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

VIVIAN RIBEIRO DIAMANTINO

"EFEITO DA ADIÇÃO DE AMIDO DE MILHO CEROSO EM QUEIJO MINAS FRESCAL COM TEOR REDUZIDO DE GORDURA"

São José do Rio Preto
2013

VIVIAN RIBEIRO DIAMANTINO

“EFEITO DA ADIÇÃO DE AMIDO DE MILHO CEROSO EM QUEIJO MINAS FRESCAL COM TEOR REDUZIDO DE GORDURA”

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Área de Concentração de Ciência e Tecnologia 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.

Orientadora: Profª. Drª. Ana Lúcia Barretto Penna

São José do Rio Preto
2013

Diamantino, Vivian Ribeiro.
Efeito da adição de amido de milho ceroso em queijo Minas frescal com teor reduzido de gordura / Vivian Ribeiro Diamantino. - São José do Rio Preto: [s.n.], 2013.
91 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 minas frescal - Indústria. 3. Alimentos de origem animal - Teor de gorduras. I. Penna, Ana Lúcia Barretto. II. Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. III. Título.

CDU - 637.352

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE
Campus de São José do Rio Preto - UNESP

VIVIAN RIBEIRO DIAMANTINO

"EFEITO DA ADIÇÃO DE AMIDO DE MILHO CEROSO EM QUEIJO MINAS FRESCAL COM TEOR REDUZIDO DE GORDURA"

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Área de Concentração de Ciência e Tecnologia 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

Profª. Drª. Ana Lúcia Barretto Penna
UNESP – São José do Rio Preto – S. P.
Orientadora

Profª. Drª. Walkiria Hanada Viotto
UNICAMP – Campinas – S.P.

Profª. Drª. Raquel Guttierres Gomes
UEM – Maringá – P.R.

São José do Rio Preto
15 de Março de 2013

“O que importa não é o que você tem na vida,
mas quem você tem na vida.”
(William Shakespeare)

Dedico este trabalho...

Aos meus pais Maria Teresa e Marcos,
por serem minha eterna inspiração.

AGRADECIMENTOS

À professora Drª. Ana Lúcia Barretto Penna, pela oportunidade, paciência, amizade e orientação em todas as etapas do desenvolvimento deste projeto.

Aos meus pais, Maria Teresa e Marcos e à minha irmã, Vanessa, por todo amor e dedicação e por estarem sempre ao meu lado, principalmente nos momentos mais difíceis, me dando força para seguir em frente e alcançar meus objetivos.

Ao meu namorado, Thales pelo carinho e compreensão nos momentos de muito trabalho e pelo incentivo incondicional na busca por minha realização profissional.

Aos meus amigos do laboratório, Bia, Sabrina, Luana, Aline, Janaína e Daniel e aos amigos também presentes nesta importante etapa em minha vida, Mariana, Cecília, Luana, Felipe, Jaqueline e Thaísa pela amizade, apoio e momentos de descontração que tornaram esta longa caminhada muito mais feliz e prazerosa.

Em especial, às amigas que contribuíram diretamente para a realização deste trabalho: Fernanda, Tássila, Aline e Tatiane, muito obrigada pela consideração, disposição e bom humor, que foram fundamentais à realização deste projeto, sempre me encorajando à enfrentar as dificuldades do dia-dia.

Muito obrigada também aos amigos de toda a vida, que mesmo longe, possuíram e ainda possuem um papel muito importante em minha vida, contribuindo de diferentes formas para que eu chegasse até aqui hoje: Augusto, Felipe, Ana Carolina, Kelly, Karen, Ivana, Tábata e Bruno.

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

Ao Centro de Microscopia e Microanálise do IBILCE – UNESP, São José do Rio Preto – S.P., à Profª. Drª. Lilian Madi-Ravazzi pela captura das imagens no MEV (FAPESP, 95/06165-1) e à técnica Rosana pela ajuda na preparação das amostras.

Aos técnicos Luiz e Ginaldo, pelo convívio diário e auxílio nas mais diferentes situações do laboratório.

Às Professoras Doutoras Walkiria Hanada Viotto e Raquel Guttierres Gomes, pela atenção e pelas valiosas sugestões durante o exame geral de qualificação.

Por fim, agradeço a todos que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste projeto.

RESUMO

O queijo Minas frescal é um queijo tipicamente brasileiro, branco, macio e fresco e que possui ampla aceitação no mercado nacional. A redução do teor de gordura no queijo Minas frescal afeta, principalmente, o sabor, a textura e o rendimento. Uma das estratégias que vem sendo utilizadas para melhorar a qualidade de queijos com reduzido teor de gordura é a adição de substitutos de gordura. Bons resultados foram encontrados em queijos frescos que utilizaram amido como substituto. Neste trabalho, o objetivo foi estudar o efeito da redução da gordura e da adição de amido de milho ceroso nas características tecnológicas de queijo Minas frescal. Foram produzidos queijos, em três processamentos, de acordo com três tratamentos: Queijo integral (QI); queijo com teor reduzido de gordura (QL) e queijo com teor reduzido de gordura e 0,5% de amido de milho ceroso (QA). Foram realizadas análises de composição centesimal, rendimento, acidez, pH, capacidade de retenção de água, perfil de textura, microestrutura, perfil eletroforético da caseína, caracterização microbiológica e avaliação sensorial. Em geral, os tratamentos aplicados influíram nas características do queijo Minas frescal. Na composição centesimal, a redução da gordura aumentou os teores de umidade, proteínas e cinzas, enquanto que a adição de amido aumentou a umidade do queijo e promoveu, ao fim do tempo de armazenamento, maior capacidade de retenção de água (CRA), semelhante à QI, indicando que o amido, reduziu a taxa de sinérese no produto. Para todas as amostras, houve aumento da acidez, ao longo do tempo. Os queijos com baixos teores de gordura apresentaram menor rendimento que o queijo integral e a adição de amido não proporcionou aumento no rendimento. Os parâmetros de textura aumentaram com a redução do teor de gordura e não houve influência do amido na melhora destes parâmetros. Assim como não houve influência do amido na microestrutura e na proteólise dos queijos. O queijo integral apresentou uma microestrutura mais aberta e maior degradação da α_{S1}-caseína, ao fim do armazenamento, quando comparado aos queijos *light.* Todas as amostras apresentaram qualidade higiênico-sanitária satisfatória, atendendo aos requisitos microbiológicos estabelecidos para queijo Minas frescal pelos Padrões Microbiológicos para Alimentos. Além disso, não houve influência do amido no aumento da aceitabilidade dos atributos sensoriais do queijo Minas frescal. De

maneira geral, a redução da gordura, influenciou, principalmente, no aumento da dureza e dos teores de umidade, proteínas e cinzas e diminuiu a capacidade de retenção de água, a taxa de proteólise e o rendimento do queijo, enquanto que, a adição de 0,5% de amido de milho ceroso, aumentou a umidade e a capacidade de retenção de água do queijo Minas frescal com teor reduzido de gordura.

