



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

TATIANE FERREIRA DA SILVA

**EFEITO DE COLÁGENO HIDROLISADO SOBRE A QUALIDADE
TECNOLOGICA DE QUEIJO MINAS FRESCAL *LIGHT***

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, área de Ciência e Tecnologia de Alimentos 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, 30 de setembro de 2011.

Silva, Tatiane Ferreira da.

Efeito de colágeno hidrolisado sobre a qualidade tecnológica de queijo minas frescal light / Tatiane Ferreira da Silva. - São José do Rio Preto : [s.n.], 2011.

65 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 – Inovações tecnológicas. 3. Queijo Minas Frescal – Teor de gordura. 4. Queijo Minas Frescal - Qualidade. I. Penna, Ana Lúcia Barretto. II. Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. III. Título.

CDU – 637.33

TATIANE FERREIRA DA SILVA

**EFEITO DE COLÁGENO HIDROLISADO SOBRE A QUALIDADE
TECNOLOGICA DE QUEIJO MINAS FRESCAL *LIGHT***

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, área de Ciência e Tecnologia de Alimentos 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
Orientador

Prof^ª. Dr^ª. Walkiria Hanada Viotto
Professor Adjunto
Universidade de Estadual de Campinas

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

São José do Rio Preto, 30 de setembro de 2011.

Agradecimentos

A Deus por estar presente em todos os momentos de minha vida, permitindo que eu alcance meus objetivos;

À professora Ana Lúcia Barretto Penna, pela oportunidade, confiança, amizade e orientação deste trabalho;

Às meninas do laboratório, Sabrina, Luana, Aline, Janaína, Íris, Michele, Grazielle, Vivian e Ana Beatriz, pela amizade e compreensão;

Aos técnicos dos laboratórios do DETA: Luiz, Ginaldo, Tânia, José Jesuíno e Newton, que contribuíram para a realização desta pesquisa;

A todos os professores e alunos do DETA pelo incentivo e amizade;

À CAPES pela disponibilização de bolsa ao Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos;

À Natália e aos outros funcionários pelo carinho;

Às Professoras Doutoras Walkiria Hanada Viotto e Célia Maria Landi Franco, pelas sugestões para a redação final desta dissertação;

Aos meus pais, Neuceli e Milton, ao meu irmão Fernando e ao meu namorado Juvenal, pelo apoio, amizade, carinho, compreensão, interesse e incentivo para minha formação;

Agradeço a todos que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização desta pesquisa.

Sumário

RESUMO	1
ABSTRACT	3
1. INTRODUÇÃO	5
2. OBJETIVO.....	7
2.1. Geral	7
2.2. Específicos.....	7
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	8
3.1. Queijo Minas frescal: características e processamento	8
3.2. Queijos com teor reduzido de gordura	13
3.3. Substitutos de gordura	14
3.3.1. Colágeno hidrolisado	16
3.4. Aplicação de substitutos de gordura em produtos lácteos.....	18
4. MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1. Planejamento dos tratamentos experimentais.....	22
4.2. Ingredientes e insumos utilizados na fabricação do queijo Minas frescal.....	22
4.3. Caracterização do leite pasteurizado utilizado na fabricação dos queijos.....	23
4.4. Preparação da cultura lática.....	23
4.5. Preparo dos queijos.....	23
4.6. Caracterização físico-química dos queijos	26
4.7. Caracterização do perfil de textura dos queijos experimentais	27
4.8. Caracterização do perfil eletroforético em gel de poliacrilamida (Urea – PAGE)	28
4.9. Caracterização microbiológica dos queijos	28
4.10. Avaliação sensorial dos queijos	29
4.11. Análise estatística dos resultados experimentais	30
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1. Caracterização do leite pasteurizado utilizado para a fabricação dos queijos dos tratamentos I, M e L	31
5.2. Características físico-químicas das amostras dos queijos dos tratamentos I, M e L	32
5.2.1. Composição Centesimal	32

5.2.2.	Acidez titulável	34
5.2.3.	Sinérese	36
5.3.	Caracterização do perfil de textura	37
5.4.	Caracterização do perfil eletroforético em gel de poliacrilamida (Urea – PAGE) 41	
5.5.	Caracterização microbiológica dos queijos	43
5.6.	Avaliação sensorial dos queijos.....	44
6.	CONCLUSÕES.....	47
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48
	ANEXOS.....	56

Lista de Figuras e Tabelas

Figura 1 - Formação, organização e estrutura de colágeno (Adaptado de KLUG e CUMMING, 1997 apud SAEIDI, 2009).....	17
Figura 2 - Fluxograma do processo de fabricação de queijo Minas frescal dos tratamentos I, M e L.....	25
Tabela 1 - Composição das amostras do leite pasteurizado integral e leite pasteurizado padronizado a 1,5 % utilizadas na fabricação dos queijos dos tratamentos I, M e L.....	32
Tabela 2 – Composição centesimal dos queijos dos tratamentos I, M e L.....	34
Figura 3 - Evolução da acidez (% ácido láctico) dos queijos dos tratamentos I, M e L ao longo do período de armazenamento. (Média de 6 resultados; n=6).....	35
Figura 4 - Evolução da sinérese dos queijos dos tratamentos I, M e L ao longo do período de armazenamento. (Média de 6 resultados; n=6).....	36
Tabela 3 – Perfil de textura dos queijos dos tratamentos I, M e L no 7º dia de armazenamento.....	39
Tabela 4 – Perfil de textura dos queijos dos tratamentos I, M e L no 14º dia de armazenamento.....	40
Figura 5 - Eletroforese em gel de poliacrilamida (uréia-PAGE) das amostras dos queijos produzidos em dois processamentos (1, 2): tratamentos I, M e L. Bandas 1, 6, 11, 16, 21 e 26 – padrão de caseinato de sódio. I1 2 a 5 e I2 17 a 20 – Tratamento I aos 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento. M1 7 a 10 e M2 22 a 25 – Tratamento M aos 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento, L1 12 a 15 e L2 27 a 30 – Tratamento L aos 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento, do primeiro e do segundo processamento, respectivamente.....	42
Tabela 5 – Avaliação microbiológica dos queijos dos tratamentos I, M e L no 2º dia de armazenamento.....	43
Tabela 6 - Avaliação microbiológica dos queijos dos tratamentos I, M e L no 9º dia de armazenamento.....	44
Tabela 7 – Análise sensorial dos queijos dos tratamentos I, M e L no 7º dia de armazenamento.....	45
Tabela 8 – Análise sensorial dos queijos dos tratamentos I, M e L no 14º dia de armazenamento.....	46

RESUMO

O queijo Minas Frescal é um produto tipicamente brasileiro, com ampla aceitação comercial, que faz parte dos hábitos alimentares da população, sendo um dos queijos mais produzidos do país. Este produto apresenta consistência branda e macia, é nutritivo por ser fonte de proteína, rico em cálcio e outros nutrientes. É classificado como um queijo semi-gordo e de muita alta umidade (não inferior a 55%). Porém, atualmente os consumidores buscam alimentos com menores teores de gordura, e consequentemente menor valor calórico, sem alterações no sabor em comparação aos produtos integrais. A gordura é considerada um importante constituinte no aspecto sensorial dos alimentos, contribuindo para o sabor, cremosidade, aparência, odor e sensação de saciedade, além de outros atributos sensoriais e de textura, como maciez e suculência. Portanto, queijos com baixo teor de gordura apresentam menor rendimento, textura mais dura e problemas de acidez e gosto amargo. Algumas melhorias tecnológicas têm sido desenvolvidas para melhorar a qualidade dos queijos: alterações no processo de fabricação, ultrafiltração do leite, uso de culturas adjuntas, adição de enzimas e uso de substitutos de gordura. Neste trabalho o objetivo foi estudar o efeito da adição de colágeno hidrolisado sobre a qualidade tecnológica do queijo Minas frescal com reduzido teor de gordura. Foram feitos dois processamentos conforme três tratamentos: queijo elaborado com leite integral (I), queijo elaborado com leite padronizado a 1,5% de gordura e adicionado de 0,5% de colágeno hidrolisado (M) e queijo elaborado com leite padronizado a 1,5% de gordura (L). Após a produção foi determinada a composição centesimal. A acidez titulável, a sinérese, o perfil eletroforético da caseína e de textura, as características microbiológicas e os atributos sensoriais foram avaliados durante o armazenamento. Os queijos com reduzido teor de gordura foram classificados como Minas frescal *light* por apresentarem redução de pelo menos 25% de gordura em relação ao produto integral. Os queijos com teor reduzido de gordura apresentaram pequenas alterações na composição centesimal quando comparados com os integrais e a qualidade microbiológica dos queijos atenderam os requisitos da legislação brasileira. A adição de colágeno hidrolisado (M) resultou em queijos com acidez e índice de sinérese mais próximas das obtidas no queijo integral (I). Houve poucas diferenças no perfil de textura dos queijos. A dureza foi semelhante no início do armazenamento, porém os queijos integrais apresentaram menor dureza que os demais no final do armazenamento.

O perfil eletroforético da caseína ao longo do tempo mostrou que a hidrólise do queijo *light* com adição de colágeno (M) foi semelhante à do queijo integral (I). Os provadores gostaram das características sensoriais dos produtos *light*, atribuindo notas variando de 6 (gostei levemente) a 7 (gostei moderadamente). De maneira geral, a adição de colágeno hidrolisado apresentou resultados promissores, reduzindo os defeitos normalmente encontrados nos queijos *light*.

Palavras-chave: substituto de gordura, queijo *light*, textura, avaliação sensorial, redução de gordura.

ABSTRACT

Minas fresh cheese is typically Brazilian and it is one of the most produced cheeses in the country. This product has a wide commercial acceptance and is part of the regular diet of consumers. Its consistency is soft and mild and it is a rich source of protein, calcium and other nutrients. This cheese is classified as semi-fat and has a very high humidity (not less than 55%). However, nowadays consumers are demanding foods with a low fat content and as a consequence with a low calorie value and without changes in flavor when compared to full fat products. Fat is considered an important constituent in the sensory aspect of food, contributing to the flavor, creamy texture, appearance, smell and satiety, and also to other sensorial and textural attributes such as softness and succulence. Therefore, cheeses with a low fat content have a lower yield, harder texture and problems of acidity and a bitter taste. Some technological improvements have been developed in order to improve the cheese quality: changes in the manufacturing process, ultrafiltration of milk, use of adjunct cultures, addition of enzymes and the use of fat substitutes. The objective of this work was to study the effect of the addition of hydrolysate collagen on the technological quality of Minas fresh cheese with a reduced fat content. Two processes were prepared according to three types of treatment: cheese made with full fat content milk (I), cheese made from milk standardized to 1.5% fat and supplemented with 0.5% of hydrolysate collagen (M) and cheese made from milk standardized to 1.5% fat (L). The chemical composition was determined after the production of the cheeses. The acidity, syneresis, electrophoretic profile of casein, texture profile and sensory parameters of the cheeses were monitored during storage. The cheeses with a reduced fat content were classified as light Minas fresh cheeses due to reduction of at least 25% of fat compared to the full fat product. Low fat cheese showed a small variation in the chemical composition when compared to the full fat cheese and the microbiological quality of the cheeses met the requirements of Brazilian legislation I. The addition of hydrolysate collagen (M) resulted in cheeses with an acidity and syneresis index closer to the full fat cheese (I). There were many differences in the texture profile of the cheeses. The hardness of all cheeses was similar at the beginning of storage, but the full fat cheese showed less hardness than the others at the end of storage. The electrophoretic profile of casein during the storage showed that the hydrolysis of low fat cheese with the addition of hydrolysate collagen (M) was

similar to full fat cheese (I). Tasters liked the sensory characteristics of *light* products, assigning scores ranging from 6 (like slightly) to 7 (like moderately). In general, the addition of hydrolysate collagen showed promising results, reducing the defects commonly found in light cheeses.

Keywords: fat replacer, *light* cheese, texture, sensory evaluation, reduction of fat.

1. INTRODUÇÃO

O queijo Minas Frescal é um produto tipicamente brasileiro, com ampla aceitação comercial, que faz parte dos hábitos alimentares da população na maioria das regiões do país. No Brasil sua produção aumentou de 25.900 toneladas em 2000 para 37.100 toneladas em 2009, colocando-o em quinto lugar na lista dos queijos mais produzidos no país, sendo somente inferior aos queijos tipos Mussarela, Prato, Requeijão culinário e cremoso (CUNHA; VIOTTO; VIOTTO, 2006; ABIQ, 2010). Sua tecnologia de fabricação é simples, e por isso, muito difundida nos laticínios.

Os queijos são ricos em proteínas, carboidratos, lipídios, vitaminas A e D e minerais (cálcio, fósforo e magnésio). Seu consumo pode minimizar a perda óssea relacionada tanto com a idade quanto com a desnutrição, podendo assim, reduzir os riscos de osteoporose. A gordura do leite é um dos importantes componentes dos queijos, que fornece calorias, ácidos graxos essenciais e vitaminas lipossolúveis, além de ser responsável por grande número de propriedades funcionais e sensoriais importantes nos alimentos, como textura, maciez, cremosidade, lubrificação, palatabilidade, sabor e aroma. Porém, a preocupação com a qualidade de vida tem levado o consumidor a procurar e consumir produtos com menor teor de gordura, pois o consumo excessivo de óleos e gorduras tem sido frequentemente associado à obesidade, aumento da taxa de colesterol no sangue, alguns tipos de câncer e doenças cardíacas. As autoridades médicas recomendam que o consumo de gordura na dieta humana represente, no máximo, 30% do total de calorias consumidas, sendo que menos de 10% deve ser proveniente de gorduras saturadas.

Dentre as estratégias para melhorar a qualidade de queijos com baixo teor de gordura destacam-se: alterações no processo de fabricação, ultrafiltração do leite, uso de culturas adjuntas, adição de enzimas e adição de substitutos de gordura. Diversas pesquisas visando melhorar as características tecnológicas de queijo Prato com teor reduzido de gordura já foram realizadas no laboratório de Tecnologia de Leite e Derivados do DETA-UNESP. Foram estudados os efeitos do uso de cultura adjunta de *L. casei* (SILVA, 2006), adição de enzimas proteolíticas (GARCIA, 2007) e efeito da adição de concentrado proteico de soro (CPS) (MENIS, 2009) sobre a qualidade do queijo Prato. Diamantino (2011) avaliou o efeito de colágeno hidrolisado e concentrado

proteico de soro sobre a qualidade de queijo Prato com reduzido teor de gordura. Com a adição de substitutos houve um aumento no teor de umidade e na proteólise ao longo do tempo, resultando em queijos com dureza semelhante a do queijo integral, no início e no final do armazenamento.

Estes trabalhos tratam de outro tipo de queijo, com diferente processo de fabricação. Para queijos frescos são poucos os trabalhos dedicados a estudar o efeito das alterações de processo ou o uso de substitutos de gordura. Bittar e Viotto (2002) desenvolveram queijo Minas frescal contendo dois substitutos de gordura comerciais à base de proteína (Simplesse® e Dairy-Lo®), que foram comparados com um queijo padrão contendo teor integral de gordura. Todos os queijos com substitutos de gordura apresentaram maiores teores de umidade e menor rendimento quando comparados ao queijo Minas integral. Não houve diferença significativa na aceitação sensorial dos queijos com adição de Simplesse® e Dairy-Lo® quando comparados ao queijo padrão.

