao longo do período de maturação.

Dias de Análise	Processamentos			Valor P*
	I	M	L	
1	0,9220 ^{aAB}	0,9175 ^{aA}	0,9065 ^{aA}	0,587
7	0,9325 ^{aAB}	0,9240 ^{aA}	0,9165 ^{aA}	0,836
14	0,9335 ^{aA}	0,9290 ^{aA}	0,9445 ^{aA}	0,228
28	0,8910 ^{bB}	0,9300 ^{aA}	0,9440 ^{aA}	0,004
Valor P **	0,019	0,922	0,290	

^{a, b, c} Letras iguais na mesma linha e ^{A, B, C} Letras iguais na mesma coluna não diferem entre si ($P \geq 0,05$). * Valor P – comparação entre os tratamentos. ** Valor P – comparação entre o tempo de maturação, para um mesmo tratamento.

5.5.3. Coesividade

Houve diferença apenas no tratamento L, demonstrando um aumento seguido de diminuição durante o período de maturação. Houve diferença entre os tratamentos em todos os dias de análise, sendo os maiores valores verificados para o tratamento L (Tabela 10).

Os valores de coesividade dos ensaios dos três processamentos foram próximos aos valores máximos encontrados por Garcia (2007), que variaram de 0,43 a 0,81, porém maiores que os obtidos por Katsuda et al. (1999), que foi de 0,57 em queijo Prato com baixo teor de gordura aos 30 dias de maturação.

Tabela 10: Caracterização da coesividade dos queijos I (queijo Prato integral), M (queijo Prato modificado, *light* com adição de 0,5% de colágeno hidrolisado e 1,0% de concentrado protéico de soro) e L (queijo Prato *light*) ao longo do período de maturação.

Dias de Análise	Processamentos			Valor P*
	I	M	L	
1	0,7770 ^{bA}	0,8215 ^{abA}	0,8500 ^{ab}	0,001
7	0,7415 ^{bA}	0,8150 ^{abA}	0,8965 ^{aA}	< 0,001
14	0,7190 ^{bA}	0,8180 ^{abA}	0,8680 ^{aA}	< 0,001
28	0,7095 ^{bA}	0,7965 ^{aA}	0,8640 ^{abAB}	< 0,001
Valor P **	0,054	0,194	< 0,001	

a, b, c Letras iguais na mesma linha e ^{A, B, C} Letras iguais na mesma coluna não diferem entre si ($P \geq 0,05$). * Valor P – comparação entre os tratamentos. ** Valor P – comparação entre o tempo de maturação, para um mesmo tratamento.

5.6. Caracterização do perfil eletroforético

A Figura 5 apresenta o perfil eletroforético em gel de poliacrilamida (uréia-PAGE) dos queijos integral, modificado (*light* com adição de CPS e colágeno hidrolisado) e *light*, apresentados em duplicata, referente aos dois processamentos.

Em todos os tratamentos identificam-se na eletroforese dois grupos de caseína, α_{s1} -caseína, com maior mobilidade e β -caseína, com menor mobilidade eletroforética. Entre esses dois grupos estão as frações da α_{s2} -caseína, com mobilidade eletroforética intermediária (SILVA; MALCATA, 2004; SGARBIERI, 2005).

Entre os tratamentos, poucas diferenças podem ser observadas. Uma delas é que o queijo Prato modificado, (Figuras 5, C) apresentou bandas maiores no primeiro dia de maturação, em relação aos outros tratamentos. Ao longo do período de maturação a fração α_{s1} -caseína apresentou ligeira redução em todos os tratamentos, indicando que houve degradação da α_{s1} -caseína com a formação da α_{s1} -I-caseína nos queijos produzidos. Provavelmente se o período de maturação fosse estendido, uma maior degradação seria observada, mas neste trabalho optou-se por limitar o período de maturação até os 28 dias, abrangendo o tempo exigido pela legislação.

Além da diminuição da α_{s1} -caseína, pode-se observar que essa fração apresentou maior degradação em relação à degradação da β -caseína. A α_{s1} -caseína é a fração caseica degradada mais rapidamente durante a maturação, principalmente pela ação do coalho. A degradação dessa fração é favorecida pelo pH do queijo e pela proximidade do pH ótimo de atuação do coalho, bem como pelo conteúdo de sal. A β -caseína é hidrolisada mais lentamente e aproximadamente 50% desta fração caseica permanece intacta após 6 meses de maturação, sendo o principal agente de degradação a enzima plasmina (WALSTRA et al., 1999; FOX, et al., 2000).