Palavras-chave: Queijos *light*; substituto de gordura; microestrutura; textura; avaliação sensorial.

ABSTRACT

Minas fresh cheese is a typical Brazilian, white, soft and fresh cheese that has wide acceptance in the national market. However, the fat reduction in Minas fresh cheese affects taste, texture and yield. An approach that has been used to improve quality of reduced fat cheeses is the addition of fat substitute. Good results were found in fresh cheeses that used starch as a substitute. In this research, the aim was to study the effect of fat reduction and waxy maize starch addition on technological characteristics of reduced fat Minas fresh cheese. Three processings were performed, according to three treatments: Full fat cheese (QI); reduced fat cheese (QL) and reduced fat cheese with 0.5 % of waxy maize starch addition (QA). Chemical composition, yield, acidity, pH, water holding capacity, texture profile, microstructure, electrophoretic profile of casein, microbiological characterization and sensory evaluation of cheeses were carried out. In general, the treatments influenced the characteristics of Minas fresh cheeses. For chemical composition, fat reduction increased moisture, protein and ash content and starch addition increased moisture and showed higher water holding capacity (WHC) at the end of storage time, similar to QI, indicating that starch reduced the rate of syneresis in the product. For all the samples, acidity increased on the storage time and pH remained constant. Reduced fat cheeses showed lower yield than full fat cheese and no increase in yield was observed with starch addition. Texture parameters increased with fat reduction. Also, no influence of starch addition on improving these parameters was observed. There was no effect of starch on cheese's microstructure and proteolysis. The full fat cheese showed a more opened microstructure and an increase in α_{S1}-casein degradation during storage time than reduced fat cheeses. All samples showed a satisfactory sanitary quality according to the microbiological standards for Minas fresh cheese. Finally, there was no influence of waxy maize starch on improving acceptability of Minas fresh cheese sensory attributes. In general, fat reduction increased hardness, moisture, protein and ash content and reduced WHC, proteolysis rate and yield, whereas, waxy maize starch addition (0.5%) increased moisture and WHC of reduced fat Minas fresh cheese.

Keywords: *Reduced fat cheeses; fat substitute; microstructure; texture; sensory evaluation.*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA 14
2 OBJETIVOS 16
2.1 Objetivo Geral 16
2.2 Objetivos Específicos 16
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 17
3.1 Queijo 17
3.1.1 Queijo Minas frescal 18
3.1.1.1 Matéria-prima 19
3.1.1.2 Processamento do queijo Minas frescal 22
3.2 Queijos com baixo ou reduzido teor de gordura 23
3.2.1 Estratégias para a melhoria dos queijos com reduzido teor de gordura 25
3.2.1.1 Modificação no processo de produção 26
3.2.1.2 Adição de culturas adjuntas 27
3.2.1.3 Uso de substitutos de gordura (“fat replacers”) 28
3.3 Amido: características e propriedades como imitador de gordura 29
3.3.1 Interação entre o amido e as proteínas do leite 33
3.3.2 Aplicação de imitadores de gordura, à base de amido, em queijos 37
4 MATERIAL E MÉTODOS 41
4.1 Planejamento dos tratamentos experimentais 41
4.2 Ingredientes utilizados na fabricação do queijo Minas frescal 41
4.3 Caracterização do leite pasteurizado utilizado na fabricação dos queijos 42
4.4 Preparo da cultura lática 42
4.5 Escolha do tipo de amido 42
4.6 Produção dos queijos 43
4.7 Caracterização físico-química e de composição centesimal dos queijos 45
4.8 Capacidade de retenção de água (CRA) 46
4.9 Determinação do rendimento 47
4.10 Caracterização do perfil de textura 47
4.11 Caracterização da microestrutura em microscópio eletrônico de varredura – MEV (SEM) 47

4.12 Caracterização do perfil eletroforético em gel de poliacrilamida (Urea – PAGE). 48
4.13 Caracterização microbiológica 49
4.14 Avaliação sensorial 49
4.15 Delineamento experimental e análise estatística dos resultados 50
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO....51
5.1 Composição centesimal e características físico-químicas do leite 51
5.2 Composição centesimal dos queijos 52
5.3 Acidez....55
5.4 pH....57
5.5 Capacidade de retenção de água (CRA)....58
5.6 Rendimento 60
5.7 Caracterização do perfil de textura....61
5.8 Caracterização da microestrutura em microscópio eletrônico de varredura – MEV (SEM) 64
5.9 Caracterização do perfil eletroforético em gel de poliacrilamida (UREA – PAGE) 67
5.10 Caracterização microbiológica 69
5.11 Avaliação sensorial 70
6 CONCLUSÃO....73
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 74
ANEXOS 86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais substitutos de gordura utilizados em queijos *light,* marca comercial e propriedades funcionais 29
Tabela 2 - Caracterização físico-química do leite integral e padronizado utilizados na produção dos queijos 51
Tabela 3 - Composição centesimal dos queijos 52
Tabela 4 - Rendimento dos queijos (kg de queijo / 100 kg de leite) 60
Tabela 5 - Perfil de textura dos queijos durante o armazenamento 62
Tabela 6 - Caracterização microbiológica dos queijos dos tratamentos QI, QL e QA 70
Tabela 7 - Médias dos valores para os atributos: aparência, aroma, textura, sabor e avaliação global dos queijos dos tratamentos QI, QL e QA 71