Apesar de algumas pesquisas já terem sido realizadas nesta área, continua sendo um desafio produzir queijos com teor reduzido de gordura que preserve as mesmas características do queijo com teor integral de gordura. O colágeno hidrolisado pode ser usado como substituto de gordura em diversos alimentos. Mesmo que este ingrediente não conste da lista de aditivos permitidos para queijos, os estudos do uso desse substituto de gordura em queijo Minas frescal podem esclarecer como os ingredientes afetam a qualidade físico-química, microbiológica e sensorial do produto, e assim, propor inovações tecnológicas para a produção de queijo Minas frescal com baixo teor de gordura. Este conhecimento é fundamental para a indústria lática nacional, contribuindo para o desenvolvimento de um alimento saudável, com características sensoriais adequadas. Ainda, com a obtenção de resultados satisfatórios, a legislação pode ser reavaliada, com a inclusão do colágeno hidrolisado na lista de aditivos permitidos para queijos frescos de alta umidade, sem tratamento térmico.

2. OBJETIVO

2.1. Geral

O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito da adição de colágeno hidrolisado sobre a qualidade tecnológica do queijo Minas frescal com reduzido teor de gordura.

2.2. Específicos

- Produzir queijos Minas frescal conforme três tratamentos: queijo elaborado com leite integral (I), queijo elaborado com leite padronizado a 1,5 % de gordura e com adição de 0,5 % colágeno hidrolisado (M) e queijo elaborado com leite padronizado a 1,5 % de gordura (L);
- Avaliar a composição centesimal, a acidificação e a sinérese, o perfil eletroforético da caseína e de textura, as características microbiológicas e os atributos sensoriais dos queijos durante o armazenamento.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Queijo Minas frescal: características e processamento

Entende-se por queijo o produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, de enzimas específicas, de bactéria específica, de ácido orgânico, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes. O queijo é um concentrado lácteo constituído de proteínas, lipídios, carboidratos, sais minerais (cálcio, fósforo) e vitaminas. É um dos alimentos mais nutritivos que se conhece. Entende-se por queijo fresco o que está pronto para consumo logo após sua fabricação (BRASIL, 1996; PERRY, 2004).

O queijo Minas frescal é um produto típico brasileiro, sendo produzido em diversas regiões do país, cuja fabricação teve início no século XVIII em Minas Gerais, em regiões onde o gado de leite era dominante (CAMPOS, 2001). O queijo Minas frescal é obtido por coagulação enzimática do leite com coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não com ação de bactérias lácticas específicas. É classificado como queijo semi-gordo (entre 25 e 44% gordura no extrato seco), de muito alta umidade (não inferior a 55%), a ser consumido fresco, apresenta consistência branda e macia, com ou sem olhaduras mecânicas, cor esbranquiçada, sabor suave a levemente ácido, sem ou com crosta fina, de forma cilíndrica e com peso de 0,3 a 5 Kg (BRASIL, 1997; BRASIL, 2004).

O queijo Minas frescal apresenta como principal característica o gosto pouco ácido e uma das mais simples tecnologias de fabricação. Com a evolução das técnicas industriais e do conhecimento científico, a tecnologia de fabricação sofreu algumas modificações e modernizações visando melhorar a qualidade do produto, aumentar o rendimento de fabricação, ou ainda, maior padronização do produto final (FURTADO; SOUZA; MUNCH, 1980; SILVA et al., 2003; PERRY, 2004).

Na fabricação de queijo Minas frescal, o teor de gordura no leite deve ser aproximadamente 3,5%, além disso, o leite deve ter acidez entre 15 e 18°D (Dornic). Para a produção da maioria dos queijos é necessária a pasteurização do leite, que tem

como finalidade destruir todos os patógenos possíveis de estarem presentes no leite e inativar várias enzimas do leite, como lipase e fosfatase alcalina. Entretanto, devem-se evitar tratamentos térmicos com temperaturas acima das mínimas exigidas para uma perfeita pasteurização (72°C por 15 segundos ou 63°C por 30 minutos), a fim de não prejudicar a característica do coágulo. O tratamento do leite pelo calor, como no caso da pasteurização em temperaturas elevadas, pode alterar o equilíbrio cálcio-fósforo, fazendo com que parte do cálcio iônico passe a fosfato de cálcio coloidal, resultando em leite pobre em cálcio solúvel, o que torna a coagulação enzimática demorada ou incompleta, dando origem a um coágulo frágil. Assim, é prática comum a adição 0,5 mL/L de solução cloreto de cálcio (CaCl_2) 50%, pois o CaCl_2 aumenta o teor de íons de Ca^{+2} , acelerando a coagulação da caseína e ajudando a firmar o coágulo. Quanto maior a concentração em caseína, maior a consistência do coágulo resultante; maior também é a necessidade de coalho para que a coagulação ocorra no tempo determinado. Os demais componentes do leite, como no caso da gordura, têm também efeito na velocidade de coagulação e na consistência do coágulo. Assim sendo, é de se esperar alterações na ação do coalho e nas características do coágulo, sempre que haja alterações sensíveis na composição do leite. Uma vez assegurada a presença de cálcio solúvel, basta que seja adicionada o coalho e o leite coagulará em um determinado tempo que dependerá principalmente, da quantidade e da atividade ou poder coagulante da enzima adicionada (OLIVEIRA, 1986; FOX; McSWEENEY, 1998; WALSTRA et al., 1999; FOX et al., 2000; PERRY, 2004).

Na produção de vários queijos, é necessária uma seleção cuidadosa das cepas de diferentes bactérias ácido-láticas (BAL), que são adicionadas ao leite pouco antes da coagulação. O ácido produzido pelas BAL promove a acidez necessária para a coagulação, ajuda a expulsar o soro da coalhada, e desta maneira, reduz a umidade contida, prevenindo o desenvolvimento de bactérias indesejáveis no queijo. Essas culturas são chamadas de *Starters*, pois são iniciadoras na produção de ácido. São também chamadas de culturas láticas, por produzirem ácido láctico. Para a produção de queijo Minas frescal utilizam-se as culturas mesófilas, geralmente compostas por *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, pois a coagulação e tratamento da massa ocorrem abaixo de 40°C. As culturas para a produção de queijo podem ser divididas em culturas de cepas puras ou podem ser culturas de cepas mistas. As

culturas mistas produzem mais ácido do que as espécies individuais (SCOTT, 1998; FOX et al., 2000).

Lactococcus lactis subsp. *lactis* produz ácido láctico rapidamente, reduzindo o tempo de fermentação, mas algumas cepas desta espécie produzem bacteriocinas, como a nisina, o qual afeta a atividade de outras espécies Gram-positivas presentes; certas cepas também afetam o sabor do queijo, ressaltando o gosto amargo. Por outro lado, o *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* tem uma produção mais lenta, mas produz um sabor agradável nos queijos (FOX et al., 2000).

Opcionalmente, pode-se realizar a salga adicionando-se 2% de sal diretamente no leite, imediatamente antes do coalho, mas este processo não é recomendado devido às elevadas perdas de sal no soro (FURTADO; LOURENÇO NETO, 1994).

Finalmente, após adição de culturas *starters* e cloreto de cálcio, é então adicionado o agente coagulante ou coalho. A coagulação, por definição, é a etapa decisiva na fabricação de queijos, a qual visa concentrar a proteína do leite retendo também a gordura. A principal enzima responsável por essa ação é a renina, uma fosfoproteína de ação proteolítica presente no estômago de ruminantes jovens, ou pode ter origem microbiana, podendo ser obtida de diversos microrganismos: *Kluyveromyces lactis*, *Aspergillus niger*, *Mucor miehei*, *Mucor pusillus* e *Endothia parasítica*. A característica principal da enzima microbiana é sua alta atividade proteolítica quando comparada a outros coagulantes e sua baixa especificidade. Ela atua hidrolisando ligações peptídicas da caseína, transformando-a em *para*-caseína, que precipita em presença de íons Ca^{+2} , formando então a coalhada. Para satisfazer a demanda por substitutos adequados para o coalho de vitelo, uma nova fonte de quimosina foi desenvolvida através da tecnologia do DNA recombinante, sendo produzida por fermentação (ANDRÉN, 1998).

Originalmente, três enzimas produzidas por fermentação foram desenvolvidas, mas somente duas permanecem no mercado: Maxiren é produzida pela DSM Food Specialties (Delft, Netherlands) enquanto Chy-Max é produzida pela Chr Hansen (Hoersholm, Denmark). O gene para a quimosina bovina é expresso em *Aspergillus niger* var. *awamori* para a produção de Chy-Max enquanto a DSM expressa o gene em *Kluyveromyces lactis* para a produção do Maxiren (FOX et al., 2000).

A coagulação é dependente da temperatura, do valor de pH e do teor de cálcio do leite. A temperatura ótima de ação do coalho é em torno de 40°C, mas costuma-se utilizar temperaturas ligeiramente mais baixas (em torno de 35°C) para permitir o desenvolvimento dos mesófilos. Na coagulação enzimática mesmo sendo importante a acidificação, esta ocorre de forma independente, uma vez que o leite coagula prontamente no seu pH natural, ou seja, em torno de 6,6 e o coágulo enzimático desde o começo é mais firme e elástico, semelhante a uma gelatina (OLIVEIRA, 1986; FOX et al., 2000; PERRY, 2004).

Antes de ser adicionado ao leite, o coalho deve ser diluído em água isenta de cloro visando facilitar a sua distribuição e evitar a formação de flocos de coágulos no primeiro contato do coalho concentrado com o leite. O coalho diluído é adicionado aos poucos, agitando o leite adequadamente, a fim de conseguir uma completa distribuição. Essa agitação não deve durar mais de 2 a 3 minutos, e em seguida, o leite deve ser deixado permanecer em completo repouso até que se obtenha a coagulação, pois a agitação acarreta diminuição na consistência e na elasticidade do coágulo resultante. A temperatura do leite também influencia bastante na velocidade de coagulação; no caso da renina animal, há um aumento na velocidade de coagulação com o aumento da temperatura (OLIVEIRA, 1986).

Após o preparo do leite para coagulação, deixa-se o leite em completo repouso, que normalmente ocorre em aproximadamente 45 minutos. O momento certo para cortar a coalhada tem que ser verificado pela resistência do coágulo ou gel. Para constatar o ponto de corte, uma espátula é inserida na superfície do coágulo, no sentido inclinado (aproximadamente 45°), e forçada para cima, visando romper uma porção do coágulo. Se o rompimento ocorrer em uma única fenda retilínea, sem que haja fragmentação do coágulo, a massa está no ponto de corte. Porém, se o corte ocorrer precocemente, aumentam as perdas de caseína e gordura no soro e diminui o rendimento do queijo. Por outro lado, se o corte ocorrer tardiamente, o queijo pode apresentar desmineralização acima do desejado (OLIVEIRA, 1986; FURTADO, 1990).

Imediatamente após atingir o ponto de corte, o coágulo deve ser então fracionado ou subdividido, para acelerar a sinérese, que promoverá a dessora da massa. Essa dessora será mais intensa quando maior for a superfície total do coágulo. Assim sendo, o tamanho do corte, ou seja, as dimensões dos fragmentos ou cubos de massa influenciam na intensidade da dessora desejada, e, portanto, no nível de umidade. Para o

queijo Minas frescal, os cubos de massa apresentam aproximadamente 0,5 cm³. O corte deve ser efetuado por liras, com a disposição dos fios cortantes horizontais e verticais. Quando o corte for efetuado no ponto certo e observados os devidos cuidados, o soro apresenta-se límpido e esverdeado (OLIVEIRA, 1986; KOSIKOWSKI; MISTRY, 1997).

Com o corte do coágulo, inicia-se uma agitação lenta de aproximadamente 25 minutos e logo após ocorre a dessora que dá origem a duas fases, uma precipitante, denominada massa, e a fase aquosa, que é o soro. Para evitar que os grãos da massa decantem compactamente, e dificulte a dessora, inicia-se o processo de agitação da mistura soro e massa, mantendo-se assim os grãos dispersos. Essa agitação deve ser iniciada com movimentos lentos e cuidadosos, tornando-se mais intensos à medida que os grãos da massa se tornem mais firmes (OLIVEIRA, 1986).

Após um descanso de aproximadamente 5 minutos a massa decanta e procede-se a separação do soro, formando um bloco relativamente compacto no fundo do tanque. Em seguida, é realizada a enformagem, em que a massa é colocada em formas de plástico. Segue-se uma pressão que não é denominada de prensagem, há apenas um acabamento da massa pelo seu próprio peso, ocasionando assim, uma compactação suficiente para dar o formato do queijo e promover a dessora necessária, consistência e umidade requerida pelo produto, a fim de obter suas características intrínsecas. Neste caso, os queijos devem ser invertidos de posição várias vezes, a fim de tornar a dessora igual em ambas as superfícies (OLIVEIRA, 1986; FURTADO; LOURENÇO NETO, 1994).

O queijo Minas frescal tradicional deve ser salgado por salga seca, porém a salga seca leva mais tempo e exige mais trabalho, assim, difundiu-se principalmente nas indústrias de grande porte a salga em salmoura. No entanto, essa salga altera ligeiramente as características dos queijos, formando uma crosta mais espessa e um pouco mais rígida (OLIVEIRA, 1986). Por outro lado, pode ser feita a salga diretamente na massa, após a retirada quase total do soro, que permite uma melhor dosagem e distribuição do sal, além de ser muito mais rápida. O sal no queijo melhora o sabor, a textura e a aparência (KOSIKOWSKI; MISTRY, 1997).

Para a finalização, o produto é embalado, a fim proteger o queijo higienicamente, inibindo o desenvolvimento microbiológico na superfície externa e

evitar a perda de umidade, que causa um ressecamento indesejável no queijo, além de prejuízos no aspecto econômico. O armazenamento é limitado pela vida útil do produto, visto que ele é um queijo macio com o alto teor de umidade, assim, o produto precisa ser comercializado em um determinado período, além do qual a sua qualidade poderá ser prejudicada, mesmo que as condições de armazenamento sejam adequadas. Esse armazenamento deve ser realizado em câmaras frias com temperatura próximas a 5°C e os queijos devem ser mantidos nessas condições até o momento do consumo. (OLIVEIRA, 1986; WALSTRA et al., 1999).

3.2. Queijos com teor reduzido de gordura

Queijos com teor reduzido de gordura são normalmente elaborados com leites desnatados e/ou semi-desnatados. Estes produtos são caracterizados por apresentarem determinados defeitos não observados nos seus correspondentes fabricados com teor integral de gordura, como por exemplo, corpo elástico, redução de sabor, propriedades funcionais e sensoriais inadequadas e também alterações em suas características microbiológicas e bioquímicas. A remoção parcial ou total da gordura do leite também promove uma alteração na proporção dos vários componentes do queijo, aumenta-se o teor de umidade, aumentam as interações proteína-proteína, e o queijo produzido apresenta textura dura e elástica. Por outro lado, a relação entre a umidade e o teor de sólidos não gordurosos do queijo é geralmente similar à dos integrais, por conseguinte, o conteúdo de sal na fase úmida do queijo com teor reduzido de gordura é menor. Além disso, a gordura presente no leite contém ácidos graxos de cadeia curta, que são liberados através da atividade de lipase, contribuindo para o sabor global do queijo. Ao reduzir o teor de gordura, esses ácidos graxos apresentam-se em menor quantidade e o queijo pode ser considerado com falta de sabor (RODRIGUEZ, 1998; MISTRY, 2001; SILVA et al., 2004).