Outros autores também verificaram comportamento de degradação semelhante ao longo da maturação (AUGUSTO, 2003; GARCIA, 2010).

5.7. Considerações finais

Para compreender melhor o efeito do concentrado protéico de soro e do colágeno hidrolisado na qualidade dos produtos, poderiam ser feitas outras avaliações, tais como: perfil sensorial de textura e avaliação de outros parâmetros sensoriais (aparência, odor, sabor, aceitabilidade geral e intenção de compra), perfil de compostos voláteis e microestrutura a fim de avaliar seu potencial para a produção do queijo Prato com reduzido teor de gordura com características semelhantes aos queijos integrais.

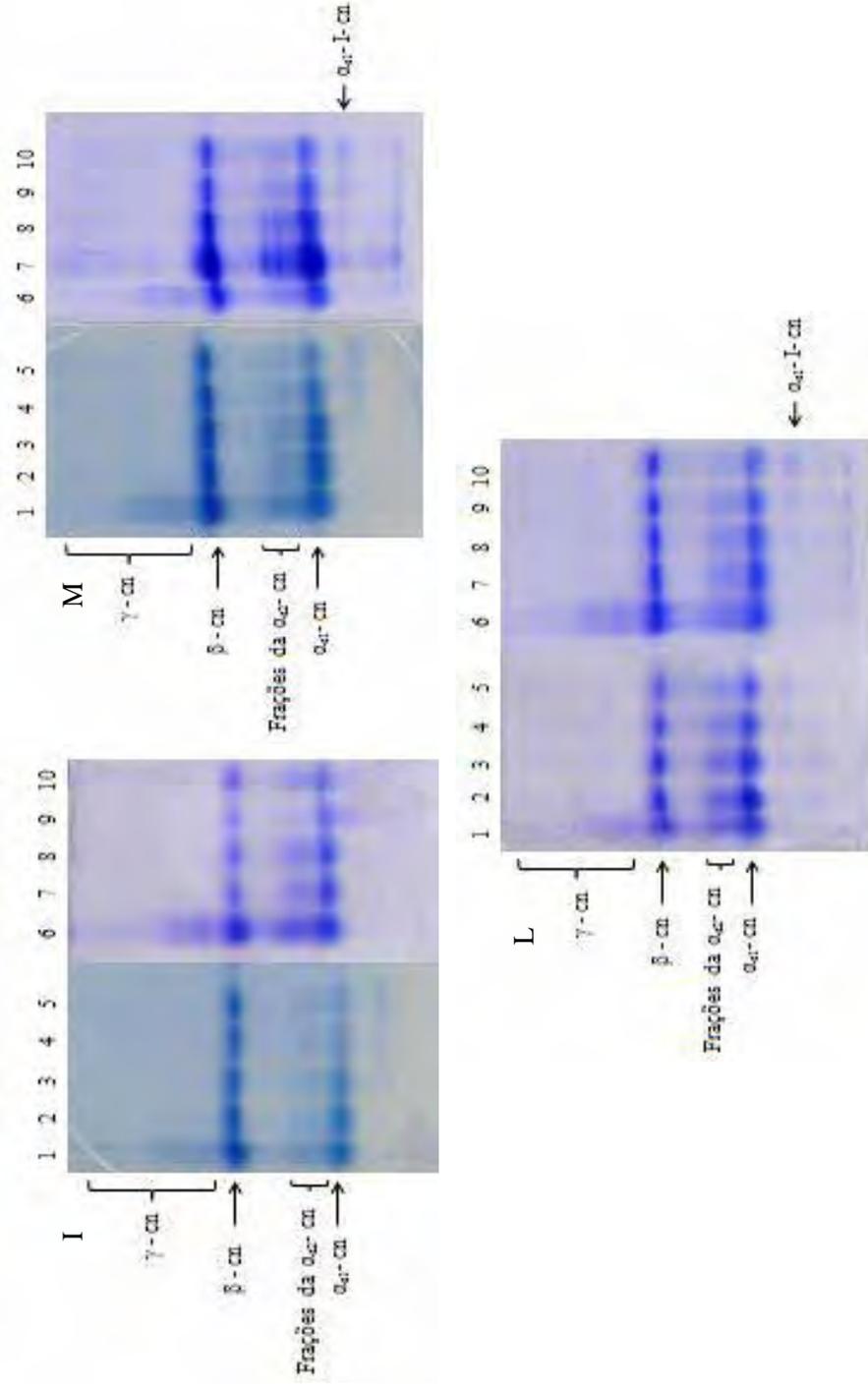


Figura 5: Eletroforese em gel de poliacrilamida (uréia-PAGE) dos queijos produzidos: I - queijo Prato Integral; M - queijo Prato *light* com adição de 0,5 % de colágeno hidrolisado e 1,0 % de concentrado protéico de soro (modificado); L - queijo Prato *light*. Banda 1 e 6: Caseinato de Sódio (padrão). Bandas 2 a 5: maturação do queijo (primeira repetição), aos 2, 7, 14 e 28 dias de maturação, respectivamente. Bandas 7 a 10: maturação do queijo (segunda repetição), aos 2, 7, 14 e 28 dias de maturação, respectivamente.

6. CONCLUSÕES

- Foram observadas diferenças na composição centesimal dos queijos, quando se comparou os queijos Prato com redução do teor de gordura e o queijo Prato integral. A redução do teor de gordura do leite para obtenção dos queijos *light* resultou em queijos com maior teor protéico e de cinzas. Os queijos com redução do teor de gordura puderam ser classificados como *light*, por apresentarem redução maior que 25% em relação ao queijo integral. O uso dos substitutos de gordura promoveu o aumento do rendimento do queijo Prato *light* em comparação com o queijo Prato *light* não adicionado dos substitutos, porém ainda inferior ao queijo Prato Integral.

- Durante a maturação houve aumento da acidez e da proteólise em todos os tratamentos, sendo que os queijos Prato integral e *light* adicionado de CPS e colágeno hidrolisado, apresentaram comportamento semelhante, enquanto o Prato *light* apresentou valores inferiores. Não houve uma relação entre a adição dos substitutos de gordura e aumento da capacidade de derretimento e melhoria da textura do queijo Prato com baixo teor de gordura. Provavelmente outros fatores físico-químicos foram preponderantes à presença dos substitutos na determinação dessas características, dificultando a avaliação do efeito dos substitutos.