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Perfil de formação de pasta de amido de arroz ceroso (10% p/p) em presença de proteínas do leite (10% p/p) 36

Figura 2 - Evolução da acidez, durante estocagem refrigerada (5 ºC), dos queijos dos tratamentos: QI - Queijo integral, QL - Queijo *light* e QA - Queijo *light* com adição de amido 56

Figura 3 - Evolução do pH, durante estocagem refrigerada (5 ºC), dos queijos dos tratamentos: QI - Queijo integral, QL - Queijo *light* e QA - Queijo *light* com adição de amido 57

Figura 4 - Evolução da capacidade de retenção de água, durante estocagem refrigerada (5 ºC), dos queijos dos tratamentos: QI - Queijo integral, QL - Queijo *light* e QA - Queijo *light* com adição de amido 59

Figura 5 - Fotomicrografias eletrônicas de varredura de: (a) Queijo Minas frescal Integral – QI, Magnitude: 1960 x; (b) Queijo Minas frescal Integral – QI, Magnitude: 4180 x; (c) Queijo Minas frescal *light* – QL, Magnitude: 1420 x; (d) Queijo Minas frescal *light* – QL, Magnitude: 4500 x; (e) Queijo Minas frescal *light* com adição de amido – QA, Magnitude: 1400 x; (f) Queijo Minas frescal *light* com adição de amido – QA, Magnitude: 4500 x. P: Matriz proteica; G: Glóbulos de gordura; V: Espaços vazios; Fi: Filamentos proteicos; Cr: Inclusões cristalinas..... 65

Figura 6 - Perfil eletroforético em gel de poliacrilamida (Urea-PAGE) dos queijos Minas frescal integral (QI), *light* (QL) *e light* com adição de amido (QA) com 3, 10 e 17 dias de fabricação. (P) Padrão de caseinato de sódio 68

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

No Brasil, a produção de queijos é uma das mais importantes atividades das indústrias de laticínios. O queijo Minas frescal é um dos queijos mais consumidos no país, sendo que grande parte do elevado consumo, é atribuída ao maior rendimento de sua produção e ao baixo investimento em estocagem e conservação, que permitem sua venda a um preço mais vantajoso para o consumidor.

Nos últimos anos, a busca dos consumidores por benefícios relacionados à saúde e à estética, tem aumentado a demanda de produtos com menores teores de gordura. Assim, muitas indústrias optaram por produzir queijo Minas frescal em sua variedade *light*, ou seja, com reduzidos teores de gordura. Porém, a remoção ou a redução da gordura afeta, principalmente, sabor, textura e rendimento dos queijos. Assim, muitas pesquisas estão sendo focadas na melhora das características dos queijos *light.* Três estratégias para a redução de gordura, com melhoramento da qualidade sensorial e do rendimento vêm sendo utilizadas: modificação no processo de produção, uso de culturas adjuntas e uso de repositores de gordura.

Diferentes tipos de repositores de gordura estão disponíveis no mercado e sua classificação está baseada, principalmente, na natureza química e na origem do produto, juntamente com seu valor energético. Eles são tecnicamente divididos em duas classes: “imitadores de gordura”, que possuem boas propriedades gelificantes e emulsificantes, aliadas ao baixo valor energético e que compreendem os carboidratos (amido, gomas, pectina, derivados da celulose e outros hidrocoloides) e as proteínas (microparticuladas ou não, de leite, ovo e milho) e “substitutos de gordura”, que fornecem propriedades semelhantes às da gordura e são, primariamente, compostos com ligações ésteres modificadas ou ainda, gorduras naturais.

Alguns trabalhos vêm sendo desenvolvidos no Laboratório de Leite e Derivados do DETA-UNESP, com a utilização de substitutos de gordura visando melhorar as características dos queijos com reduzido teor de gordura, tais como: o estudo do efeito da adição de concentrado proteico de soro (CPS) sobre a qualidade que queijo Prato com teor reduzido de gordura (MENIS, 2009), efeito da adição de colágeno hidrolisado e concentrado proteico de soro (CPS) sobre a qualidade

tecnológica de queijo Prato com reduzido teor de gordura (DIAMANTINO, 2011 - FAPESP 2009/03994-1) e o estudo do efeito de colágeno na qualidade do queijo Minas frescal (SILVA, 2011).

Atualmente, os amidos são adicionados em diversos alimentos, principalmente produtos lácteos. Sua ação na melhora das características dos produtos com reduzidos teores de gordura está associada à sua alta capacidade de retenção de água, que aumenta a umidade, melhorando a textura e conferindo maior estabilidade ao produto final. Além disso, o amido possui a vantagem de ser um ingrediente de baixo custo e de alta disponibilidade. Relatos disponíveis na literatura indicam resultados positivos para o uso de diferentes tipos de amido, como imitadores de gordura em queijos, porém, não foram encontrados trabalhos com a aplicação de amidos em queijo Minas frescal.

O amido de milho ceroso se difere dos amidos normais, que contém de 20 a 30% de amilose, por conter apenas traços de amilose. Devido a esta composição única, além de sua contribuição para o aumento da viscosidade, possui outros importantes atributos, tais como: fácil gelatinização, melhor digestibilidade e difícil retrogradação, sendo por isso muito utilizado em produtos que necessitam de armazenamento sob refrigeração, como é o caso do queijo Minas frescal.

Assim, o estudo do efeito da adição de amido de milho ceroso, como imitador de gordura, nas características físico-químicas, sensoriais, de textura e microestrutura de queijo Minas frescal com teor reduzido de gordura pode resultar em contribuições para a área de laticínios, pelo potencial de melhorar a qualidade dos produtos a serem desenvolvidos, principalmente em relação à redução da sinérese, melhora no rendimento e aumento da maciez.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Estudar o efeito da redução do teor de gordura e da adição de amido de milho ceroso, na qualidade tecnológica de queijo Minas frescal com teor reduzido de gordura.