A gordura é um dos principais componentes do leite e se apresenta na forma de pequenos glóbulos, de tamanho entre 0,1 e 15,0 μm . Os lipídios são macronutrientes que desempenham funções energéticas, estruturais e hormonais no organismo. Metabolicamente, os lipídios são necessários para muitas funções, tais como: reações enzimáticas, transmissão de impulsos nervosos, armazenamento de memória e síntese de hormônios, pois são precursores de moduladores celulares de prostaglandinas,

tromboxanos e leucotrienos. Além de prover ácidos graxos essenciais, as gorduras são veículos para vitaminas lipossolúveis (A, D, E, K), carotenóides e esteróis. Entretanto, outras funções tecnológicas também lhes são atribuídas, como emulsificantes, texturizantes, aromatizantes, umectantes, sendo bons transmissores de calor, além de contribuírem para o paladar e a textura dos alimentos. Possuem ainda habilidades como agentes carreadores de aromas e *flavors* (WALSTRA; JENNESS, 1984; JORGE, 2009).

Apesar de sua contribuição para as características sensoriais e nutricionais do produto, uma dieta rica em gordura tem sido associada ao aumento do risco de obesidade, arteriosclerose, doenças nas coronárias, elevada pressão sanguínea e injúrias dos tecidos, associadas com a oxidação lipídica (FENELON; GUINEE, 2000). A associação da gordura com doenças e a progressiva preocupação dos consumidores com a dieta tem desencadeado uma alta demanda por produtos com baixo teor de gordura, incluindo os queijos, com propriedades sensoriais semelhantes ao produto convencional com teor integral de gordura (MICHAELIDOU et al., 2003).

Assim, mudanças nas características funcionais dos produtos são menos dramáticas com reduções menores no teor de gordura, entretanto significativas o suficiente para serem detectadas pelos consumidores (MISTRY, 2002). Mesmo assim, há um mercado bastante promissor para produtos com redução ou substituição de gorduras (*low-fat*, *light*, *lite*, etc), destinado às pessoas preocupadas com a sua saúde, manutenção ou redução do peso (SILVA; VAN DENDER, 2005).

Portanto, a melhoria da tecnologia, ou seja, alterações nas técnicas de processo, seleção de culturas *starter* e enzimas, e o desenvolvimento de ingredientes como os aditivos utilizados como estabilizantes e substitutos de gordura são alternativas para a fabricação de produtos com redução ou substituição de gordura, e essas mudanças têm sido possíveis devido ao incentivo proporcionado pela demanda crescente desse tipo de produto (MISTRY, 2001; BANKS, 2004).

3.3. Substitutos de gordura

Estão disponíveis diversos tipos de substitutos de gordura para o uso em alimentos. No Regulamento Técnico referente à informação nutricional complementar (BRASIL, 1998), e nos Regulamentos Técnicos de identidade e qualidade de produtos lácteos (BRASIL, 1996) não consta uma terminologia adequada para a tradução das

palavras normalmente usadas em inglês. Por isso, os termos ingleses *fat substitute*, *fat replacer*, *fat extender* e *low-calorie fat* são normalmente utilizados. Em uma tentativa de padronização, esses termos podem ser definidos como (MARAGLIO, 1995; PINHEIRO; PENNA, 2004; ROLLER; JONES, 1996; TAMIME, 1997):

- *Fat replacer* (substituto de gordura): é um termo coletivo e genérico para descrever qualquer ingrediente que substitua a gordura;
- *Fat substitute* (substituto de gordura): é um composto sintético desenvolvido para substituir a gordura em igualdade de peso (*weight-by-weight*), apresentando uma estrutura química semelhante à da gordura, mas resistente à hidrólise pelas enzimas digestivas;
- *Fat mimetic* (imitadores de gordura): é um composto utilizado para imitar as características da gordura e que necessita de alto conteúdo de água para atingir sua funcionalidade;
- *Low-calorie fat* (gordura de baixa caloria): é um triacilglicerol sintético que combina ácidos graxos não convencionais na cadeia do glicerol, resultando em valor calórico reduzido.

Os substitutos de gordura podem ser classificados, principalmente, pela sua natureza química e pela origem do produto, juntamente com seu valor energético, e são tecnicamente divididos em: produtos à base de carboidratos, incluindo as fibras; produtos à base de proteínas modificadas que apresentem boas propriedades emulsificantes ou gelificantes, aliadas ao baixo valor energético; compostos com ligações éster modificadas que fornecem propriedades semelhantes à gordura; ou ainda, gorduras sintéticas e não calóricas (TAMIME, 1997).

Os substitutos de gordura podem oferecer uma maneira segura, efetiva e factível de manter a palatabilidade de alimentos com reduzido teor de gordura. O uso potencial dos substitutos pode ser alcançado pela 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, 1995; PINHEIRO; PENNA, 2004).

Neste contexto, a vantagem de se utilizar ingredientes à base de proteínas como substitutos de gordura é que as proteínas se ligam bem aos componentes aromáticos,

porém se houver tratamento térmico ($>80^{\circ}\text{C}$) pode ocorrer desnaturação, dificultando o seu uso (BRANDÃO; SILVA; REIS JUNIOR, 1995; ALEGRET, 1997).

Os substitutos de gordura à base de carboidratos fornecem em média 4 kcal/g, porém, como são usualmente misturados com água, fornecem somente de 1 a 2 kcal/g (AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION REPORTS, 2005). Dentre os tipos de substitutos de gordura encontram-se as gomas, que apresentam a capacidade de melhorar e manter as características reológicas, tais como a textura, a viscosidade, a consistência, o aspecto e o corpo. A ação dessas substâncias inclui basicamente a retenção de água e o aumento da viscosidade, além de efeitos secundários incluindo estabilização da emulsão, suspensão de partículas, controle de cristalização, inibição de sinérese, encapsulação e formação de filmes (DZIEZAK, 1991).

3.3.1. Colágeno hidrolisado

Dentre os produtos à base de proteínas, destacam-se as proteínas microparticuladas e derivadas de colágeno. O colágeno (Figura 1) é uma proteína fibrosa encontrado em todo o reino animal, que contém cadeias peptídicas organizadas de forma paralela a um eixo produzindo fibras. Em termos de quantidade ele é o mais importante composto do tecido conjuntivo e é um elemento estrutural importante em organismos multicelulares. Apresenta uma resistência mecânica que é aumentada pelo enrolamento helicoidal de múltiplos segmentos em uma super-hélice, de uma forma muito parecida a cordões enrolados entre si e sobre si mesmo, para formar uma corda mais resistente. O enrolamento da tripla-hélice fornece uma grande resistência às forças de tensão, sem nenhuma capacidade para o estriamento. Este composto apresenta estrutura molecular relativamente simples e é insolúvel em água, uma propriedade que lhe é conferida pela grande concentração de aminoácidos hidrofóbicos, quer no interior da proteína quer na superfície, porém através de uma hidrólise parcial bastante forte é transformado em colágeno solúvel, resultando em gelatina ou em colágeno hidrolisado (LEHNINGER, 1995; CAMPBELL, 2000; LINDEN; LORIENT, 2000; NEKLYUDOV, 2003; WALRAND et al., 2008; DAMODARAN; PARKIN; FENEMA, 2010).

Formação de tropocolágeno

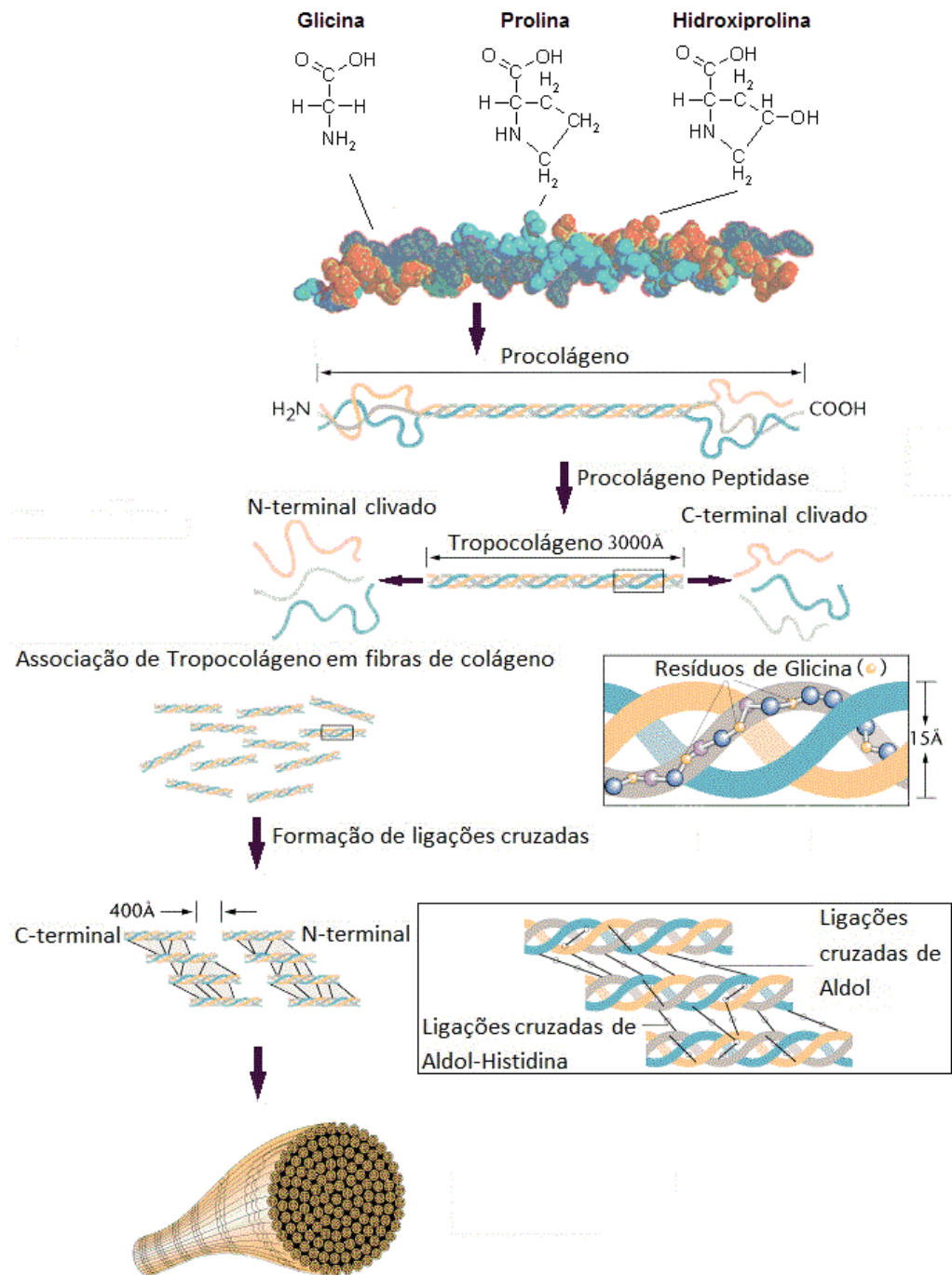


Figura 1 – Formação, organização e estrutura de colágeno (Adaptado de KLUG e CUMMING, 1997 apud SAEIDI, 2009).

O colágeno é também responsável pela estrutura e sustentação do tecido de diversos animais, sendo a principal proteína presente na pele, ossos, tendões, cartilagens e dentes (FIGUEIRÓ et al., 2004; WOLF, 2007; MORETTI, 2009).

Estudos clínicos têm mostrado que o colágeno hidrolisado pode ser capaz de proteger os danos nas articulações, fortalecer as articulações e reduzir as dores causadas por doenças semelhantes à osteoartrite (WALRAND et al., 2008).

As proteínas colagenosas formam agregados supramoleculares (fibrilas, filamentos ou redes), sozinhas ou em conjunto com outras matrizes extracelulares. Sua principal função é contribuir com a integridade estrutural da matriz extracelular ou ajudar fixar células na matriz. O colágeno apresenta propriedades mecânicas singulares, composição incomum de aminoácidos e é quimicamente inerte (WOLF, 2007; MORETTI, 2009).

Lefebvre e Antonov (2001) realizaram um estudo sobre o efeito da fusão dos agregados de gelatina ácida e alcalina sobre a estabilidade contra a agregação das micelas de caseína bovina. Em baixa força iônica e pH neutro as interações entre as moléculas de gelatina e micelas de caseína é suprimida significativamente acima de 36°C. A fusão da gelatina acima dessa temperatura muda o valor de pH no qual a formação do complexo é máxima na faixa ácida. A causa pode ser que alguns dos grupos funcionais ionizáveis da molécula de gelatina são inacessíveis devido às mudanças na conformação. Houve uma estabilidade muito alta contra a agregação da caseína na presença de gelatina alcalina.

3.4. Aplicação de substitutos de gordura em produtos lácteos

O uso de substitutos de gordura foi avaliado por vários pesquisadores, entretanto, são poucos os estudos de aplicação de colágeno em alimentos.

O leite com baixo teor de gordura e com incorporação de 10 g/L de concentrado protéico de soro (CPS) contendo 35% de proteínas 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).

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

Haque e Aryana (2002) estudaram os compostos voláteis de queijos Cheddar fabricados com substitutos de gordura à base de proteínas (10 g/L de Dairy Lo[™]) e à base de carboidratos (2 g/L de Novagel[™]). Durante o estágio inicial da maturação, os voláteis predominantes foram ácido octanóico, acetoína e 2,3 butanodiona. Os substitutos de gordura atenuaram os odores voláteis do queijo Cheddar com baixo teor de gordura comparado ao controle; a variação dependeu do tipo de substituto de gordura utilizado. Queijos elaborados com Simplese e Novagel, que são produtos à base de proteína e carboidratos, respectivamente, amoleceram os queijos Cheddar com baixos teores de gordura pela descontinuidade na matriz de caseína. Enquanto o Dairy Lo[™] e Simplese provavelmente amoleceram os queijos pelo menor número de camadas que conferem resistência ao esmagamento na interface proteína-gordura (ARYANA; HAQUE, 2001).

Maruyama et al. (2006) utilizaram 0,75% de uma mistura de gomas xantana, carragena, guar e pectina em formulações de queijo *petit suisse* e observaram uma melhora considerável no aspecto de textura do produto, contribuindo para a maior estabilidade da firmeza durante todo o armazenamento do produto. A estabilidade da firmeza do queijo *petit suisse* probiótico foi alcançada com a combinação de gomas xantana (0,1875%), carragena (0,1875%) e guar (0,375%), resultando na maior qualidade do produto e permitindo ao consumidor adquirir um produto que apresenta as mesmas características durante todo o armazenamento.

Lobato-Calleros et al. (2007) utilizaram até 24 g/L de óleo de canola emulsificado (175 g/L de óleo de canola em água) e/ou no máximo 10 g/L de CPS como substitutos de gordura na produção de queijo fresco. Os resultados demonstraram que os queijos frescos com substituto de gordura apresentaram uma estrutura diferente quando comparado ao queijo fresco integral. Quando o CPS predominou, foi produzido um

queijo mais denso, compacto e com uma matriz protéica contínua. Quando o óleo de canola emulsificado predominou, uma matriz proteica mais fraca foi formada.

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 por Cerníková et al. (2008). As concentrações de 0,15 e 0,25% de i-carragena foram mais eficientes para produzir queijos processados mais duros, quando comparadas com a k-carragena.

Walrand et al. (2008) compararam as concentrações de quatro aminoácidos do colágeno hidrolisado (glicina, prolina, hidroxiprolina e hidroxilisina) presentes no plasma de quinze homens saudáveis. O colágeno hidrolisado foi veiculado em leite fermentado ou dissolvido em água. Em função das características físico-químicas do processo de fermentação e da grande homogeneidade da preparação, o produto lácteo aumentou a concentração da prolina no plasma, demonstrando o papel do leite fermentado contendo colágeno hidrolisado para aumentar a disponibilidade plasmática de um aminoácido específico do colágeno. Assim, o leite fermentado adicionado de colágeno apresenta uma possível aplicação para o controle das doenças das articulações.