7. REFERÊNCIAS

ALEGRET, L. P. Substitutos de materia grasa. **Alimentaria**, Madrid, v. 36, n. 281, p.119-121, 1997.

ANTUNES, A. J. **Funcionalidade de Proteínas do Soro de Leite Bovino**. Barueri: Manole, 2003. 135 p.

ARDÖ, Y. Flavor and texture in low-fat cheese. In: LAW, B. A. (Ed.). **Microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk**. London: Champman & Hall, 1997. p.181-207.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). Dairy products. In: _____. **Official methods of analysis**. 16. ed. Arlington, 1997.

AUGUSTO, M. M. M. **Influência do tipo de coagulante e do aquecimento no cozimento da massa na composição, rendimento, proteólise e características sensoriais do queijo Prato**. 2003. 217 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos)-Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

BANKS, J. M. Cheese. In: EARLY, R. **The technology of dairy products**. 2. ed. London: Blackie Academic, 1998. p. 81-122.

_____. The technology of low-fat cheese manufacture. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v. 57, n. 4, p. 199-207, 2004.

_____; BRECHANY, E.; CHRISTIE, W. W. The production of low fat Cheddar type cheeses. **Journal of the Society of Dairy Technology**, Wembley, v. 42, p. 6-9, 1989.

BANSAL, N. et al. Suitability of recombinant camel (*Camelus dromedarius*) chymosin as a coagulant for Cheddar cheese. **International Dairy Journal**, Barking, v. 19, p. 510-517, 2009.

BARROS, C. M. V. **Uso de culturas adjuntas e ultrafiltração para melhoria de sabor e textura de queijo prato com reduzido teor de gordura**. 2005. 243 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos)–Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

_____; RIBEIRO, A. C. O.; VIOTTO, W. H. Impact of low concentration factor ultrafiltration on the composition and yield of reduced fat Prato cheese. **Desalination**, Amsterdam, v. 200, p. 555-556, 2006.

BELITZ, H. D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. **Food chemistry**. Berlim: Springer, 2009. 1114 p.