2.2 Objetivos Específicos

- Produzir queijo Minas frescal: integral, *light* e *light* com adição de amido de milho ceroso;

- Verificar o efeito da remoção da gordura, assim como, o efeito da adição de 0,5% de amido de milho ceroso na composição centesimal, acidez, pH, capacidade de retenção de água, rendimento, textura, microestrutura, perfil eletroforético da caseína e análise sensorial do queijo Minas frescal.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Queijo

Do ponto de vista da tecnologia de alimentos, o queijo pode ser definido como um concentrado lácteo constituído de proteínas, lipídios, cálcio, fósforo e vitaminas. A coagulação é a etapa que visa concentrar a proteína do leite retendo a gordura e os outros compostos e, por isso, é considerada primordial na produção de queijos. A caseína, proteína responsável pela coagulação, representa, aproximadamente, 80% das proteínas do leite, sendo, α_{S1}-, α_{S2}-, ß- e κ-caseína as principais frações de caseína e encontram-se nas proporções estimadas de 45%, 12%, 35% e 8%, respectivamente. A fração “kapa”, embora em menor quantidade, exerce um importante papel protetor sobre as outras frações de caseína, pela formação de um complexo estável, denominado micela e evitando que as demais frações se precipitem em presença de cálcio solúvel. Assim, o fenômeno da coagulação do leite se deve basicamente à perda dessa estabilidade da caseína em função de vários agentes físicos e/ou químicos, dos quais a acidificação e a ação de enzimas proteolíticas são os mais interessantes (OLIVEIRA, 1986; FARRELL et al., 2004; PERRY, 2004).

Basicamente, a coagulação enzimática ocorre quando enzimas proteolíticas (mais comumente a quimosina) atuam hidrolisando ligações peptídicas da caseína, transformando-a em para-caseína, que precipita em presença de íons Ca^{2+} formando, então a coalhada. Enquanto que, na coagulação ácida é adicionado ácido ao leite em quantidade suficiente para igualar o pH do meio ao ponto isoelétrico da proteína (pH 4,5). Neste pH as micelas de caseína se agregam e precipitam (PERRY, 2004).

Embora a coagulação do leite seja semelhante, tanto na coagulação ácida como na enzimática, o coágulo resultante apresenta características físico-químicas e tecnológicas diferentes. A primeira diferença é no pH, sendo no coágulo ácido em torno de 4,6 e no coágulo enzimático próximo ao pH do leite, ou seja, na faixa de 6,0 a 6,5. A segunda diferença é na consistência do coágulo, de grande importância tecnológica. O coágulo ácido é inicialmente bastante frágil, dispersando-se facilmente em partículas finamente subdivididas. Entretanto, se for fracionado

cuidadosamente provocando a dessora, resulta em um precipitado ressecado e firme, porém quebradiço. O coágulo enzimático desde o início é mais firme e elástico, semelhante a uma gelatina, a qual vai se tornando cada vez mais resistente e ao ser fracionado, se contrai por sinérese, dando origem a um precipitado consistente, elástico e não quebradiço (OLIVEIRA, 1986).

3.1.1 Queijo Minas frescal

O queijo Minas frescal é um dos produtos lácteos mais difundidos no Brasil e é considerado o único queijo genuinamente nacional (DORNELLAS, 1997). Possui ampla aceitação no mercado nacional, sendo o quinto queijo mais produzido no País, inferior apenas aos tipos Mussarela e Prato e aos requeijões culinário e cremoso (SEBRAE; ESPM, 2008). O elevado consumo está relacionado, em parte, ao maior rendimento obtido na elaboração deste queijo, ao seu processamento simples e ao baixo investimento em estocagem e conservação, o que possibilita um retorno rápido do investimento e, consequentemente, custos menores ao consumidor (BEHMER, 1991; FURTADO; LOURENÇO NETO, 1994).

É um queijo classificado como semi-gordo e de muita alta umidade, contendo de 25 a 49% de gordura e teor de umidade maior que 55% (BRASIL, 1996; BRASIL, 1997). Geralmente apresenta coloração esbranquiçada, consistência mole e úmida, textura fechada e com poucas olhaduras mecânicas e sabor suave, levemente ácido e salgado. É produzido por coagulação enzimática de leite pasteurizado com renina e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas (CUNHA; VIOTTO; VIOTTO, 2006) e, tradicionalmente, utiliza cultura *starter* mesofílica acidolática do tipo O (FURTADO; LOURENÇO NETO, 1994; BURITI; ROCHA; SAAD, 2005; CUNHA; VIOTTO; VIOTTO, 2006).

Por ser um produto fresco, de massa crua e de muita alta umidade deve ser consumido nos primeiros quinze dias após sua fabricação, pois é altamente perecível. Além disso, deve ser mantido sob refrigeração a fim de prevenir o desenvolvimento de micro-organismos e retardar os fenômenos bioquímicos que ocorrem durante o armazenamento. Os principais fenômenos são a proteólise e a acidificação, que influenciam diretamente na qualidade do produto final, causando alterações no produto, tais como, amarelamento da casca, maciez excessiva e sabor

acentuadamente ácido (BRASIL, 1996; DORNELLAS, 1997; PERRY, 2004; SANGALETTI et al., 2009).

Embora o queijo Minas frescal possua um curto tempo de vida útil e não seja submetido ao processo de maturação, o alto teor de umidade deste queijo associado à utilização de coagulantes proteolíticos e cultura láctica, produzem uma proteólise acentuada (DORNELLAS, 1997). Inicialmente, as caseínas são hidrolisadas pela atividade do coagulante residual, pela plasmina e por outras enzimas endógenas proteolíticas, a uma série de grandes e médios peptídeos. Estes últimos, por sua vez, são hidrolisados a peptídeos menores e aminoácidos por proteases e peptidases de bactérias acidoláticas adicionadas e por bactérias provenientes de contaminação eventual (UPADHYAY et al., 2004).

Enquanto que, a acidificação ocorre devido à transformação da lactose em ácido lático pela ação da biota natural do leite e da cultura lática, contribuindo para a conservação e a formação de sabor e textura característicos do produto. A acidez produzida durante a coagulação é baixa, em torno de 0,2%, podendo atingir aproximadamente 1,0% durante a dessora do queijo, sob armazenamento refrigerado (FURTADO; LOURENÇO NETO, 1994).