Ziegler e Sgarbieri (2009) avaliaram a caracterização químico-nutricional de um isolado protéico de soro de leite, um hidrolisado de colágeno bovino e misturas dos dois produtos. O hidrolisado de colágeno bovino mostrou-se deficiente em todos os aminoácidos essenciais, no entanto, pesquisas têm mostrado a importância do colágeno e seus derivados na manutenção e reconstituição da pele, dos ossos, dos tecidos cartilagosos e da matriz extracelular (OESSER et al., 1999; MOSKOWITZ, 2000). A mistura de 60% de isolado de soro e 40% hidrolisado de colágeno bovino apresentou elevado valor nutritivo e alto índice de solubilidade em água, mostrando-se promissora como ingrediente na formulação de alimentos dietéticos para idosos (ZIEGLER; SGARBIERI, 2009).

Moretti (2009) avaliou o efeito da suplementação do leite com proteína de diferentes fontes (soro de leite, soja e colágeno) e da composição de cultura láctica em iogurtes. O aumento da concentração de suplemento protéico resultou em aumento da capacidade da retenção de água e em redução da sinérese dos iogurtes. A adição de fibra natural de colágeno (0,2; 0,6; 1,0 e 1,4%) aos iogurtes resultou em produtos com maior capacidade de retenção de água e consistência, e menor sinérese, que são propriedades importantes para a qualidade do iogurte.

Castilhos et al. (2010) otimizaram a concentração de gomas guar e carragena para a elaboração de queijo Minas frescal *light*. A combinação de 0,0815 % de goma guar e 0,0496 % de carragena proporcionou melhor textura para o queijo Minas frescal com reduzido teor de gordura, comparada às características da versão integral do queijo (*full fat*).

Segundo Silva et al. (2010), o queijo Minas frescal *light* adicionado de goma carragena e guar apresentam alta capacidade de retenção de água, evitando a dessora típica do queijo Minas frescal quando armazenado por longos períodos. Os resultados obtidos mostram o potencial da adição de gomas em queijo Minas Frescal *light* como uma alternativa para uso industrial.

Diamantino (2011) avaliou o efeito de substitutos de gordura (colágeno hidrolisado e concentrado proteico de soro) na qualidade de queijo Prato com reduzido teor de gordura. A adição destes substitutos promoveu um aumento do teor de umidade e, consequentemente, do rendimento dos queijos. O uso de colágeno hidrolisado promoveu também uma maior proteólise, resultando em dureza semelhante a do queijo integral no 1º e 28º dia de armazenamento.

Silva (2011) avaliou o efeito de substitutos de gordura (colágeno hidrolisado e goma guar e carragena) sobre a qualidade tecnológica de queijo Minas frescal. A adição dos substitutos de gordura proporcionou um aumento na umidade, acidez e proteólise dos queijos quando comparados com a versão integral, resultando em queijos mais macios.

Apesar do Regulamento de Identidade e Qualidade de Queijos não permitir o uso de proteínas não lácteas em queijos (BRASIL, 1996), os estudos da utilização de colágeno em alimentos têm apresentado bons resultados, assim é interessante o investimento nesta área, para entender qual o efeito deste ingrediente na matriz do queijo. Além disso, com a obtenção de resultados satisfatórios, a legislação pode ser reavaliada, com a inclusão do colágeno hidrolisado na lista de aditivos permitidos para queijos frescos de alta umidade, sem tratamento térmico.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Planejamento dos tratamentos experimentais

Foram produzidos queijos conforme três tratamentos: queijo elaborado com leite integral pasteurizado (I), queijo elaborado com leite pasteurizado padronizado a 1,5% de gordura e adicionado de 0,5 % de colágeno hidrolisado (M), e queijo elaborado com leite pasteurizado padronizado a 1,5% de gordura (L).

4.2. Ingredientes e insumos utilizados na fabricação do queijo Minas frescal

- Leite pasteurizado tipo A integral marca Salute (Salute Produção e Comércio de Leite Ltda);
- Leite pasteurizado desnatado marca Salute (Salute Produção e Comércio de Leite Ltda);
- Solução cloreto de cálcio 50% da marca Synth (Labsynth Produtos para Laboratório Ltda);
- Colágeno hidrolisado (Colágeno Hidrogel® B50), fornecido pela empresa Gelita do Brasil Ltda;
- Cultura comercial mista composta por *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (R-704, 50U) liofilizada, fornecida pela empresa Christian Hansen Indústria e Comércio Ltda;
- Coalho em pó CHY-MAX®, obtido da empresa Christian Hansen Indústria e Comércio Ltda;
- Cloreto de sódio comercial marca Cisne;
- Embalagem plástica termoencolhível (Protervac - Comércio de Embalagem e Máquinas Ltda.).

4.3. Caracterização do leite pasteurizado utilizado na fabricação dos queijos

Para a caracterização dos leites pasteurizados integral e desnatado utilizados na fabricação dos queijos, foram feitas análises físico-químicas, em triplicata, cujos métodos estão descritos a seguir:

Os valores de densidade, teor de gordura, sólidos não gordurosos, e proteína foram obtidos indiretamente por aplicação de ultrassom nas amostras, utilizando-se o equipamento Ekomilk-M (Bulteh 2000 Ltda, Stara – Zagora, Bulgária);

A acidez foi determinada por titulação com NaOH 0,11 N (Dornic) e solução de fenolftaleína como indicador, sendo expressa em °Dornic (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985);

A presença de antibiótico foi avaliada através do Teste SnapTM Beta Lactam (IDEXX, Maine, Estados Unidos), conforme citado por Tronco (1997);

O teste de fosfatase alcalina foi usado com o intuito de avaliar a eficiência da pasteurização no leite, usando o Kit de Fosfatase Alcalina (Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda, Pinhais-PR, Brasil). Este é um teste colorimétrico que analisa qualitativamente a atividade de fosfatase alcalina no leite.

4.4. Preparação da cultura lática

A cultura comercial liofilizada mista composta por *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* foi armazenada sob congelamento. Antes da produção do queijo, foi feita uma suspensão da cultura em 1 L de leite integral estéril e distribuída em tubos de ensaio de 20 mL. Para a proteção das culturas foi adicionado glicerol como crioprotetor e realizado o congelamento a -18°C. As culturas foram descongeladas apenas no dia de fabricação dos queijos, e para cada processamento foi utilizado 1 mL da cultura preparada para cada litro de leite.

4.5. Preparo dos queijos

Com os dados da composição centesimal das amostras de leite pasteurizado integral e desnatado, fornecido pelo Ekomilk, utilizou-se o diagrama de Pearson (TAMIME, ROBINSON, 1999) para determinar o volume de leite a ser utilizado para

se obter uma mistura contendo 1,5% de gordura, com o intuito de adquirir um produto final com redução de no mínimo 25% do teor de gordura em relação ao queijo tradicional (integral). Um fluxograma geral do preparo dos queijos dos diferentes tratamentos está ilustrado na Figura 2.

Os lotes de leite foram recebidos no dia anterior ao processamento e foram armazenados a 4°C em câmara fria. Foi feita a higienização das embalagens antes da abertura e do início do processamento. Após a padronização do leite, este foi dividido em três partes para a fabricação dos queijos dos tratamentos I, M e L (conforme item 4.1). Os queijos foram fabricados em um tanque mecanizado, com capacidade de 56 L, dotado de controle temperatura, na Planta Piloto do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, IBILCE, UNESP. Foram realizados dois processamentos de cada tratamento.

Para cada processamento foram utilizados 30 L de leite, integral ou padronizado, conforme o tratamento, resultando em 6 peças de queijos. No queijo do tratamento M foi feita a adição de 0,5 % de colágeno hidrolisado ao leite pasteurizado padronizado.

O leite de cada tratamento recebeu a adição de 0,5 mL/L de solução cloreto de cálcio 50% e foi aquecido a uma temperatura entre 32 a 35°C. Em seguida, foi feita a adição de 1,0 mL/L de cultura láctica mista, composta por *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* e finalmente a adição do coagulante dissolvido em água (1,4 g/100 L de leite). A coagulação ocorreu entre 45 e 60 min. Foi verificado o ponto de corte, e a coalhada foi então cortada em cubos de aproximadamente 0,3-0,5 cm³, com o uso de uma lira vertical e outra horizontal, e em seguida, procedeu-se a agitação leve da coalhada durante 25 min. Foi feita a dessoragem (eliminação quase total do soro) e a salga na massa. A quantidade de sal (2% em relação à massa) foi calculada considerando um rendimento de 6 L de leite por kg de queijo.

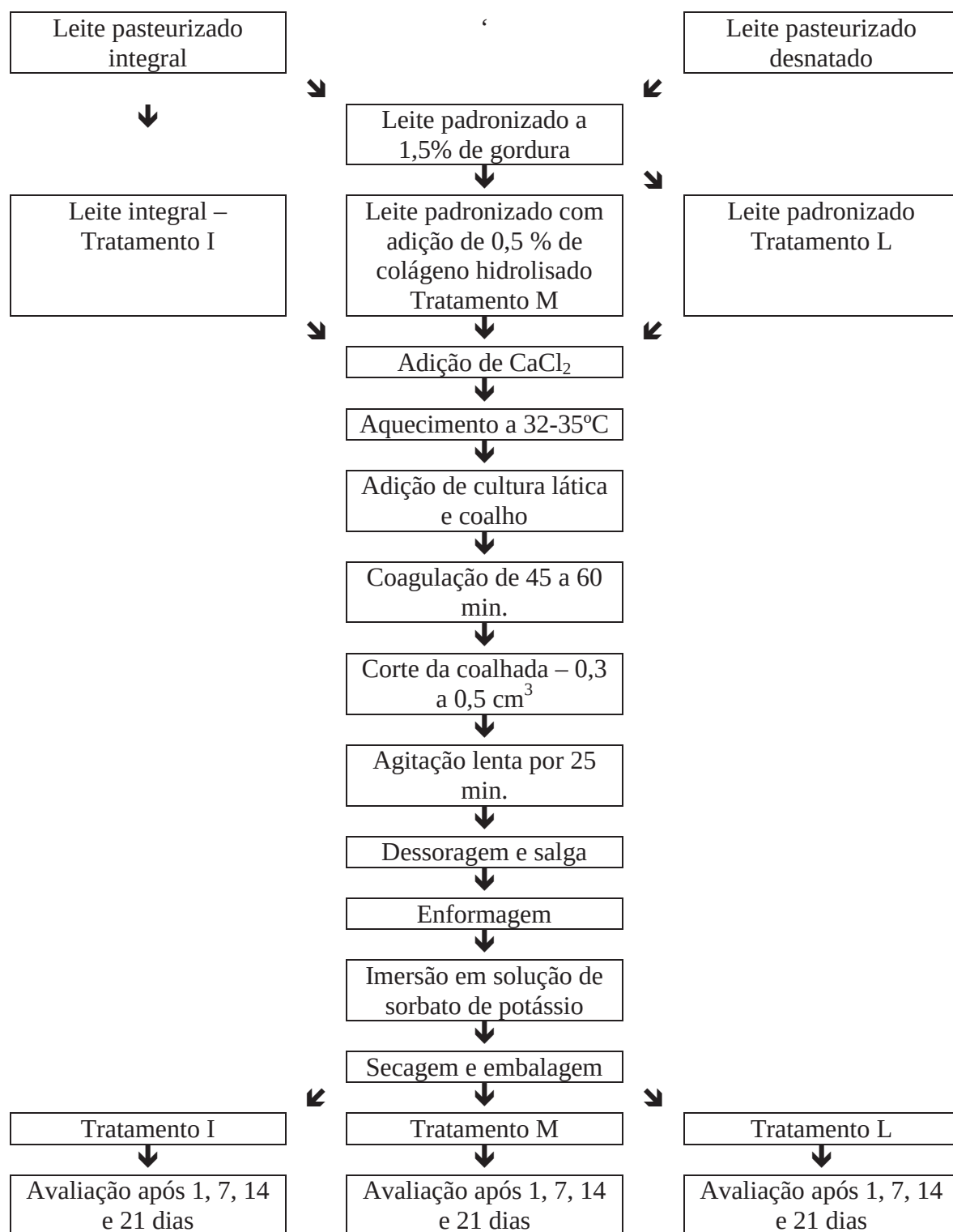


Figura 2 - Fluxograma do processo de fabricação de queijo Minas frescal dos tratamentos I, M e L.

Após a salga, a massa foi colocada em formas e permaneceu em repouso por 30 min. Ao fim desse período, os queijos foram virados e transferidos para outra forma e seguiu-se um novo período de repouso, de um dia para outro à temperatura de 5°C, em câmara fria com controle de temperatura. No dia seguinte, os queijos foram retirados das formas e imersos em solução a 20% de sorbato de potássio por 60 segundos. O sorbato de potássio é um conservante permitido pela legislação na proporção de 1000 mg/Kg de queijo em ácido sórbico (BRASIL, 1996). Em seguida, os queijos permaneceram 1 h em câmara fria para a secagem final, sendo virados após os primeiros 30 min. Após a secagem, os queijos foram embalados a vácuo, em sacos plásticos termo-encolhíveis e armazenados em temperatura de 5°C em câmara fria (adaptado de FURTADO; LOURENÇO NETO, 1994). Cada uma das peças de queijo foi escolhida aleatoriamente para ser analisada após em 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento.

4.6. Caracterização físico-química dos queijos

Para avaliar a adição de colágeno hidrolisado sobre a qualidade dos queijos, a composição centesimal foi determinada após 1 dia de fabricação em triplicata, conforme metodologia descrita a seguir:

- O teor de gordura (G) foi determinado pelo método de Gerber–Van Gulik (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985) e o teor de gordura no extrato seco (GES) foi calculado pela fórmula: $\%GES = (G/EST) \times 100$;
- O teor do extrato seco total (EST) foi 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);
- O teor de cinzas foi determinado por incineração em mufla a 550°C (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985);
- O Teor de sal foi determinado pelo método de doseamento nas cinzas (SILVA et al., 1997).
- O teor de nitrogênio solúvel em pH 4,6 (NS pH 4,6) ou nitrogênio não caseico (NNC) foi determinado pela dosagem do nitrogênio total no filtrado obtido após precipitação isoeletrica das caseínas (SILVA et al., 1997);

- O teor de nitrogênio solúvel em ácido tricloroacético (TCA) 12% (NS TCA) ou nitrogênio não proteico (NNP) foi determinado pela dosagem de nitrogênio total no filtrado obtido após precipitação da totalidade das proteínas em presença de TCA 12% (SILVA et al., 1997);

O teor de proteína total (PT) foi 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);

Durante o armazenamento refrigerado foram realizadas análises após 1, 7, 14 e 21 dias de fabricação, conforme descrito a seguir:

- A acidez foi determinada por titulação com NaOH 0,1 N usando fenolftaleína como indicador (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985). Os resultados foram expressos em % de ácido láctico.
- Os índices de sinérese dos queijos foram analisados de acordo com Prudencio (2006). Foram centrifugadas 15 g de amostra a 5700g em centrifuga refrigerada (8 ± 1 °C) por 60 minutos. O percentual de sinérese foi calculado através da razão entre a massa do soro separada do queijo na centrifugação e a massa inicial do queijo multiplicada por 100.

4.7. Caracterização do perfil de textura dos queijos experimentais

Para avaliar o efeito da adição de colágeno hidrolisado sobre o perfil de textura dos queijos dos tratamentos I, M e L, foram realizadas avaliações em 7 e 14 dias de armazenamento utilizando-se o texturômetro TA-XT2 (Stable Micro Systems, Haslemere, Inglaterra), em sextuplicata. As amostras dos queijos 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 4,0 cm de diâmetro, com velocidade de deslocamento de 2,0 mm/s e distância percorrida de 6,0 mm. Foram determinados os parâmetros: dureza, elasticidade, coesividade,

mastigabilidade, gomosidade, adesividade, fraturabilidade e resiliência (GONZÁLEZ; GIOIELLI; OLIVEIRA, 1998; GARCIA, 2007).