BRANDÃO, S. C. C.; SILVA, R. C.; REIS JÚNIOR, J. S. Produtos de laticínios light: uma nova opção para o consumidor. **Leite e Derivados**, São Paulo, v. 22, n. 3, p. 22-24, 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade do leite pasteurizado. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Poder Executivo, Brasília, DF, 18 set. 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998. Aprova o regulamento técnico referente à informação nutricional complementar (declarações relacionadas ao conteúdo de nutrientes). **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Poder Executivo, Brasília, DF, 16 jan. 1998, Seção 1, parte 1, p. 1-3.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 358, de 04 de setembro de 1997. Aprova o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade do queijo Prato. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Poder Executivo, Brasília, DF, 8 set. 1997, Seção 1, p. 19690.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146, de 07 de março de 1996. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade de queijos. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Poder executivo, Brasília, DF, 11 mar. 1996.

BULLENS, C.; KRAWCZYK, G.; GEITHMAN, L. Reduced-fat cheese products using carrageenan and microcrystalline cellulose products. **Food Technology**, Chicago, v. 48, n. 1, p. 79–81, 1994.

CÂNDIDO, L. M. B.; CAMPOS, A. M. **Alimentos para fins especiais: dietéticos**. São Paulo: Varela, 1996. 423 p.

CARVALHO, M. P. **O aumento de consumo de lácteos no Brasil: desafios e oportunidades**. Piracicaba: Agripoint Consultoria, 2007. Disponível em: <www.ital.sp.gov.br/fispal_2007/14_06.../fispal_14-07-16_30.pdf>. Acesso em: 27 jun. 2010.

CASE, R. A.; BRADLEY JÚNIOR, R. L.; WILLIAMS, R. R. Chemical and physical methods. In: AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of dairy products**. 15. ed. Washington, 1985. p. 327-404.

CERNÍKOVÁ, M. et al. Effect of carrageenan type on viscoelastic properties of processed cheese. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 22, n. 6, p. 1054-1061, 2008.

CHILDS, J. L.; DRAKE, M. Consumer perception of fat reduction in cheese. **Journal of Sensory Studies**, Westport, v. 24, p. 902-921, 2009.

CICHOSCKI, A. J. et al. Characterization of Prato cheese, a Brazilian semi-hard cow variety: evolution of physico-chemical parameters and mineral composition during ripening. **Food Control**, Guildford, v. 13, n. 4-5, p. 329-336, 2002.

CREAMER, L. K.; OLSON, N. F. Rheological evaluation of maturing cheddar cheese. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 47, n. 2, p. 631-636, 1982.

CUNHA, C. R.; VIOTTO, W. H.; VIOTTO, L. A. Use of low concentration factor ultrafiltration retentates in reduced fat “Minas Frescal” cheese manufacture: Effect on composition, proteolysis, viscoelastic properties and sensory acceptance. **International Dairy Journal**, Barking, v. 16, p. 215–224, 2006.

DE RENSIS, C. M. V. B.; PETENATE, A. J.; VIOTTO, W. H. Caracterização físico-química, reológica e sensorial de queijos tipo Prato com teor reduzido de gordura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 3, p. 488-494, 2009.

DRAKE, M. A.; SWANSON, B. G. Reduced and low-fat cheese technology: a review. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 6, n. 11, p. 366-369, 1995.

EMMONS, D. B. Definition and expression of cheese yield. In: Factors affecting the yield of cheese. **Bulletin of the International Dairy Federation**, Brussels, n. 9301, p. 12-25, 1993.

EL SODA, M.; MADKOR, S. A.; TONG, P. S. Adjunct cultures: recent developments and potential significance to the cheese industry. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, p. 609-619, 2000.

FARKYE, N. Y. Contribution of milk clotting enzymes and plasmin to cheese ripening. In: MALIN, E. L.; TUNICK, M. H. **Chemistry of structure: function relationships in cheese**. New York: Plenum Press, 1995. p. 195-207.

FERREIRA, D. N. et al. Rheological properties of reduced fat mozzarella cheese made by direct acidification using low concentration factor ultrafiltration retentates. **Desalination**, Amsterdam, v. 200, p. 552-554, 2006.

FIGUEIRÓ, S. D. et al. On the physico-chemical and dielectric properties of glutaraldehyde crosslinked galactomannan-collagen films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 56, n. 3, p. 313-320, 2004.