3.1.1.1 *Matéria-prima*

a) Leite

O leite utilizado na produção de queijo Minas frescal deve ser, obrigatoriamente, pasteurizado, já que este é um queijo fresco e não passa por processo de maturação. Porém, é necessário evitar tratamentos térmicos com temperaturas acima das mínimas exigidas para a pasteurização (72 °C por 15 segundos ou 63 °C por 30 minutos), a fim de não prejudicar a característica do coágulo, o qual se torna cada vez mais frágil à medida que o tratamento térmico se torna mais severo. Outros fatores atribuídos ao emprego de temperaturas elevadas ao leite são: a deficiência de cálcio solúvel e a destruição de micro-organismos láticos importantes na produção de sabor e aroma aos queijos, entretanto, ambas as deficiências podem ser corrigidas com a adição de cloreto de cálcio e o emprego de culturas láticas (OLIVEIRA, 1986).

Além disso, o leite deve ser de boa qualidade, sendo que, sua qualidade está diretamente relacionada a vários fatores, tais como: espécie e saúde do animal, fase de lactação, clima, estação do ano e práticas leiteiras. A principal variação observada é na relação gordura / caseína. Pelo fato dos constituintes da coalhada (gordura, sais e água), ficarem retidos no retículo caseico, o que realmente tem importância na manutenção da qualidade do queijo é a relação existente entre a gordura e a proteína. Se esta relação não se encontra definida, o queijo obtido será demasiadamente macio ou excessivamente duro (ROBINSON; WILBEY, 2002). O ideal para a produção de queijo Minas é um teor de gordura entre 3 e 4% (OLIVEIRA, 1986).

Finalmente, o leite deve ser livre de contaminação bacteriana ou por agentes químicos, como antibióticos, herbicidas, pesticidas, etc. No caso dos antibióticos, se estes forem administrados ao gado, deve haver um período em que o leite não poderá ser utilizado, pois os resíduos poderão inibir o desenvolvimento da cultura *starter* (PERRY, 2004).

b) Cultura lática

Em queijos frescos, a principal ação da cultura lática é na taxa de formação de ácido no leite. A duração do processo de formação do coágulo é influenciada pela acidificação, já que, a renina é mais ativa em baixos valores de pH. Além disso, a composição do queijo, como o conteúdo de água, de fosfato de cálcio e o pH também são afetados pelo processo de acidificação (OLIVEIRA, 1986; WALSTRA; WOUTERS; GEURTS, 2006).

Para o queijo Minas, a cultura lática é constituída de cepas de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris.* Cepas de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* produzem ácido rapidamente, diminuindo desta forma, o tempo de coagulação, porém algumas cepas produzem a bacteriocina nisina, que pode afetar o desenvolvimento de outras espécies Gram-positivas presentes, enquanto que, outras cepas, podem ainda originar gosto amargo ao queijo. Cepas de *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* desenvolvem-se mais lentamente no leite, porém, produzem queijos com melhores sabores e aromas. Além, disso, é importante ressaltar que o uso de culturas mistas produz mais ácido que o uso de culturas baseadas em apenas uma espécie. Por isso, é muito comum o uso de uma

combinação de cepas adequadas de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e *Lc. lactis* subsp. *cremoris* (ROBINSON; WILBEY, 2002; BURITI; ROCHA; SAAD, 2005).

c) Cloreto de cálcio

O cálcio solúvel possui um papel importante na coagulação do leite e nos processos subsequentes. O cálcio solúvel pode encontrar-se deficiente, principalmente em leites pasteurizados. Assim, é comum utilizar a relação de 25 g de cloreto de cálcio para 100 L de leite. Esta é uma pequena quantidade quando comparada à concentração natural encontrada no leite cru, de 1200 mg/L, entretanto, esta adição de cálcio ao leite pasteurizado irá promover um aumento na concentração de cálcio solúvel ionizado e uma redução do pH do leite (OLIVEIRA, 1986; FOX; COGAN, 2004). Esta redução do pH do leite é benéfica, pois, acelera a reação de hidrólise da κ-caseína, enquanto o aumento da concentração de cálcio solúvel irá reduzir o tempo de coagulação, mesmo em pH constante, e aumentar a firmeza do coágulo, principalmente pela neutralização das cargas negativas da superfície da micela e, possivelmente, pela formação de pontes de cálcio (LUCEY, 2011).

d) Coalho

Diversas proteinases são capazes de coagular o leite, mas, somente muito poucas são adequadas à fabricação de queijos. Tradicionalmente o coalho é extraído do tecido gástrico de ruminantes jovens, onde a principal enzima é a renina ou quimosina. Embora a quimosina extraída do estômago de bezerros ainda seja a responsável pela produção dos queijos de melhor qualidade, atualmente, encontram-se disponíveis no mercado, quimosinas produzidas por fermentação e por engenharia genética (FOX; COGAN, 2004; PERRY, 2004).

O processo de coagulação é dependente da temperatura, do 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 para a produção do queijo Minas frescal temperaturas ligeiramente mais baixas (em torno de 35 °C) para evitar que a coalhada fique muito dura (PERRY, 2004).

A quantidade de coalho a ser utilizada deve ser calculada para obtenção de um tempo de coagulação em torno de 45 minutos, lembrando que variações na temperatura interferem significativamente, havendo aumento na velocidade de coagulação com aumento da temperatura. Antes de ser adicionado ao leite o coalho deve ser diluído, visando facilitar a distribuição e evitar a formação de flocos de coágulo no primeiro contato do coalho concentrado com o leite. Além disso, o coalho diluído também deve ser adicionado aos poucos com agitação eficiente do leite, a fim de conseguir uma completa distribuição. Porém, essa agitação não deve demorar mais do que 2 a 3 minutos para não interferir no processo de coagulação (OLIVEIRA, 1986).

3.1.1.2 *Processamento do queijo Minas frescal*

Após ser submetido ao processo de pasteurização, o leite é levado aos tanques de coagulação, que geralmente são de parede dupla com circulação de água quente ou vapor para a manutenção da temperatura do leite. Uma vez no tanque de coagulação e ajustada a temperatura, o leite receberá os demais ingredientes: o cloreto de cálcio, a cultura lática e o coalho. É necessário evitar qualquer agitação ou distúrbio mecânico no leite durante a coagulação, pois isso, normalmente acarreta na diminuição da consistência e elasticidade do coágulo resultante. Assim, após a adição do coalho, o leite fica em completo repouso até o ponto final da coagulação, que normalmente ocorre em 45 minutos, e é observado em função da consistência do coágulo formado, que na prática, é determinado pelo ponto de corte da massa (OLIVEIRA, 1986).