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

A avaliação das frações da caseína por eletroforese permite entender melhor como ocorre a proteólise nos queijos com adição do colágeno hidrolisado em comparação aos queijos dos demais tratamentos. Para esta análise, as amostras foram coletadas após 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento e congeladas para posterior avaliação. A eletroforese em gel de poliacrilamida (Urea - PAGE) foi realizada nas amostras de queijo Minas frescal, conforme os três tratamentos, utilizando-se uma cuba de eletroforese vertical Omniphor, pelo 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 a 37°C por 1 hora, logo 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 e 20 µL das amostras foram aplicados no gel, para separação com 100V, 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 solução descorante (água destilada, etanol e ácido acético).

4.9. Caracterização microbiológica dos queijos

A fim de avaliar a qualidade higiênico-sanitária dos queijos antes de serem submetidos à avaliação sensorial (7 e 14 dias de fabricação), foram realizadas as seguintes análises microbiológicas após 2 e 9 dias de fabricação (VERUS MADASA, s.d.):

- Contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos. Foi utilizado *Compact dry* TC com incubação a 35°C por 48 horas;

- Contagem de bolores e leveduras. Foi utilizado *Compact dry* YM com incubação a 30°C por 5 dias;
- Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais. Foi utilizado o teste *Compact dry* EC, com incubação a 35°C por 24 horas;
- Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes fecais. Foi utilizado o teste *Compact dry* EC, com incubação 45°C por 24 horas.

4.10. Avaliação sensorial dos queijos

Foi avaliada a aceitabilidade geral dos queijos produzidos, através de um teste de afetividade (Teste de Consumidor) após 7 e 14 dias de armazenamento. As amostras dos queijos dos três tratamentos foram submetidas à análise sensorial por uma equipe de 50 provadores não treinados, entre professores, alunos e funcionários da Universidade, que não estavam envolvidos com a pesquisa.

A seleção dos provadores e a aplicação do teste sensorial foram aprovadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da UNESP. O Protocolo CONEP nº 0008.0.229.000-10, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, o Termo de Compromisso e o parecer do Comitê de Ética encontram-se no Anexo 1.

Foram avaliados os parâmetros: aceitabilidade geral (traduzida pelo conjunto, relativo à primeira impressão causada pelo produto como um todo, sem representar a média das notas das outras características avaliadas), aparência, textura (corpo do produto quando consumido), sabor e aroma. Para expressar sua opinião a respeito das amostras, os provadores utilizaram uma escala hedônica de 9 pontos, com os extremos desgostei muitíssimo (1) e gostei muitíssimo (9) (FARIA; YOTSUYANAGI, 2008).

As avaliações sensoriais foram realizadas nos períodos da manhã (entre 9 e 11 horas) e tarde (entre 15 e 17 horas) em cabines individuais, com iluminação artificial, localizadas no Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos da UNESP de São José do Rio Preto. As amostras estavam codificadas com números aleatórios de três dígitos. Os provadores receberam uma bandeja contendo a amostra, água e uma ficha de avaliação.

4.11. Análise estatística dos resultados experimentais

Para avaliar o efeito dos tratamentos na qualidade tecnológica do queijo Minas Frescal, foi utilizado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis com os resultados experimentais. Foi feita a comparação dos resultados dos processamentos (2), dos tratamentos (3) e do tempo de armazenamento (4). Quando detectada diferença significativa, foi feita a comparação entre as médias, por meio do teste de Dunn, considerando-se um nível de significância de 5%, utilizando o programa estatístico Instat 3.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização do leite pasteurizado utilizado para a fabricação dos queijos dos tratamentos I, M e L

A composição das amostras de leite pasteurizado utilizadas na fabricação dos queijos Minas frescal dos tratamentos I, M e L, em dois processamentos, encontra-se na Tabela 1.

Os teores de sólidos totais, gordura, sólidos não gordurosos, densidade, proteína e acidez das amostras de leite pasteurizado padronizado e das amostras de leite integral utilizados para a fabricação dos queijos, nos processamentos 1 e 2, não apresentaram diferença estatística entre si, além de apresentarem valores próximos aos requisitos estabelecidos na Instrução Normativa (IN) 51 (BRASIL, 2002).

As amostras de leite integral apresentaram valores de sólidos totais, gordura e proteína ligeiramente acima do mínimo estabelecido na IN 51, de 11,40%, 3,00% e 2,90%, respectivamente. Nas amostras de leite padronizado a 1,5% de gordura (*light*) de ambos os processamentos, os teores de sólidos não gordurosos e proteína foram ligeiramente acima do mínimo estabelecido, de 7,60% a 8,41% e de 2,90%, respectivamente (BRASIL, 2002).

As amostras de leite integral e padronizado não apresentaram atividade de fosfatase alcalina e resíduos de antibióticos, portanto, a pasteurização do leite foi eficaz, atingindo a temperatura mínima exigida, para garantir a segurança alimentar (OLIVEIRA, 1986; WALSTRA et al., 1999; FOX et al., 2000). A ausência de resíduos de antibiótico é importante, pois permite o desenvolvimento de um produto ideal para a alimentação, permitindo o desenvolvimento das bactérias lácticas, responsáveis pelas características de acidez e sabor do queijo.

Tabela 1 - Composição das amostras do leite pasteurizado integral e leite pasteurizado padronizado a 1,5 % utilizadas na fabricação dos queijos dos tratamentos I, M e L.

Análises	Leite integral	
	Processamento 1	Processamento 2
Sólidos totais (%)	11,75±0,00 ^A	11,80±0,01 ^A
Gordura (%)	3,58±0,01 ^A	3,61±0,01 ^A
Sólidos não gordurosos (%)	8,17±0,00 ^A	8,18±0,01 ^A
Densidade (g/cm ³)	1,0289±0,05 ^A	1,0290±0,00 ^A
Proteína (%)	2,99±0,00 ^A	2,99±0,00 ^A
Acidez (°D)	16,63±0,11 ^A	16,82±0,11 ^A
Presença de antibiótico	Negativo	Negativo
Fosfatase alcalina	Negativo	Negativo
Análises	Leite padronizado*	
	Processamento 1	Processamento 2
Sólidos totais (%)	10,00±0,00 ^A	10,15±0,01 ^A
Gordura (%)	1,50±0,00 ^A	1,55±0,00 ^A
Sólidos não gordurosos (%)	8,60±0,00 ^A	8,70±0,00 ^A
Densidade (g/cm ³)	1,0326±0,05 ^A	1,0330±0,00 ^A
Proteína (%)	3,12±0,00 ^A	3,16±0,00 ^A
Acidez (°D)	16,38±0,11 ^A	16,53±0,11 ^A
Presença de antibiótico	Negativo	Negativo
Fosfatase alcalina	Negativo	Negativo

^{A, B, C} Letras iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si (P>0,05).

*O leite padronizado a 1,5% de gordura foi utilizado para a fabricação dos queijos dos tratamentos M e L.

5.2. Características físico-químicas das amostras dos queijos dos tratamentos I, M e L

5.2.1. Composição Centesimal

A Tabela 2 apresenta os resultados das análises de composição centesimal das amostras dos queijos dos tratamentos I, M e L. Os resultados de Kruskal-Wallis e teste de Dunn indicam que os tratamentos influenciaram a composição dos queijos.

De maneira geral, as amostras dos queijos dos tratamentos I, M e L apresentaram umidade semelhante, sem diferença estatística. O teor de umidade dos queijos fabricados conforme os três tratamentos atenderam ao padrão estabelecido pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de queijo Minas frescal, sendo não inferior a 55 % (BRASIL, 1997). Por outro lado, houve diferença no teor de sal dos queijos entre os tratamentos I e L, sem diferença com o teor de sal do queijo do tratamento M.

Os queijos dos tratamentos I e M apresentaram comportamento semelhante para a relação entre NS pH 4,6 e nitrogênio total e NS TCA 12% e nitrogênio total. A amostra do tratamento L apresentou um valor menor tanto para a relação NS pH 4,6 e nitrogênio total quanto para a relação NS TCA 12% e nitrogênio total em comparação aos queijos dos tratamentos I e M. Essa menor proteólise do queijo L, pode estar relacionada ao maior teor de sal (Tabela 2), que pode afetar a proteólise (ALIZADEH; HAMED; KROSROSHAHI, 2006). Essa maior absorção de sal pelo queijo do tratamento L pode ter sido influenciada pelas características do processamento, como o pH, agitação da massa, e a redução da gordura, uma vez que os queijos dos tratamentos M e L foram fabricados a partir de um mesmo lote de leite padronizado.

O queijo Minas é classificado como um queijo semi-gordo e a gordura no extrato seco varia entre 25 e 44% para um queijo com teor integral de gordura (BRASIL, 1997; BRASIL, 2004). Para um queijo ser considerado *light* deve apresentar uma redução de no mínimo 25% no teor de gordura em relação ao queijo tradicional, ou seja, de 18,75 % a 33,0 % GES. Portanto, o queijo dos tratamentos M e L podem ser classificados como *light* (BRASIL, 1998), pois apresentaram teor de gordura variando de 29,4 a 30,1 % GES.

Tabela 2 – Composição centesimal dos queijos dos tratamentos I, M e L.

Análises	Tratamentos		
	I	M	L
	(n=6)	(n=6)	(n=6)
Umidade (%)	64,72±2,29 ^A	63,95±0,55 ^A	64,32±0,97 ^A
GES (%)	49,9±1,7 ^A	30,1±1,0 ^B	29,4±2,1 ^B
Proteína Total (%)	12,01±0,90 ^B	17,51±0,42 ^A	16,01±0,48 ^{AB}
Cinzas (%)	2,29±0,08 ^B	2,84±0,13 ^{AB}	3,06±0,06 ^A
Sal (%)	0,81±0,04 ^B	0,99±0,12 ^{AB}	1,18±0,10 ^A
NS pH4,6/NT (%)	10,61±1,15 ^A	10,19±0,37 ^A	8,75±0,37 ^B
NS TCA/NT (%)	3,59±1,13 ^{AB}	3,96±0,42 ^A	2,39±0,78 ^B

^{A, B, C} Letras iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si (P>0,05). GES-Gordura no extrato seco.

Mistry (2001) e Banks (2004) relataram a importância da adição de substitutos de gordura em queijo com reduzido teor de gordura, pois seu uso contribui com a incorporação de água na matriz do queijo, representando uma maneira de diminuir a dureza, típica de queijo com baixo teor de gordura.

Foi também observado maior teor de proteína total nos queijos dos tratamentos M e L. Esses resultados eram esperados, pois a redução da gordura resulta em um aumento proporcional no conteúdo de proteína (BANKS, 2004).

O teor de proteína do queijo Minas frescal do tratamento M foi maior do que o encontrado no tratamento I, porém foi estatisticamente semelhante ao tratamento L. Esses resultados podem ser decorrentes de variações no processamento, tais como pH, agitação e aquecimento da massa, e da adição de colágeno hidrolisado, que é de origem proteica.

5.2.2. Acidez titulável

A Figura 3 apresenta a evolução dos teores de acidez das amostras de queijos no período de armazenamento. As amostras dos tratamentos I, M e L apresentaram um aumento da acidez ao longo do período de armazenamento. Esta acidificação foi mais

intensa na amostra do tratamento I. O Anexo 2 apresenta a análise estatística do efeito dos tratamentos e do tempo de estocagem na acidez titulável.

Outros autores observaram este comportamento em queijo com teor integral de gordura (BURITI; ROCHA; SAAD, 2005; SANGALETTI et al., 2007) e Diamantino (2011), Garcia et al. (2009), Silva et al. (2005) também observaram esta evolução em queijo Prato com reduzido teor de gordura.

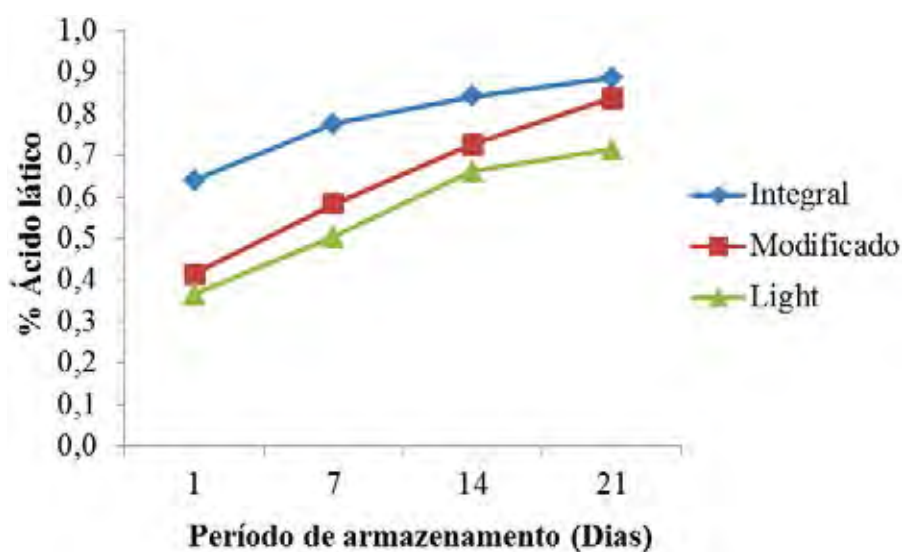


Figura 3 - Evolução da acidez (% ácido láctico) dos queijos dos tratamentos I, M e L ao longo do período de armazenamento. (Média de 6 resultados; n=6).

O aumento da acidez está diretamente relacionado com a conversão de lactose em ácido láctico pelas bactérias ácido-láticas, uma vez que a acidez do queijo tende a aumentar com a multiplicação dos micro-organismos no decorrer do período de armazenamento, beneficiando o produto por inibir a microbiota patogênica (WOLFSCHOON-POMBO, LIMA, 1989; SCOTT, 1998; FOX et al., 2000).

Os menores valores de acidez foram observados na amostra do queijo do tratamento L. Os queijos elaborados conforme esse tratamento apresentaram o maior

teor de sal, o qual pode interferir no crescimento das bactérias ácido-láticas, e assim resultar em menor acidificação.

5.2.3. Sinérese

A Figura 4 apresenta a evolução dos teores de sinérese dos queijos no período de armazenamento. A sinérese foi mais intensa no queijo do tratamento L quando comparada com os queijos dos tratamentos I e M, e para os três tratamentos ocorreu redução da sinérese ao longo do tempo. O Anexo 3 apresenta a análise estatística do efeito do tratamento e do tempo de estocagem.