FOX, P. F. et al. **Fundamentals of cheese science**. Gaithersburg: Aspen, 2000. 587p.

_____; **Cheese: chemistry, physics and microbiology**. 2. ed. London: Chapman & Hall, 1993. 579 p.

_____; McSWEENEY, P. L. H. **Dairy chemistry and biochemistry**. London: Blackie Academic & Professional, 1998. 478 p.

_____; STEPANIAK, L. Enzymes in cheese technology. **International Dairy Journal**, Barking, v. 3, n. 4-6, p. 509-530, 1993.

_____. et al. Biochemistry of cheese ripening. In: _____. **Cheese: chemistry, physics and microbiology**. 2. ed. London: Chapman & Hall, 1993. p. 389-438.

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

_____. **Principais problemas dos queijos: causas e prevenção**. São Paulo: Fonte Comunicações, 1999. 176 p.

_____; AMORIM, A. C. B. Os pioneiros laticinistas dinamarqueses e a história do queijo Prato – Parte 1. **Indústria de Laticínios**, São Paulo, v. 4, n. 25, p.18-22, 2000.

_____; LOURENÇO NETO, J. P. M. **Tecnologia de queijos: manual técnico para a produção industrial de queijos**. São Paulo: Dipemar, 1994. 118 p.

GARCIA, G. A. C. **Efeito do uso de enzimas proteolíticas na maturação de queijo Prato com teor reduzido de gordura**. 2007. 155 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos)-Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2007.

_____. et al. Composição de macronutrientes e evolução da maturação de queijo Prato com teor reduzido de gordura adicionado de enzima proteolítica fastuosáina. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, n. 10, 2009. Disponível em: <www.ital.sp.gov.br/bj/artigos/especiais/especial_2009_2/pp_t0143.pdf>. Acesso em: 10 mai. 2010.

_____. **Influência de enzimas proteolíticas, de origem vegetal e microbiana, e da temperatura de maturação nas características de queijo Prato com teor reduzido de gordura**. 2010. 128 f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2010.

GE Q.; ALMENA-ALISTE, M.; KINDSTEDT, P. S. Reversibility of pH-induced changes in the calcium distribution and melting characteristics of mozzarella cheese. **Australian Journal of Dairy Technology**, Highett, v. 57, p. 3 - 9, 2002.

GELITA. **O que é gelatina?** Disponível em: <http://www.gelita.com/DGF-portuguese/gelatine/gelatine_was.html?reload_coolmenu>. Acesso em: 25 mar. 2009.

GHISLENI, C. P. **Influência da adição de probiótico (*Lactobacillus rhamnosus*) fibra de trigo e gelatina nas características físico-químicas e sensoriais do queijo Prato durante a maturação.** 2008. 134 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos)-Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2008.

GONZÁLEZ, V.; GIOIELLI, L. A.; OLIVEIRA, M. N. Influência do tamanho da amostra e da lubrificação na determinação da textura instrumental de queijo tipo Minas Frescal. **Revista Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 34, n. 2, p. 109-113, 1998.

GOROSTIZA, A. et al. Changes in soluble nitrogenous compounds, caseins and free amino acids during ripening of artisanal prato cheese; a Brazilian semi-hard cows variety. **Food Chemistry**, Londres, v. 85, n. 3, p. 407-414, 2004.

GUINEE; AUTY, M. A. E.; FENELON, M. A. The effect of fat content on the rheology, microstructure and heat-induced functional characteristics of Cheddar cheese. **International Dairy Journal**, Barking, v. 10, n. 4, p. 277-288, 2000.

GWARTNEY E. A.; FOEGEDING E. A.; LARICK, D. K. The texture of commercial full-fat and reduced fat cheese. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 67, p. 812 - 816, 2002.

HAQUE, Z. U.; ARYANA, K. J. Volatiles in lowfat Cheddar cheese containing commercial fat replacers. **Food Science and Technology Research**, Tokyo, v. 8, n. 2, p. 188-190, 2002.

_____; KUÇUKONER, E.; ARYANA, K. J. Influence of fat-replacing ingredients on process and age induced soluble nitrogen content and ultrastructure of lowfat cheddar cheese. **Food Science and Technology Research**, Tokyo, v. 13, n. 4, p. 338-344, 2007.