O principal método empregado pelos mestres queijeiros para a visualização do ponto de corte é a introdução, de uma espátula abaixo da camada superficial do coágulo e o seu levantamento cuidadoso para que se forme uma fenda. Uma fenda retilínea e limpa, com soro esverdeado, indica uma coalhada pronta para o corte, enquanto que uma ruptura fraca e irregular, com soro esbranquiçado, indica que a coalhada está fraca e ainda não atingiu o ponto de corte (ROBINSON; WILBEY, 2002).

Após atingir o ponto de corte, o coágulo deve ser então fracionado ou subdividido, visando acelerar o fenômeno da sinérese, que promoverá a dessora da

massa. A dessora será mais intensa quanto maior for a superfície total do coágulo, ou seja, maior subdivisão. No caso do queijo Minas, os cubos são maiores, com 1 a 1,5 cm de aresta, por ser um queijo de muita alta umidade. A execução do corte deve ser cuidadosa, evitando a fragmentação desordenada da massa, o que aumenta as perdas de massa finamente subdividida no momento da separação do soro. A fim de evitar que os grãos se compactem, dificultando a dessora é necessária a agitação dos grãos. Esta agitação deve ser lenta e cuidadosa inicialmente, tornando-se mais intensa à medida que os grãos se tornam mais firmes (OLIVEIRA, 1986; FOX; COGAN, 2004).

A salga, em geral, é realizada após a prensagem, utilizando-se o método da salga seca ou por salmoura. Entretanto, tecnologicamente, o melhor momento para se realizar a salga é diretamente na massa, logo após sua separação do soro, antes da enformagem, o que permite melhor dosagem e melhor distribuição do sal, além de ser um método mais prático, pois dispensa tanques de salmoura e prateleiras para salga. Em geral, o queijo Minas contém entre 1,4 a 1,6% de sal, assim, utiliza-se cerca de 2,5 a 3% de sal, calculado em relação à massa, pois parte deste sal será perdida através da saída de soro, durante as etapas de enformagem e prensagem (OLIVEIRA, 1986; PERRY, 2004; CARVALHO; VIOTTO, KUAYE, 2007).

Ao se atingir o ponto da massa, o soro é retirado e a massa é colocada nas formas. Neste tipo de queijo, a prensagem é dispensada e o queijo é compactado pelo seu próprio peso através de várias viragens. Normalmente, o queijo Minas é comercializado em embalagem a vácuo, de 300 g a 5 kg, apresentando vida de prateleira muito curta, de aproximadamente duas semanas mesmo sob refrigeração a 5 ºC (OLIVEIRA, 1986).

3.2 Queijos com baixo ou reduzido teor de gordura

Em função dos benefícios à saúde e à estética, especialistas em todo o mundo tem recomendado a redução da ingestão de gordura, especialmente, das gorduras saturadas. Assim, houve um aumento na procura dos consumidores por alimentos com baixos teores de gordura (ROSENTHAL, 2003; O’CONNOR; O’BRIEN, 2011). Consequentemente, a este desejo de consumo de produtos saudáveis, a busca por queijos com baixo ou reduzido teor de gordura tem

aumentado consideravelmente. Por definição, o “Queijo com baixo teor de gordura” deve possuir redução de pelo menos 50% de gordura na matéria seca, quando comparada à sua variedade integral, enquanto que o “Queijo com reduzido teor de gordura” ou “*light*” deve possuir ao menos 25 % de redução de gordura na matéria seca. Entretanto, consumidores esperam que esses produtos possuam atributos sensoriais praticamente idênticos aos dos queijos com teor integral de gordura. Porém, estas especificações, em geral, não são alcançadas de forma consistente para a grande maioria dos queijos, especialmente para aqueles com reduções maiores que 50% (MISTRY, 2001; JOHNSON, 2002). Isso por que, além de sua contribuição energética, a gordura possui um papel fundamental na melhora da palatabilidade, textura e lubrificação dos alimentos, influenciando principalmente em sua cremosidade, aparência, aroma, odor, maciez e suculência, o que a torna um componente essencial nos alimentos. Além disso, contribui para a sensação de saciedade, após sua ingestão, e é fonte de ácidos graxos essenciais e vitaminas lipossolúveis (PINHEIRO; PENNA, 2004; O’CONNOR; O’BRIEN, 2011).

Nos queijos, os principais efeitos negativos da redução do teor de gordura são observados com relação às características sensoriais, porém, essa redução também pode proporcionar consequências econômicas, tais como, baixo rendimento e maturação lenta. Com relação aos defeitos sensoriais, esses queijos, geralmente possuem aroma fraco, sabores atípicos e uma textura mais firme e elástica, descrita como “borrachenta”, sendo esses defeitos mais acentuados nas variedades maturadas (RODRÍGUEZ, 1998; PINHEIRO; PENNA; 2004). O sabor pode ser prejudicado pelo rápido crescimento da cultura adicionada, em função da maior umidade características desses queijos, acelerando a produção de ácidos, que podem culminar com o desenvolvimento de gosto amargo (ROSENTHAL, 2003). Outro fator é que o gosto amargo, assim como sabores e aromas indesejados, são mais facilmente detectados devido à baixa proporção de compostos aromáticos formados pela degradação da gordura, principalmente, ácidos graxos, tais como o butanoico e o hexanoico e metilcetonas (RODRÍGUEZ, 1998; MISTRY, 2001).

A maior umidade desses queijos também pode intensificar a sinérese. A sinérese é a saída de soro que ocorre nos queijos em condição de repouso, sendo considerada um fenômeno indesejável quando relacionada à aparência dos produtos durante a comercialização (DEJMEK, WALSTRA, 2004).

Além disso, o rendimento é menor nos queijos com baixos teores de gordura pois, com a retirada da gordura, a relação caseína / gordura se torna muito mais alta, quando comparada aos queijos com teor integral de gordura e, em razão disto, a gordura é substituída por água e o rendimento total (kg de queijo por kg de leite) se torna baixo, já que o total de gordura removida não é igual ao de água adicionada (MISTRY, 2001).