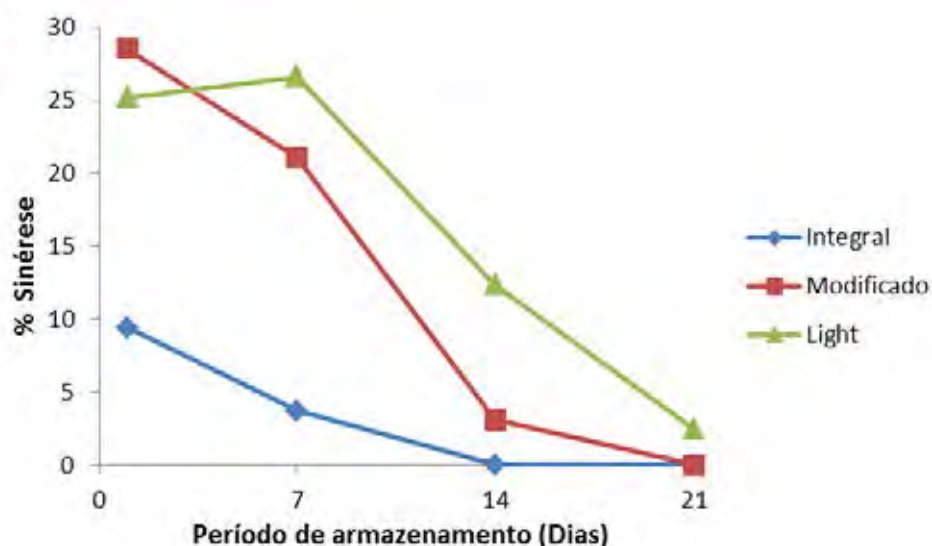


Figura 4 - Evolução da sinérese dos queijos dos tratamentos I, M e L ao longo do período de armazenamento. (Média de 6 resultados; n=6).

A sinérese é um rearranjo e encurtamento da matriz proteica numa estrutura mais compacta devido ao efeito de rompimento de ligações da malha proteica e a consequente formação de outras ligações, ou seja, consiste na expulsão gradativa do soro causada pela instabilidade e contração da rede do gel (WALSTRA; VAN DIJK; GUERTS, 1985; AICHINGER et al., 2003).

A adição de colágeno hidrolisado resultou em queijos com índice de sinérese superior à dos queijos do tratamento I, porém com valor numérico inferior à do

tratamento L, provavelmente pelo aumento na capacidade de retenção de água com a adição do colágeno hidrolisado. A quantidade total de soro liberado ao longo do tempo foi de 1,97 g, 7,9 g e 10 g para os queijos dos tratamentos I, M e L, respectivamente.

O menor índice de sinérese da amostra do queijo do tratamento I indica a formação de gel mais estável, enquanto os queijos dos tratamentos M e L, apresentam característica dura e elástica, pois 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 esta gordura é removida, a caseína passa a desempenhar uma função maior na textura do queijo (JAMENSON, 1990; ARDÖ, 1997; MISTRY, 2001; BANKS, 2004).

O aumento da capacidade de retenção de água foi também observado em estudos da suplementação do leite com diferentes fontes protéicas, incluindo o colágeno, para a produção de iogurtes. Houve uma maior retenção de água e menor sinérese nos iogurtes adicionados de 1,0 % de fibras de colágeno (MORETTI, 2009).

Diamantino (2011) avaliou o efeito de colágeno hidrolisado e concentrado proteico de soro na qualidade de queijo Prato com reduzido teor de gordura. 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 dos queijos de 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.

O colágeno é uma proteína bastante higroscópica, alcançando valores próximos a 65%. Assim, a fibra de colágeno apresenta maior umidade de equilíbrio, ou seja, maior capacidade de retenção de água em praticamente todas as atividades de água analisados por isothermas (WOLF, 2007).

5.3. Caracterização do perfil de textura

Os resultados dos parâmetros de textura apresentaram elevado desvio padrão, demonstrando a falta de uniformidade e homogeneidade das amostras de queijo. Os parâmetros dureza, fraturabilidade, adesividade, elasticidade, coesividade, gomosidade,

mastigabilidade e resiliência das amostras de queijos dos tratamentos I, M e L, fornecidos pelo *Texture Profile Analysis* (TPA), aos 7º e 14º dia de armazenamento, estão apresentados nas Tabelas 3 e 4.

Não houve diferença estatística de dureza entre as amostras dos queijos dos tratamentos I, M e L no 7º dia de armazenamento. As amostras dos queijos dos tratamentos M (889,10) e L (700,48) diferiram estatisticamente da amostra do queijo do tratamento I (327,77) no 14º dia de armazenamento. Os queijos do tratamento I são estatisticamente iguais aos queijos dos tratamentos M e L, no teor de umidade, no entanto, apresentam maior teor de gordura (Tabela 2). Durante o armazenamento, os queijos do tratamento I apresentaram menor índice de sinérese, proporcionando a manutenção da estrutura do gel, resultando em menor dureza. Além disso, a menor sinérese oferece melhores condições para a atuação das enzimas naturais do leite, do coalho residual e das bactérias ácido lácticas, presentes no queijo, que também influenciam a textura da matriz do queijo, reduzindo a dureza (FOX et al., 2000).

A maciez é também resultado da proteólise primária da caseína pela ação do coalho, pela hidrólise da α_{S1} -caseína e liberação da α_{S1-I} -caseína, resultando em mudanças na textura e formação dos compostos solúveis (CREAMER; OLSON, 1982; FOX; McSWEENEY, 1998; AHMED et al., 2005).

Outro motivo para explicar a menor dureza dos queijos do tratamento I é que o teor de acidez foi maior (Figura 3). O aumento da acidez, e consequente redução do valor de pH, afeta diretamente o queijo, diminuindo a concentração de cálcio presente, que determina uma textura mais mole em queijos (LEE; KLOSTERMEYER, 2001; YAZICI; DERVISOGLU, 2003). A menor dureza observada nos queijos do tratamento I ocorreu porque a matriz do queijo é influenciada pela concentração de cálcio. Quando há uma maior solubilização do cálcio ligado à caseína por meio da elevada acidez, ocorre o aumento da hidratação da caseína, que é acompanhado por uma expansão física ou inchaço da matriz de paracaseína (FOX et al., 2000).

Os valores de dureza dos queijos dos tratamentos M e L com 7 e 14 dias de armazenamento foram menores do que os encontrados por Silva (2011) em queijo Minas frescal adicionado de colágeno hidrolisado com o mesmo período de armazenamento, pois os queijos apresentam menor teor de proteína total (Tabela 2), resultando em um queijo com menor dureza.

Os parâmetros gomosidade e a mastigabilidade estão relacionados à dureza, apresentando comportamentos semelhantes. Não houve diferença estatística para gomosidade e mastigabilidade durante o armazenamento dos queijos dos tratamentos M e L, porém apenas no 7º dia de armazenamento a gomosidade foi estatisticamente igual entre os queijos dos tratamentos I e L.

Segundo Fox et al. (2000) e Souza, Ardo, McSweeney (2001), a proteólise é o mais complexo e importante dos processos bioquímicos que ocorrem durante o armazenamento de queijos, sendo responsável por mudanças na dureza, elasticidade, coesividade, fraturabilidade e adesividade, além das mudanças nas características do flavour, por meio de pequenos peptídeos e aminoácidos.

De maneira geral, os queijos *light* adicionados de colágeno hidrolisado (tratamento M) apresentaram perfil de textura mais próximos do queijo integral (Tabela 3).

Tabela 3 – Perfil de textura dos queijos dos tratamentos I, M e L no 7º dia de armazenamento.

Análises	Tratamentos		
	I (n=12)	M (n=12)	L (n=12)
Dureza (N)	855,46±900,77 ^A	951,18±466,89 ^A	819,56±475,73 ^A
Fraturabilidade	16,12±12,41 ^A	14,13±6,00 ^A	12,38±6,67 ^A
Adesividade (Ns)	-94,82±42,16 ^A	-59,45±42,98 ^{AB}	-53,25±87,92 ^B
Elasticidade	0,81±0,19 ^A	0,94±0,03 ^A	0,98±0,07 ^A
Coesividade	0,55±0,27 ^B	0,81±0,04 ^{AB}	0,82±0,04 ^A
Gomosidade (N)	354,95±132,82 ^B	771,55±374,55 ^A	677,85±404,50 ^{AB}
Mastigabilidade	270,06±63,30 ^B	727,25±349,24 ^A	652,60±386,19 ^A
Resiliência	0,22±0,14 ^B	0,42±0,03 ^A	0,44±0,06 ^A

^{A, B, C} Letras iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si (P>0,05). (n=12) – média de doze determinações.

Tabela 4 – Perfil de textura dos queijos dos tratamentos I, M e L no 14º dia de armazenamento.

Análises	Tratamentos		
	I (n=12)	M (n=12)	L (n=12)
Dureza (N)	327,77±141,84 ^B	889,10±682,19 ^A	700,48±368,64 ^A
Fraturabilidade	9,61±0,69 ^A	10,28±0,95 ^A	10,39±0,87 ^A
Adesividade (Ns)	-17,19±34,70 ^A	-43,77±66,58 ^A	-9,20±10,63 ^A
Elasticidade	0,85±0,07 ^B	0,90±0,07 ^{AB}	0,96±0,03 ^A
Coesividade	0,66±0,05 ^B	0,80±0,04 ^A	0,80±0,03 ^A
Gomosidade (N)	217,62±90,24 ^B	705,70±493,94 ^A	570,22±309,57 ^A
Mastigabilidade	183,06±67,48 ^B	635,98±453,58 ^A	545,48±292,75 ^A
Resiliência	0,25±0,01 ^B	0,40±0,03 ^A	0,39±0,04 ^A

^{A, B, C} Letras iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si (P>0,05). (n=12) – média de doze determinações.

Não houve diferença estatística de elasticidade entre as amostras dos queijos dos tratamentos I, M e L no 7º dia de armazenamento. Os valores de elasticidade das amostras M (0,94) e L (0,98) foram semelhantes ao encontrado por Hoch (2006) em queijo Minas frescal.

No 14º dia de armazenamento apenas as amostras dos tratamentos I e L apresentaram elasticidade estatisticamente diferente, sem haver diferenças entre as amostras dos queijos dos tratamentos I e M, e M e L.

Não houve diferença estatística dos parâmetros fraturabilidade, adesividade e resiliência entre os queijos dos tratamentos M e L durante o armazenamento. Porém houve diferença de resiliência dos queijos dos tratamentos M e L em relação ao tratamento I.

Aos 7 dias de armazenamento, houve diferença estatística de coesividade entre as amostras dos queijos dos tratamentos I e L, mas não houve diferença entre as amostras dos tratamentos I e M, e M e L. A adição de colágeno hidrolisado não afetou a

coesividade quando comparamos os queijos dos tratamentos M e L durante o armazenamento. Entretanto, no 14º dia de armazenamento apenas os queijos dos tratamentos M e L, não diferiram estatisticamente entre si, mas diferiram do tratamento I.

Assim, quando se compara os queijos dos tratamentos M e I, observa-se que o uso de colágeno influenciou a textura, pois a adição de colágeno hidrolisado contribuiu para a obtenção de queijos mais similares aos obtidos no tratamento I (queijo integral).

Os valores de coesividade dos queijos dos tratamentos M e L durante o armazenamento foram semelhantes aos encontrados por Hoch (2006) e por Buriti, Rocha e Saad (2005) para queijo Minas frescal e aos obtidos para queijo Prato com teor reduzido de gordura (GARCIA, 2007).

5.4. Caracterização do perfil eletroforético em gel de poliacrilamida (Uréia – PAGE)

A Figura 5 apresenta a evolução do perfil eletroforético em gel de poliacrilamida (uréia-PAGE) das amostras dos queijos dos tratamentos I, M e L ao longo do período de armazenamento. Dados em duplicata, referentes a dois processamentos.

Os resultados da caracterização do perfil eletroforético das amostras dos queijos Minas frescal dos tratamentos I, M e L mostram as frações β , α_{s1} da caseína e a hidrólise da fração α_{s1} -caseína em α_{s1-I} -caseína durante o armazenamento.

O perfil eletroforético dos queijos dos tratamentos I, M e L durante o armazenamento mostra que a α_{s1} caseína foi hidrolisada mais extensivamente que a β -caseína. Segundo Fox e McSweeney (1998), na maioria das variedades de queijo a α_{s1} -caseína é menos resistente à degradação comparada com a β -caseína. Na degradação da α_{s1} -caseína, a quimosina rompe a ligação entre os aminoácidos Phe (24)-Val (25), resultando em um fragmento insolúvel C-terminal α_{s1-I} , em um intervalo de pH entre 2,2 a 7,0. Por outro lado, quando a β -caseína é degradada pela plasmina (enzima naturalmente presente no leite), há a formação de γ -caseína, essas degradações que ocorrem na micela de caseína resultam em peptídeos de alto peso molecular (ORDÓNEZ et al., 2005; ANDREATTA, 2006).

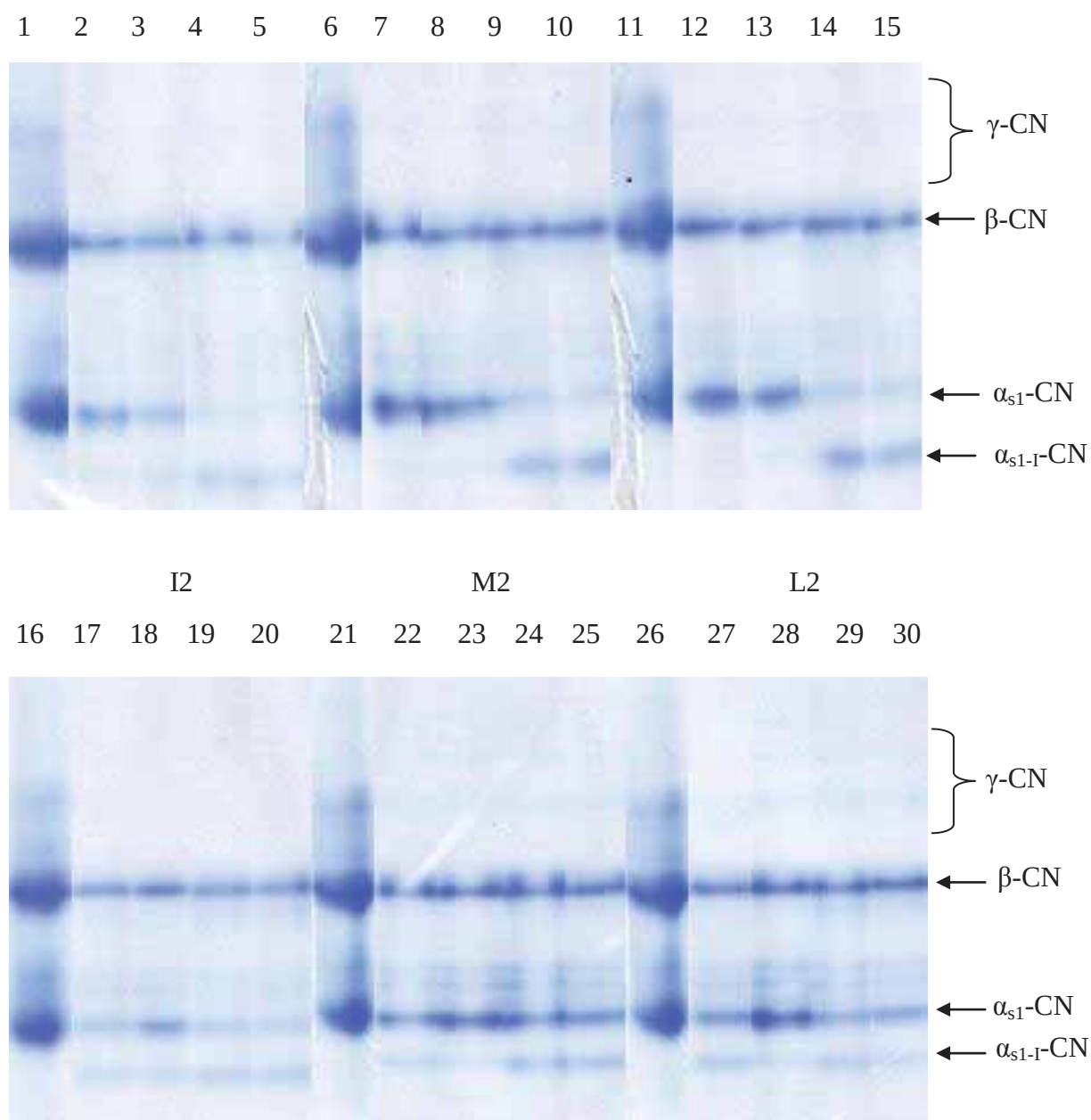


Figura 5- Eletroforese em gel de poliacrilamida (uréia-PAGE) das amostras dos queijos produzidos em dois processamentos (1, 2): tratamentos I, M e L. Bandas 1, 6, 11, 16, 21 e 26 – padrão de caseinato de sódio. I1 2 a 5 e I2 17 a 20 – Tratamento I aos 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento. M1 7 a 10 e M2 22 a 25 – Tratamento M aos 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento, L1 12 a 15 e L2 27 a 30 – Tratamento L aos 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento, do primeiro e do segundo processamento, respectivamente.