HILLIAM, M. Fat substitutes in Europe. The world of food ingredients, p. 15-19, 1996 apud BANKS, J. M. The technology of low-fat cheese manufacture. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v. 57, n. 4, p. 199-207, 2004.

HINRICHS, J. Incorporation of whey proteins in cheese. **International Dairy Journal**, Barking, v. 11, n. 4-7, p. 495-503, 2001.

HUFFMAN, L. M. Processing whey protein for use as a food ingredient. **Food Technology**, Chicago, v. 50, n. 2, p. 49-52, 1996.

IGOE, R. S. **Dictionary of food ingredients**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1983. 225 p.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 3. ed. São Paulo, 1985. 533 p.

JAMESON, G. W. Cheese with less fat. **Australian Journal of Dairy Technology**, Highett, v. 45, n. 2, p. 93-98, 1990.

JOHNSON, M. E. et al. Reduction of sodium and fat levels in natural and processed cheeses: scientific and technological aspects. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, v. 8, p. 252 - 268, 2009.

JOOYANDEH, H. Effect of fermented whey protein concentrate on texture of Iranian white cheese. **Journal of Texture Studies**, Westport, v. 40, n. 5, p. 497 - 510, 2009.

KARIM, A. A.; BHAT, R. Gelatin alternatives for the food industry: recent developments, challenges and prospects. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 19, n. 12, p. 644-656, 2008.

KATSUDA, M. S. et al. Caracterização química, sensorial e de textura, de queijo tipo Prato com teor reduzido de gordura. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 54, n. 309, p. 128-133, 1999.

KINDSTEDT P. S. et al. A post-manufacture method to evaluate the effect of pH on Mozzarella cheese characteristics, **Australian Journal of Dairy Technology**, Highett, v. 56, p. 14–19, 2001.

KONUMLAR, G. et al. Use of a β -glucan hydrocolloidal suspension in the manufacture of low-fat Cheddar cheeses: textural properties by instrumental methods and sensory panels. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 18, n. 4, p. 535-545, 2004.

KOSIKOWSKI, F. V.; MISTRY, V. V. **Cheese and fermented milk foods**. 3. ed. Ann Arbor: Edwards Bros, 1997. 2 v.

LAWRENCE, R. C.; CREAMER, L. K.; GILLES, J. Texture development during cheese ripening. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 70, p. 1748-1760, 1987.

_____. Cheese yield potential of milk. In: Factors affecting the yield of cheese. **Bulletin of the International Dairy Federation**, Brussels, n. 9301, p. 109-120, 1993.

LEBEUF, Y.; LACROIX, C.; PAQUIN, P. Effect of incorporation of denatured and microparticulated whey protein in young Cheddar cheese. **Lait**, Paris, v. 78, n. 3, p. 303-318, 1998.

LEITE, T. D. et al. Estudo comparativo entre técnicas de fabricação do queijo Prato. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 59, n. 339, p. 379-382, 2004.

LIN, S. D. et al. Thermal, ultra high pressure, and pulsed electric field attenuation of lactobacillus: Part 1. **Agro Food Industry Hi-Tech**, Milano, v. 12, n. 6, p. 22-23, 2001.

LOBATO-CALLEROS, C. et al. Fat replacers in low-fat mexican Manchego cheese. **Journal of Texture Studies**, Westport, v. 32, n. 1, p. 1-14, 2001.

_____. et al. Microstructure and texture of white fresh cheese made with canola oil and whey protein concentrate in partial or total replacement of milk fat. **Food Research International**, Barking, v. 40, n. 4, p. 529-537, 2007.

LUCCA, P. A.; TEPPER, B. J. Fat replacers and the functionality of fat in foods. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 5, n.1, p. 12-19, 1994.

MARFIL, P. H. M.; ANHÊ, A. C. B.; TELIS, V. R. N. Estudo reológico e microestrutural de suspensões aquosas de gelatina e amido de milho modificado. In: SIMPÓSIO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 2., 2010, São José do Rio Preto. **Anais...** São José do Rio Preto: FAPERP, 2010. p. 24-25. 1 CD-ROM.

MAZAL, G. **Efeito da contagem de células somáticas do leite na fabricação de queijo Prato**. 2005. 92 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)– Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade de Campinas, Campinas, 2005.