Finalmente, a textura desses queijos pode ser caracterizada como borrachenta. Em geral, os queijos com teores reduzidos de gordura são excessivamente secos e granulosos, devido a uma matriz estrutural mais densa (RODRÍGUEZ, 1998). Isto porque a gordura, mesmo sem nenhum papel na formação da rede tridimensional, ao encontrar-se, aprisionada mecanicamente na matriz, promove uma maciez típica dos queijos integrais. Dessa forma, ao ser removida, permite uma maior interação entre as proteínas e, portanto, a estrutura do queijo se torna relativamente mais firme e elástica em função do aumento e intensidade das ligações (PINHEIRO; PENNA, 2004).

A matriz dos queijos pode ser visualizada e consequentemente, compreendida, através do estudo da microestrutura. A análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV) é considerada uma ferramenta importante na análise da microestrutura dos queijos, pois, fornece alta resolução de imagens, proporcionando a visualização da rede proteica, onde se encontram dispersos os bolsões de soro, glóbulos de gordura e bactérias acidoláticas (IMPOCO et al., 2011). A textura dos produtos ainda pode ser avaliada pelo perfil de textura (TPA). Este método instrumental determina os parâmetros de textura, através da simulação de uma avaliação sensorial, como por exemplo, a simulação da mastigação (FAGAN et al., 2007).

3.2.1 Estratégias para a melhoria dos queijos com reduzido teor de gordura

Com o intuito de melhorar os aspectos negativos dos queijos com teores reduzidos de gordura, algumas alternativas vêm sendo propostas nos últimos anos. Em geral, as estratégias mais utilizadas para a redução de gordura nos queijos são: mudanças no processo de produção, o uso de culturas adjuntas, o uso de substitutos de gordura ou o uso de novas tecnologias. Porém, nenhuma destas

estratégias consegue substituir totalmente todas as funções e propriedades da gordura nos alimentos (DRAKE; SWANSON, 1995; RODRÍGUEZ, 1998).

3.2.1.1 *Modificação no processo de produção*

As modificações no processo de produção são potencialmente as formas mais simples e econômicas de se melhorar o sabor e a textura de queijos *light*. A maioria das modificações está focada em um dos dois parâmetros críticos da redução da gordura nesses produtos, a umidade e o teor de acidez. O aumento do teor de umidade pode proporcionar parte da lubrificação e cremosidade características da gordura. Além disso, pode auxiliar no aumento do rendimento. Muitos são os processos que promovem o aumento da umidade nesses produtos, tais como: redução do tempo de tratamento da massa, redução da temperatura de cozimento, lavagem da massa com água fria, pré-acidificação do leite, uso de temperaturas mais altas na pasteurização do leite, menor manipulação do coágulo e redução do tempo de prensagem. Entretanto, essas modificações devem ser estudadas e reguladas com precisão para evitar problemas na coagulação do leite, perdas de rendimento e defeitos na qualidade sensorial (DRAKE; SWANSON, 1995; RODRÍGUEZ, 1998).

O desenvolvimento de ácido é outro parâmetro crítico nos queijos com reduzido e baixo teor de gordura. Pelo fato dos queijos possuírem maior umidade e por serem produzidos com temperaturas mais baixas, as bactérias acidoláticas podem se propagar em grande número, produzindo um excesso de ácido e de sabores desagradáveis. Desta forma, é essencial a manutenção de uma forte capacidade tamponante no queijo, com baixa taxa de acidificação, durante o processo de produção, prevenindo a intensidade do gosto ácido. Mudanças no processo como: uso de menor quantidade de culturas láticas, uso de linhagens especiais de bactérias acidoláticas, redução do tempo de maturação, redução do tempo de agitação da massa e lavagem da massa, são utilizadas para este controle na produção de acidez (DRAKE; SWANSON, 1995).

Outra alternativa de modificação de processo que pode ser empregada é a homogeneização do leite, antes do processo de fabricação do queijo. Este procedimento ajuda a reduzir as perdas de gordura no soro, aumentando o

rendimento e melhorando a textura e o corpo dos queijos com baixos teores de gordura. Enquanto este processo não é considerado desejável na maioria dos queijos com gordura integral, algumas condições de homogeneização podem ser utilizadas em variedades de queijos com reduzidos teores de gordura. A homogeneização promove a formação de gotículas menores de gordura, proporcionando a estabilização destas gotículas em meio ao soro e às proteínas caseicas. Próximas às caseínas, as gotículas de gordura, podem se envolver na formação do gel e influenciar no desenvolvimento da matriz coagulada (RODRÍGUEZ, 1998; MISTRY, 2001; HORNE; BANKS, 2004).

A ultrafiltração do leite também é uma alternativa utilizada para melhorar a qualidade dos queijos com baixos teores de gorduras e é um processo de separação em que os constituintes são fracionados de acordo com seu peso molecular. Proteína e gordura são retidas no retentado e lactose, minerais e vitaminas são divididas entre retentado e permeado. Essa técnica apresenta como principal vantagem, a inclusão das proteínas do soro do leite, que podem aumentar o rendimento e melhorar a textura do produto, tornando-o mais macio (KIKUCHI, 2008).

3.2.1.2 *Adição de culturas adjuntas*

A adição de culturas adjuntas é outro método proposto para a melhora dos queijos com baixos teores de gordura. Basicamente, estas culturas promovem o desenvolvimento de compostos aromáticos e de sabor através do aumento da proteólise, especificamente da atividade da aminopeptidase, que reduz o amargor e aumenta as concentrações de peptídeos específicos e precursores de compostos voláteis de sabor e aroma desejáveis, respectivamente. Assim, as culturas adjuntas selecionadas para a produção de queijos com redução de gordura, devem ser capazes de sofrer autólise em baixas temperaturas e alto teor de umidade, além de possuírem baixa atividade proteolítica e alta atividade peptidolítica. As culturas mais comumente utilizadas são as espécies de *Lactobacillus*, tais como a mesofílica: *Lactobacillus casei* e as termofílicas: *Lactobacillus helveticus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (DRAKE; SWANSON, 1995; RODRÍGUEZ, 1998; MISTRY, 2001; ROSENTHAL, 2003).