A α_{s1} -caseína apresentou maior degradação na amostra do queijo do tratamento I, em ambos os processamentos. A maior intensidade da hidrólise foi verificada em todos os tratamentos no final do armazenamento (no 14º e 21º dias).

A maior hidrólise da α_{s1} -caseína em relação à β -caseína, também foi observada em estudos realizados por Garcia (2010), Merheb-Dini (2010) e Diamantino (2011).

De maneira geral, a adição de colágeno hidrolisado contribuiu para que a hidrólise fosse similar àquela observada no queijo do tratamento I (Figura 5), provavelmente pela menor sinérese (Figura 4) e maior acidez (Figura 3) do que a observada nos queijos do tratamento L.

5.5. Caracterização microbiológica dos queijos

Os resultados da avaliação microbiológica dos queijos (população coliformes totais e fecais, bolores e leveduras e total de mesófilos), realizadas no 2º e 9º dias de armazenamento, estão apresentados nas Tabelas 5 e 6, respectivamente.

De acordo com a Resolução RDC 12 (BRASIL, 2001), a população de coliformes termo-tolerantes pode variar de 10^3 a 5×10^3 UFC/g. Não há citação na legislação dos limites para bolores e leveduras e total de mesófilos para queijos, portanto a qualidade microbiológica das amostras dos queijos de todos os processamentos atende ao limite estabelecido pela legislação brasileira, considerado adequado para se efetuar a análise sensorial.

Tabela 5 – Avaliação microbiológica dos queijos dos tratamentos I, M e L no 2º dia de armazenamento.

Avaliações	Tratamentos		
	I (n=4)	M (n=4)	L (n=4)
Coliformes totais (log UFC/g)	3,90	3,52	3,48
Coliformes fecais (NMP/g)	<1	<1	<1
Bolor e Levedura (NMP/g)	<1	<1	<1
Total de mesófilos (log UFC/g)	6,90	6,93	6,66

Tabela 6 - Avaliação microbiológica dos queijos dos tratamentos I, M e L no 9º dia de armazenamento.

Avaliações	Tratamentos		
	I (n=4)	M (n=4)	L (n=4)
Coliformes totais (log UFC/g)	3,88	3,20	2,87
Coliformes fecais (NMP/g)	<1	<1	<1
Bolores e leveduras (NMP/g)	<1	<1	<1
Total de mesófilos (log UFC/g)	6,81	6,68	6,63

5.6. Avaliação sensorial dos queijos

Os resultados médios da avaliação sensorial das amostras dos queijos dos tratamentos I, M e L, nos 7º e 14º dias de armazenamento encontram-se nas Tabelas 7 e 8, para os atributos aparência, aroma, textura, sabor, e avaliação global. Em geral, as amostras dos tratamentos M e L apresentaram boa aceitação, com médias variando entre 6 (gostei levemente) e 7 (gostei moderadamente) para todos os atributos, em ambos períodos de armazenamento.

Os queijos do tratamento I apresentaram menor aceitação, com médias variando entre 5 (nem gostei nem desgostei) e 6 (gostei levemente) para todos os atributos. As amostras dos queijos do tratamento I no 7º dia de armazenamento apresentaram média 6 (gostei levemente) apenas para os atributos aparência, aroma e sabor. No 14º dia de armazenamento, os provadores gostaram ligeiramente apenas do atributo aroma, os demais outros atributos obtiveram média 5 (não gostei nem desgostei) pelos provadores. Provavelmente esta menor aceitação sensorial está relacionada com a acidez e textura, uma vez que este queijo apresentou a maior acidez (Figura 3), menor sinérese ao longo do tempo (Figura 4), a menor dureza (Tabelas 3 e 4).

Apesar da avaliação dos provadores não mostrar diferenças na aceitabilidade dos queijos M e L, a adição de colágeno hidrolisado resultou em características físico-químicas (composição centesimal, acidez titulável, sinérese, textura e proteólise) próximas das apresentadas pelos queijos do tratamento I, ou seja, a adição de colágeno hidrolisado minimizou os defeitos normalmente encontrados em queijos *light*.

Não houve diferença significativa ($p < 0,05$) na aceitação dos queijos dos tratamentos M e L para todos os atributos no 7º dia e no 14º dia. Também não houve diferença significativa no sabor dos queijos dos tratamentos M e L, portanto, a adição de colágeno hidrolisado não resultou em alteração de sabor do queijo do tratamento M, demonstrando o potencial de utilização.

Tabela 7 – Análise sensorial dos queijos dos tratamentos I, M e L no 7º dia de armazenamento.

Atributos	Tratamentos		
	I (n=50)	M (n=50)	L (n=50)
Aparência	6,49±1,76 ^B	7,51±1,06 ^A	7,51±1,12 ^A
Aroma	6,67±1,53 ^A	7,12±1,09 ^A	7,20±1,19 ^A
Textura	5,71±1,91 ^B	7,24±1,13 ^A	7,12±1,25 ^A
Sabor	5,94±2,07 ^A	6,84±1,37 ^A	6,84±1,16 ^A
Avaliação global	6,12±1,74 ^B	7,10±0,98 ^A	7,12±1,07 ^A

^{A, B, C} Letras iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si ($P > 0,05$).

Tabela 8 – Análise sensorial dos queijos dos tratamentos I, M e L no 14º dia de armazenamento.

Atributos	Tratamentos		
	I	M	L
	(n=50)	(n=50)	(n=50)
Aparência	5,46±1,95 ^B	7,68±0,91 ^A	7,58±1,03 ^A
Aroma	6,50±1,77 ^A	7,14±1,19 ^A	6,84±1,50 ^A
Textura	5,86±1,93 ^B	7,44±1,21 ^A	7,24±1,30 ^A
Sabor	5,58±2,08 ^B	7,22±1,45 ^A	6,68±1,62 ^A
Avaliação global	5,68±1,74 ^B	7,30±1,16 ^A	7,02±1,36 ^A

^{A, B, C} Letras iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si ($P \geq 0,05$).

Os queijos dos tratamentos M e L apresentaram elevada aceitabilidade no atributo textura, com médias de 7,44 e 7,24, respectivamente. Os queijos do tratamento I tiveram a menor sinérese (Figura 4) e menor dureza (Tabelas 3 e 4) durante o armazenamento, podendo ser caracterizados como queijos mole e úmidos, enquanto a redução no teor de gordura aumentou a interação proteína-proteína, resultou em maior sinérese e dureza durante a maturação, porém, com maior aceitabilidade pelos provadores.

6. CONCLUSÕES

Os queijos com teor reduzido de gordura apresentaram pequenas alterações na composição centesimal quando comparados com os integrais e a qualidade microbiológica dos queijos atendeu os requisitos da legislação brasileira. A adição de colágeno hidrolisado (tratamento M) resultou em queijos com acidez e índice de sinérese mais próximas das obtidas no queijo integral (tratamento I). Não houve muitas diferenças no perfil de textura dos queijos. A dureza de todos os queijos foi semelhante no início do armazenamento, porém os queijos integrais apresentaram menor dureza que os demais no final do armazenamento. O perfil eletroforético da caseína ao longo do tempo mostrou que a hidrólise do queijo do tratamento M foi semelhante à do queijo do tratamento I. Os provadores gostaram das características sensoriais dos queijos dos tratamentos M e L, atribuindo notas variando de 6 (gostei levemente) a 7 (gostei moderadamente).

De maneira geral, a adição de colágeno hidrolisado apresentou resultados promissores, reduzindo os defeitos normalmente encontrados nos queijos *light*.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIQ - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJO. **Produção brasileira de produtos lácteos em estabelecimento sob inspeção federal**. São Paulo, 2010.
- AHMED, N. H. et al. Improving the textural properties of an acidic-coagulated (Karish) cheese using exopolysaccharid producing cultures. **LWT: Food Science and Technology**, London, v. 38, n. 8, p. 843-847, 2005.
- AICHINGER, P. A. et al. Fermentation of skim milk concentrate with *Streptococcus thermophilus* and chymosin: structure, viscoelasticity and syneresis of gels. **Colloids and Surfaces. B. Biointerfaces**, Amsterdam, v. 31, p. 243-255, 2003.
- ALEGRET, L. P. Substitutos de materia grasa. **Alimentaria**, Madrid, v. 36, n. 281, p.119-121, 1997.
- ALIZADEH, M.; HAMED, M.; KROSROSHAHI, A. Modeling of proteolysis and lipolysis in Iranian white brine cheese. **Food Chemistry**, London, v. 97, n. 2, p. 294-301, 2006.
- AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION REPORTS. Position of the American Dietetic Association: fat replacers. **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago, v. 105, n. 2, p. 266-275, 2005.
- ANDREATTA, E. **Avaliação da qualidade dos queijos Minas frescal e tipo Mussarela produzidos com leite contendo diferentes níveis de células somáticas**. 2006. 110 f. Tese (Doutorado em Qualidade e Produtividade Animal)-Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2006.
- ANDRÉN, A. Milk-clotting activity of various rennets and coagulants: background and information regarding IDF Standards. **Bulletin of the International Dairy Federation**, Brussels, n. 332, p. 9-14, 1998.
- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Dairy products. In: **Official Methods of Analysis**. 16. ed. Arlington, 1997
- ARDÖ, Y. Flavour and texture in low-fat cheese. In: LAW, B. A. (Ed.). **Microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk**. 2 ed. London: Blackie Academic & Professional, 1997. p. 207-218.
- ARYANA, K. J.; HAQUE, Z. U. Effect of commercial fat replacers on the microstructure of low-fat Cheddar cheese. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 36, n. 2, p. 166-177, 2001.
- BANKS, J. M. The technology of low-fat cheese: manufacture. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v. 57, n. 4, p. 119-207, 2004.

BITTAR, A. M.; VIOTTO, W. H. Efeito de substitutos de gordura no queijo Minas frescal *light*. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNICAMP, 10., 2002, Campinas. **Anais...** Campinas: UNICAMP, 2002.

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

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº 4, de 01 de março de 2004. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Poder Executivo, Brasília, DF, 01 mar. 2004. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 6 jun. 2009.

_____. 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. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 6 jan. 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Portaria nº 146, de 07 de março de 1996. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Poder Executivo, Brasília, DF, 04 mar. 1996. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 15 ago. 2009.

_____. Portaria nº 352, de 04 de setembro de 1997. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Queijos Minas Frescal. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Poder Executivo, Brasília, DF, 04 set. 1997. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 6 jun. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998. Aprova o regulamento técnico referente à informação nutricional complementar (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.

_____. Resolução RDC nº 12. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Poder Executivo, Brasília, DF, 12 de janeiro de 2001.

BURITI, F. C. A.; ROCHA, J. S.; SAAD, S. M. I. Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. **International Dairy Journal**, Barking, v. 15, n.12, p. 1279-1288, 2005.

CAMPBELL, M. K. **Bioquímica**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2000.

- CAMPOS, D. C. **Queijo**: breve histórico e principais características. Piracicaba: ESALQ/NAPMA, 2001. 59 p. (NAPMA, 11)
- CÂNDIDO, L. M. B.; CAMPOS, A. M. Substitutos de gordura. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v. 13, n. 2, p. 125-164, 1995.
- CASE, R. A.; BRADLEY JUNIOR, 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.
- CASTILHOS, M. B. M. et al. Otimização da concentração de gomas guar e carragena para a elaboração de queijo Minas frescal *light*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 22., 2010, Salvador. **Anais...** Salvador, 2010.
- 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.
- 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 manufactured: effect on composition, proteolysis, viscoelastic properties and sensory acceptance. **International Dairy Journal**, Barking, v. 16, n. 3, p. 215-224, 2006.
- DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.
- DIAMANTINO, I. M. **Efeito de substitutos de gordura na qualidade de queijo Prato com reduzido teor de gordura**. 2011. 68 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos)-Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2011.
- DZIEZAK, J. D. A focus on gums. **Food Technology**, Chicago, v. 45, n. 3, p. 117-132, 1991.
- FARIA, E. V.; YOTSUYANAGI, K. **Técnicas de análise sensorial**. 2. ed. Campinas: ITAL, 2008. 120 p.
- FENELON, M. A.; GUINEE, T. P. Primary proteolysis and textural changes during ripening in Cheddar cheese manufactured to different fat contents. **International Dairy Journal**, Barking, v. 10, n. 3, p. 151-158, 2000.
- 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**. Maryland: Aspen Publishers, 2000.

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

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

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

_____; SOUZA, H. M.; MUNCH, A. V. A. Fabricação do queijo Minas Frescal sem emprego de culturas lácticas. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 207, n. 35, p. 15-21, 1980.

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.

_____. **Influência de enzimas proteolíticas, de origem vegetal e microbiana, e da temperatura de maturação nas características de queijo Prato com reduzido teor 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.

_____; et al. Composição de macronutrientes e evolução da maturação de queijo Prato com teor reduzido de gordura adicionado de enzima proteolítica *fastuosaína*. **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: 15 ago. 2011.

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

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.

HOCH, C. B. S. **Influência de cultura *starter* termofílica sobre a viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* e as características de queijo Minas frescal probiótico**. 2006. 101 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica)-Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

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

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

JORGE, N. **Química e tecnologia de óleos vegetais**. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2009. 165 p.

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

KLUG, W. S.; CUMMING, M. R. Concepts of genetics. New Jersey: Upper Saddle River; Prentice Hall, 1997 apud SAEIDI, N. **On the control of collagen fibril organization and morphology**. 2009. 186 f. Dissertation (Department of Mechanical and Industrial Engineering)-Northeastern University, Boston, 2009.

LEE, S. K.; KLOSTERMEYER, H. The effect of pH on the rheological properties of reduced-fat model processed cheese spreads. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, London, v. 34, n. 5, p. 288-292, 2001.

LEFEBVRE, J.; ANTONOV, Y. The effect of the melting of the collagen-like gelatin aggregates on the stability against aggregation of the bovine casein micelles. **Colloid and Polymer Science**, Darmstadt, v. 279, n. 4, p. 393-397, 2001.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de bioquímica**. 2. ed. São Paulo: Sarvier, 1995.

LINDEN, G.; LORIENT, D. **New ingredients in food processing**: biochemistry and agriculture. Boca Raton: CRC Press, 2000.

LOBATO-CALLEROS, C. 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.

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

MARAGLIO, A. M. Nutrient substitutes and their energy values in fat substitutes and replacers. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 62, p. 1175S-1179S, Nov. 1995. Supplement.

MARUYAMA, L. Y. et al. Textura instrumental de queijo *petit-suisse* potencialmente probiótico: influência de diferentes combinações de gomas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 386-393, 2006.

MENIS, M. E. C. **Alternativas para melhoria da qualidade de queijo Prato com baixo teor de gordura**. 2009. 20 f. Projeto de Pesquisa (Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos)-Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2009.