McGREGOR; J. U.; WHITE, C. H. Effect of enzyme treatment and ultrafiltration on the quality of low-fat cheddar cheese. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 73, n. 3, p. 571-578, 1990.

McMAHON D. J., FIFE R. L., OBERG C. J., Water partitioning in Mozzarella cheese and its relationship to cheese meltability, **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 82, p. 1361–1369, 1999.

MERHEB – DINI, C. **Produção, purificação e caracterização da protease de *Thermomucor indicae-seudaticae* N31 e avaliação de sua aplicação na fabricação de queijo maturado**. 2010. 131 f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2010.

METZGER, L. E.; MISTRY, V. V. A new approach using homogenization of cream in the manufacture of reduced fat Cheddar cheese. 2. Microstructure, fat globule distribution, and free oil. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 78, p.1883–1895, 1995.

MISTRY, V. V. Low fat cheese technology. **International Dairy Journal**, Barking, v. 11, n. 4-7, p. 413-422, 2001.

MORENO, I. et al. A importância da microbiota adicionada e autóctone na maturação de queijos Prato. **Revista Indústria de Laticínios**, São Paulo, n. 39, p. 59-62, maio/jun. 2002.

MORETTI, B. R. **Efeito da suplementação do leite com proteínas de diferentes fontes (soro de leite, soja e colágeno) e da composição da cultura láctica em iogurtes.** 2009. 160 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2009.

MORR, C. V. Improving the texture and functionality of whey protein concentrate. **Food Technology**, Chicago, v. 46, n. 1, p. 110-113, 1992.

NARASIMMON, R. G. Putting the phat in lowfat cheese. **Dairy Foods**, Chicago, v. 109, p.60, 2008.

NARIMATSU, A. et al. Avaliação da proteólise e do derretimento do queijo Prato obtido por ultrafiltração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, p. 177-182, 2003. Suplemento.

NEKLYUDOV, A. D. Nutritive fibers of animal origin: collagen and its fractions as essential components of new and useful food products. **Applied Biochemistry and Microbiology**, New York, v. 39, n. 3, p. 229-238, 2003.

NICKERSON, M. T. et al. Some physical properties of crosslinked gelatin-maltodextrin hydrogels. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 20, n. 7, p. 1072-1079, 2006.

NONOGAKI, C. O.; MONTEIRO, V. S.; GIGANTE, M. L. Metodologia para avaliar a capacidade de derretimento de queijo Prato. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 59, n. 339, p. 230-233, 2004.

OLIVEIRA, J. S. **Queijos: fundamentos tecnológicos.** 2. ed. Campinas: Ed. Unicamp, 1986. 146 p.

O' MAHONY, J. A.; LUCEY, J. A.; McSWEENEY, P. L. H. Chymosin-mediated proteolysis, calcium solubilization, and texture development during the ripening of cheddar cheese. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, p. 3101-3114, 2005.

PASTORINO, A. J.; HANSEN, C. L.; McMAHON, D. J. Effect of pH on the chemical composition and structure-function relationships of cheddar cheese. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, p. 2751– 2760, 2003.

PAULSON, B. M.; McMAHON D. J.; OBERG C. J. Influence of salt on appearance, functionality, and protein arrangements in nonfat mozzarella cheese. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, p. 2053-2064, 1998.

PINHEIRO, M. V. S.; PENNA A. L. B. Substitutos de gordura: tipos e aplicações em produtos lácteos. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 15, n. 2, p. 175-186, 2004.

ROLLER, S.; JONES, S. A. **Handbook of fat replacers**. Boca Raton: CRC, 1996. 325 p.

ROWNEY et al. Factors affecting functionality of Mozzarella cheese. **Australian Journal of Dairy Technology**, Highett, v. 54, p. 94 – 102, 1999.

RYHANNEN, E. L.; PIHLANTO-LEPPALA, A.; PAHKALA, E. A new type of ripened, low-fat cheese with bioactive properties. **International Dairy Journal**, Barking, v. 11, p. 441-447, 2001.

SABIONI, J. G. Contribuição da atividade lipolítica e proteolítica na formação de flavor em queijos e no desenvolvimento de produtos aromatizantes de origem láctea. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 54, n. 312, p. 30-39, 2000.

SAHAN, N. et al. Influence of fat replacers on chemical composition, proteolysis, texture profiles, meltability and sensory properties of low-fat Kashar cheese. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 75, n. 1, p. 1-7, 2008.

SCHRIEBER, R.; GAREIS, H. **Gelatine handbook**. Weinheim: Wiley-VCH GmbH & Co, 2007.

SCHULZ, J. G. **Efeito da adição de slurry sobre a maturação de queijo Prato**. 2003. 120 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

SCOTT, R.; ROBINSON, R. R. K.; WILBEY, R. A. **Cheesemaking practice**. New York: Kluwer Academic Plenum, 1998. 449 p.

SGARBIERI, V. C. Revisão: Propriedades estruturais e físico-químicas das proteínas do leite. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 8, p. 43-56, 2005.

SHALABI, S. I.; FOX, P. F. Electrophoretic analysis of cheese: comparison of methods. **Irish Journal of Food Science and Technology**, Dublin, v. 11, n. 2, p. 135-151, 1987.

SILVA, A. T. **Maturação do queijo tipo Prato: influência da adição de enzimas proteolíticas no processo**. 1998. 119 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade de Campinas, Campinas, 1998.

_____. **Fabricação de requeijão cremoso e de requeijão cremoso “light” a partir de retentado de ultrafiltração acidificado por fermentação ou adição de ácido láctico**. 2003. 264 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos)- Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

SILVA, C. R. B. **Efeito do uso de *Lactobacillus casei* como cultura adjunta na qualidade tecnológica de queijo Prato com reduzido teor de gordura**. 2006. 133 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos)-Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2006.

_____. et al. Maturação de queijo Prato: comparação entre o produto integral e o produzido com teor reduzido de gordura. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 60, n. 345, p. 235-238, 2005.

SILVA, P. H. F. et al. **Físico-química do leite e derivados: métodos analíticos**. Juiz de Fora: Oficina de Impressão, 1997. 190 p.

SILVA, S. V.; MALCATA, F. X. Influence of the coagulant level on early proteolysis in ovine cheese-like system made with sterilized milk and *Cynara cardunculus*. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 69, p. 579-584, 2004.

SINGER, N. S. Microparticulated proteins as fat mimetics. In: ROLLER, S.; JONES, S. A. **Handbook of fat replacers**. Boca Raton: CRC, 1996. p. 175-190.

SOLOWIEJ, B. et al. O. Effect of whey protein concentrates on texture, meltability and microstructure of acid casein processed cheese analogs. **Milchwissenschaft**, Munich, v. 65, n. 2, p. 169-172, 2010.

STEVENS, A.; SHAH, N. P. Textural and melting properties of Mozzarella cheese made with fat replacers. **Milchwissenschaft**, Munich, v. 57, n. 7, p. 387-390, 2002.

TAMIME, A. Y. Qualidade de iogurte elaborado com substitutos de gordura. In: LERAYER, A. L. S.; SALVA, T. J. G. (Coord.). **Leites fermentados e bebidas lácticas**. Campinas: ITAL, 1997. p. 11-32. Apostila.

_____; ROBINSON, R. K. **Yoghurt: science and technology**. 3. ed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 1999. 619 p.

TRONCO, V. M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria. 1997. 166 p.

TUNICK, M. H. et al. Proteolysis and rheology of low fat and full fat Mozzarella cheeses prepared from homogenized milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, p. 3621-3628, 1993.

UNITED STATES DAIRY EXPORT COUNCIL (USDEC). **Manual de referência para produtos de soro dos EUA**. Arlington, 1997.

VAKALERIS, D. G.; PRICE, W. V. A rapid spectrophotometric method for measuring cheese ripening. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 42, n. 2, p. 264-276, 1959.

VENTUROSOS, R. C. et al. Determinação da composição físico-química de produtos lácteos: estudo exploratório de comparação dos resultados obtidos por metodologia oficial e por ultra-som. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 4, p. 607-613, 2007.

WALSTRA, P. et al. **Dairy technology**: principles of milk properties and processes. New York: Marcel Dekker, 1999. 726 p.

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

WOLF, K. L. **Propriedades físico-químicas e mecânicas de biofilmes elaborados a partir de fibra e pó de colágeno**. 2007. 103 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos)-Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2007.

WOLFSCHOON-POMBO, A. F. Índices de proteólise em alguns queijos brasileiros. **Boletim do Leite**, São Paulo, v. 55, n. 661, p. 1-8, 1983.