MERHEB-DINI, C. **Produção, purificação e caracterização da protease de *Thermomucor indicae-seudaticae* N31 e avaliação de sua aplicação na fabricação de queijo Prato**. 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.

MICHAELIDOU, A. et al. Effect of commercial adjunct cultures on proteolysis in low-fat Kefalograviera-type cheese. **International Dairy Journal**, Barking, v. 13, n. 9, p. 743-753, 2003.

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

_____. Low-fat fermented milk products. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 13., 2002, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre, 2002.

MORETTI, B. R. **Efeito da suplementação do leite com proteína de diferentes fontes (soro de leite, soja e colágeno) e da composição de cultura láctica em iogurtes**. 2009. 130 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos)-Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2009.

MOSKOWITZ, R. W. Role of collagen hydrolysate in bone and joint disease. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**, Orlando, v. 30, n. 2, p. 87-99, 2000.

OESSER, S. et al. Oral administration of ¹⁴C-labelbed gelatin hydrolysate leads to an accumulation of radioactivity in cartilage of mice (C57/BL). **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 129, n. 10, p. 1891-1895, 1999.

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

ORDÓÑEZ, J. A. et al. **Tecnologia de alimentos: alimentos de origem animal**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 2 v.

PERRY, K. S. P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 2, p. 293-300, 2004.

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.

PRUDÊNCIO, I. D. **Propriedades físicas de queijo PETIT-SUISSE elaborado com retentado de soro de queijo e estabilidade de antocianinas e betalaínas adicionadas**. 2006. 87 f. Dissertação (Mestrado e Ciência do Alimentos)-Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2006.

RODRÍGUEZ, J. Recent advances in the development of low-fat cheese. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 9, n. 6, p. 249-254, 1998.

ROLLER, S.; JONES, S. A. **Handbook of fat replacers**. Weimar: Chips, 1996. 336 p.

SANGALETTI, N. et al. Estudo da vida útil de queijo Minas. **Ciências e Tecnologia Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 2, p. 262-269, 2007.

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

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. et al. Efeito da redução de gordura na população microbiana e na formação de “flavour” do queijo. **Revista Indústria de Laticínios**, São Paulo, n. 50, p. 58-61, mar./abr. 2004.

_____.; VAN DENDER, A. G. F. Produtos lácteos com teor reduzido de gordura: importância e estratégia para otimização da qualidade sensorial. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 60, n. 342, p. 3-12, 2005.

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. 117 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, M. H. et al. Avaliação físico-química do leite pasteurizado integral proveniente de micro-usinas e comercializado no estado da Bahia. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 58, n. 335, p. 25-27, 2003.

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

SILVA, T. F. **Efeito de substitutos de gordura sobre a qualidade tecnológica de queijo Minas frescal**. 2011. 41 f. Qualificação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos)-Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2011.

_____. et al. Queijo Minas frescal *light* adicionado de goma carragena e guar: caracterização físico-química, proteólise e sinérese. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 22., 2010, Salvador. **Anais...** Salvador, 2010.

SOUZA, M. J.; ARDÖ, Y.; McSWEENEY, P. L. H. Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. **International Dairy Journal**, Barking, v. 11, p. 327-345, 2001.

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. England: Woodhead Publishing Limited, 1999. 619 p.

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

VERUS MADASA BIOTECNOLOGIA. **Compact Dry®**. Contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos, enterobactérias, coliformes totais, coliformes termotolerantes, *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus*, bolores e leveduras. Disponível em: <http://www.verusmadasa.com.br/index.php?option=com_content&view=article&id=72&Itemid=114>. Acesso em: 15 ago. 2011.

WALRAND, S. et al. Consumption of a functional fermented milk containing collagen hydrolysate improves the concentration of collagen-specific amino acids in plasma. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Easton, v. 56, n. 16, p. 7790–7795, 2008.

WALSTRA, P. et al. **Dairy technology: principle 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.

_____; VAN DIJK, H. J. M.; GEURTS, T. J. The syneresis of curd. 1. General considerations and literature review. **Netherlands Milk and Dairy Journal**, Amsterdam, v. 39, p. 209-246, 1985.

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. 56, n. 61, p. 1-8, 1983.

_____; LIMA, A. Extensão e profundidade da proteólise em queijo Minas frescal. **Revista do Instituto de Laticínios de Cândido Tostes**, São Paulo, v. 44, n. 261-266, p. 50-52, 1989.

YAZICI, F.; DERVISOGLU, M. Effect of pH adjustment on some chemical, biochemical, and sensory properties of Civil cheese during storage. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 56, p. 261-269, 2003.

ZIEGLER, F. F.; SGARBIERI, V. C. Caracterização químico-nutricional de um isolado protéico de soro de leite, um hidrolisado de colágeno bovino e misturas dos dois produtos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 22, n. 1, p. 61-70, 2009.

ANEXOS

Anexo 1



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



TERMO DE COMPROMISSO

Eu, Tatiane Ferreira da Silva, RG:SP-34.004.838-4, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, IBILCE, Discente de pós-graduação, responsável pelo projeto "EFEITO DE SUBSTITUTOS DE GORDURA NA QUALIDADE TECNOLÓGICA DE QUEIJO MINAS FRESCAL", comprometo-me cumprir os termos da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

São José do Rio Preto, 17 de março de 2010.

Tatiane Ferreira da Silva
Tatiane Ferreira da Silva
Pesquisadora

DE ACORDO
18/03/10

Prof(a). Dr(a). Vânia Regina Nicoletti Telis
Chefe do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos



MINISTÉRIO DA SAÚDE
Conselho Nacional de Saúde
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS				FR - 286635	
Projeto de Pesquisa EFEITO DE SUBSTITUTOS DE GORDURA NA QUALIDADE TECNOLÓGICA DE QUEIJO MINAS FRESCAL					
Área de Conhecimento 5.07 - Ciência e Tecnologia de Alimentos			Grupo Grupo III	Nível	
Área(s) Temática(s) Especial(s)				Fase Não se Aplica	
Unidades Substituto de gordura, queijo Minas Frescal					
Sujeitos na Pesquisa					
Nº de Sujeitos no Centro 50	Total Brasil 50	Nº de Sujeitos Total 50	Grupos Especiais		
Placebo NÃO	Medicamentos HIV/AIDS NÃO	Wash-out NÃO	Sem Tratamento Específico NÃO	Banco de Materiais Biológicos NÃO	
Pesquisador Responsável					
Pesquisador Responsável Tatiane Ferreira da Silva		CPF 352.762.226-48	Identidade 340048384		
Área de Especialização CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS		Maior Titulação GRADUAÇÃO	Nacionalidade BRASILEIRA		
Endereço RUA Filadelfia Maria B. Faria, 215 apto 11C		Bairro Jardim Vieira	Cidade SÃO JOSÉ DO RIO PRETO - SP		
Código Postal 15055-280	Telefone (1017) 8151-8664	Fax	Email tat_ferreira@yahoo.com.br		
Termo de Compromisso					
Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas complementares. Comprometo-me a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e publicar os resultados sejam eles favoráveis ou não.					
Assino as responsabilidades pela condução científica do projeto acima.					
Data: 08/10/2010		Assinatura: <i>Tatiane Ferreira da Silva</i>			
Instituição Onde Será Realizado					
Nome Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, Campus de São José do Rio Preto - SP		CNPJ 48.031.818/0011-04	Nacional/Internacional Nacional		
Unidade/Órgão Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos		Participação Estrangeira NÃO	Projeto Multicêntrico NÃO		
Endereço Rua Cristóvão Colombo 2265		Bairro Jardim Nazaré	Cidade São José do Rio Preto - SP		
Código Postal 15154-000	Telefone (17) - 3221 2456	Fax	Email lsaraiva@ibilce.unesp.br		
Termo de Compromisso					
Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste projeto, autorizo sua execução.					
Nome: <i>Vanderlei da Silva Del Bianco</i>		Assinatura: <i>[Assinatura]</i>			
Data: 13/05/2010		Prof. Dr. Carlos Roberto Cerchi Diretor			

O Projeto deverá ser entregue no CEP em até 30 dias a partir de 27/08/2009. Não ocorrendo a entrega nesse prazo esta Folha de Rosto será INVALIDADA.

**PARECER CONSUBSTANCIADO
PROJETO DE PESQUISA**

IDENTIFICAÇÃO

Nome do pesquisador: Tatiane Ferreira da Silva
Departamento: Engenharia e Tecnologia de Alimentos
Instituição: IBILCE/Unesp de São José do Rio Preto
Projeto: "Efeito de substitutos de gordura na qualidade tecnológica de queijo minas frescal"
Protocolo: 0008.0.229.000-10

PARECER nº 031/10

Frente ao aumento de doenças cardíacas e metabólicas na população humana, tem sido crescente a procura por produtos com baixo teor energético. Por outro lado, especialmente nos queijos, as gorduras fornecem, sabor, maciez e acidez muito aceitáveis ao paladar. A ausência das gorduras causa um gosto amargo e aumenta a dureza dos produtos.

O presente projeto propõe a diminuição da gordura presente no queijo minas frescal sem que haja prejuízo do sabor e da textura. A pesquisadora testará a adição de Gomas de carragem e Guar, além de colágeno hidrolisado a leites pasteurizados com teor de 1,5% de gordura.

Será feita análise da composição centesimal para verificar possíveis alterações de gorduras, umidade, proteínas, acidez, cinzas, teor de sal e nitrogênio. Os queijos serão mantidos em repouso e no sétimo e vigésimo dia, com o uso de um texturômetro, serão avaliadas as texturas. Além disso, será analisada a microestrutura, o perfil eletroforético e sensorial, e as características microbiológicas.

O projeto está apresentado adequadamente com todos os itens exigidos. Será montado, um grupo de 50 pessoas com idade entre 18 e 70 anos com escolha aleatória entre professores, funcionários e alunos da Unesp de São José do Rio Preto. As mesmas serão esclarecidas a respeito da degustação e responderão a questionários sobre a palatabilidade do produto. Estas opiniões irão desde gostei muitíssimo até desgostei muitíssimo.

Caso haja algum problema à saúde dos participantes, estes serão atendidos no Unamos, ambulatório médico local, e a pesquisa será suspensa imediatamente até que seja reavaliada. Os dados fornecidos serão objeto de estudo apenas da atual pesquisa e serão guardados em sigilo. Os resultados da pesquisa serão divulgados em meios específicos da área. A pesquisadora não possui trabalhos publicados em revistas científicas, o que é natural por ser aluna de mestrado, porém a sua orientadora possui vasto conhecimento na área.

A pesquisadora possui bolsa da Capes e será solicitada verba junto a Fapesp para custear o projeto. De acordo com o exposto, e o projeto atende os termos da resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, portanto o CEP aprova o projeto em questão.

(X) APROVADO

() COM PENDÊNCIA, máximo de 60 dias para atendimento

() RETIRADO

() NÃO APROVADO

() APROVADO, aguardar apreciação final da CONEP

Datas previstas para apresentação dos relatórios

1º relatório: março/2011 – 2º relatório: março/2012 - 3º relatório final: setembro/2012

Obs.: Para facilitar a apresentação do relatório poderá seguir como orientação o roteiro no site http://www.ibilce.unesp.br/instituicao/comissoes/etica/arquivos/Roteiro_02.doc

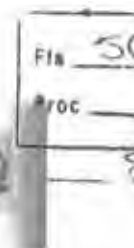
São José do Rio Preto, 07 de julho de 2010

Prof. Dr. Raul Aragão Martins
Coordenador do CEP

Rua Wladimir Colombo, 2265 – Jardim Nazareth - CEP 16054-000
São José do Rio Preto - SP - Brasil



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



Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE (Conselho Nacional de Saúde, Resolução 196/96)

Você está sendo convidado a participar como voluntário do projeto de pesquisa "Efeito de substitutos de gordura na qualidade tecnologica de queijo Minas frescal" sob responsabilidade da pesquisadora Tatiane Ferreira da Silva. O estudo será realizado com Queijo Minas Frescal para avaliação dos efeitos dos substituto de gordura sobre suas características sensoriais. Você poderá consultar a pesquisadora responsável em qualquer época, pessoalmente ou pelo telefone da instituição, para esclarecimento de qualquer dúvida. Você está livre para, a qualquer momento, deixar de participar da pesquisa. Todas as informações por você fornecidas e os resultados obtidos serão mantidos em sigilo e, estes últimos só serão utilizados para divulgação em reuniões e revistas científicas. Você será informado de todos os resultados obtidos, independentemente do fato destes poderem mudar seu consentimento em participar da pesquisa. Você não terá quaisquer benefícios ou direitos financeiros sobre os eventuais resultados decorrentes da pesquisa. Este estudo é importante porque seus resultados fornecerão informações para escolha adequada dos substitutos de gordura a serem utilizadas em Queijo Minas Frescal para atendimento de características específicas desejadas.

Diante das explicações, se você concorda em participar deste projeto, coloque sua assinatura a seguir e forneça os dados solicitados.

Nome: _____ R.G. _____

Endereço: _____ Fone: _____

São José do Rio Preto, _____ de Março de 2010.

Usuário ou responsável legal

Tatiane Ferreira da Silva
Pesquisador responsável
Tatiane Ferreira da Silva

OBS.: Termo apresenta duas vias, uma destinada ao usuário ou seu representante e a outra ao pesquisador

Nome: Tatiane Ferreira da Silva

Cargo/Função: Discente de pós-graduação

Instituição: Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"

Endereço: Rua Cristóvão Colombo, 2265. São José do Rio Preto – SP

Projeto submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do IBILCE/UNESP

São José do Rio Preto – fone 17-3221.2456 / 3221.2317

Anexo 2

Evolução da acidez (% ácido láctico) dos queijos dos tratamentos I, M e L, durante o armazenamento.

Dias de Análises	Tratamentos		
	I	M	L
	(n=6)	(n=6)	(n=6)
1	0,64±0,05 ^{Ab}	0,41±0,02 ^{Ab}	0,36±0,05 ^{Bb}
7	0,77±0,11 ^{Aab}	0,58±0,07 ^{Aab}	0,50±0,10 ^{Bab}
14	0,84±0,09 ^{Aab}	0,72±0,04 ^{ABab}	0,66±0,10 ^{Ba}
21	0,89±0,09 ^{Aa}	0,84±0,05 ^{Aa}	0,71±0,14 ^{Aa}

A, B, C Letras iguais na mesma linha, ^{a, b, c} Letras iguais na mesma coluna, não diferem significativamente entre si (P≥0,05).

Anexo 3

Evolução da sinérese (% sinérese) dos queijos dos tratamentos I, M e L, durante o armazenamento.

Dias de Análises	Tratamentos		
	I	M	L
	(n=6)	(n=6)	(n=6)
1	9,42±4,21 ^{Ba}	28,54±4,98 ^{Aa}	25,21±10,05 ^{Aa}
7	3,73±4,05 ^{Bab}	21,07±5,48 ^{ABab}	26,61±6,07 ^{Aa}
14	0,03±0,05 ^{Abc}	3,08±3,36 ^{Abc}	12,36±13,34 ^{Aab}
21	0,00±0,00 ^{Ac}	0,00±0,00 ^{Ac}	2,47±2,99 ^{Ab}

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

Quantidade de soro liberado (em gramas) durante a centrifugação dos queijos dos tratamentos I, M e L, durante o armazenamento.

Dias de Análises	Tratamentos		
	I	M	L
	(n=6)	(n=6)	(n=6)
1	1,41	4,28	3,78
7	0,56	3,16	3,99
14	0,00	0,46	1,85
21	0,00	0,00	0,46
Total de soro (g)	1,97	7,9	10,08