3.2.1.3 *Uso de substitutos de gordura (“fat replacers”)*

Uma abordagem alternativa aos métodos apresentados é o uso de substitutos de gordura ou *“fat replacers”*. O substituto de gordura é um ingrediente que pode ser incorporado aos alimentos tradicionais, para substituição total ou parcial da gordura e que tem a função de conferir as características funcionais dos lipídios, com relação ao rendimento, características sensoriais e aceitação comercial, fornecendo, no entanto, menores calorias que a gordura. Segundo a *American Dietetic Association,* a maioria dos substitutos de gordura, quando usados com moderação, por adultos, é considerada segura e pode desempenhar um importante papel na redução do teor de gordura nos alimentos, contribuindo assim, com a redução do total de gordura ingerida na dieta (AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION REPORTS, 2005; O’CONNOR; O’BRIEN, 2011).

Existem diversas categorias de substitutos de gordura e, muitas vezes, há confusão a respeito de como as categorias são definidas (AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION REPORTS, 2005). Cada categoria de substituto de gordura proporciona diferentes características sensoriais e funcionais aos produtos com baixos e reduzidos teores de gordura. Assim, os substitutos de gordura podem ser divididos, de acordo com sua composição, em três categorias: à base de carboidratos, como os hidrocoloides; à base de proteínas, como as proteínas microparticuladas, e à base de gorduras, como os poliésteres de sacarose. Os substitutos de gordura à base de carboidratos e proteínas são conhecidos como imitadores de gordura (“*fat mimetics)*”, uma vez que não conseguem substituir a funcionalidade da gordura nos alimentos, porém, promovem boa emulsificação e propriedades de gel, com baixo valor energético. Os substitutos à base de gordura são conhecidos como os “verdadeiros” substitutos de gordura (“*fat substitute*”) e podem substituir a gordura nos alimentos em peso por peso, promovendo propriedades similares às da gordura, com baixo ou nenhum valor energético. Não necessariamente os substitutos irão proporcionar os sabores e aromas característicos dos produtos tradicionais, uma vez que, estes atributos estão relacionados à presença coletiva de múltiplos compostos lipossolúveis no produto, sendo improvável que todos sejam repostos com um único composto: natural ou sintético. Assim, na prática, é comum o uso de uma combinação de estratégias, tais como: o uso de diferentes técnicas de modificação de processo e/ou adição de

culturas adjuntas, aliados ao uso dos substitutos de gordura, para a produção de produtos de boa qualidade, com reduzido teor de gordura (DRAKE; SWANSON, 1995; ROSENTHAL, 2003; PINHEIRO; PENNA, 2004). Informações mais detalhadas sobre as propriedades e aplicações de substitutos de gordura em produtos lácteos foram publicadas por Pinheiro e Penna (2004) e Diamantino e Penna (2011). Exemplos dos substitutos de gordura mais comumente utilizados em queijos *light* encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1 - Principais substitutos de gordura utilizados em queijos *light,* marca comercial e propriedades funcionais.

Tipo de substituto	Marca comercial	Propriedade funcional
À base de proteínas		
Proteínas de leite	Dairy-Lo	Melhora a textura
Proteínas de ovos	Simplesse	Melhora a textura
Proteínas de leite e ovos	Trailblazer	Inibe a sinérese e melhora a textura
Proteínas de milho	LITA	Melhora a textura e a estabilidade térmica
À base de carboidratos		
Maltodextrina	Maltrin	Melhora a textura
Carboximetilcelulose	-	Melhora a textura
Carragena	-	Melhora a textura
β-glucana	Nutrim	Melhora a textura
Amido modificado	Stellar	Melhora a textura, imitando a sensação de gordura na boca
Gel de celulose, goma guar	Novagel	Melhora a textura, imitando a sensação de gordura na boca
À base de gorduras sintéticas		
Poliéster de sacarose	Olestra,Olean, Benefat, Dur-Em	Melhora a textura
Dialquil di-hexadecil malonato	DDM	Melhora a textura

Fonte: Diamantino; Penna (2011).

3.3 Amido: características e propriedades como imitador de gordura

O amido é o hidrocoloide alimentício mais comumente usado devido à ampla faixa de propriedades funcionais que ele pode promover em suas formas natural e modificada, e também devido ao seu baixo custo. É a fonte de reserva mais importante dos vegetais e pode ser encontrado em raízes, sementes e tubérculos. É constituído por uma mistura dos polissacarídeos: amilose e amilopectina (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004). A amilose possui uma estrutura linear composta de unidades de

glicose com ligações glicosídicas α-1,4 formando assim, uma cadeia com unidades de maltose. A amilopectina possui uma estrutura ramificada, formada por cadeias de glicose, unidas por ligações glicosídicas α-1,4 na parte linear, enquanto as ramificações são unidas por ligações glicosídicas α-1,6 (BOBBIO; BOBBIO, 1992).

O amido distingue-se entre os carboidratos por ocorrer na natureza na forma de partículas características denominadas grânulos. A estrutura granular dos amidos é dependente da origem botânica. Os grânulos de amido são insolúveis, hidratando-se muito pouco em água fria. Dessa forma, a capacidade do amido de aumento da viscosidade (capacidade espessante) é obtida apenas quando a suspensão de grânulos é aquecida (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; ROCHA, 2010).

Durante o aquecimento de suspensões de amido em excesso de água, ocorre a gelatinização do amido, ou seja, o inchamento dos grânulos com a concomitante solubilização da amilose e da amilopectina, que induzem à perda da integridade granular do amido, com a ocorrência da formação de uma pasta viscosa (FRANCO et al., 2001). Caso ocorra o resfriamento, ou ainda, o congelamento, os polímeros do amido se reagrupam, liberando água e danificando o gel formado, sendo este fenômeno conhecido como retrogradação (SILVA et al., 2006).

A amilopectina, geralmente contribui com uma consistência gomosa ou pegajosa, devido à sua solubilidade. A amilose é o componente que irá contribuir para as características de gelatinização. Assim, amidos com variados conteúdos de amilose proporcionam diferentes texturas aos alimentos (PINHEIRO; PENNA, 2004).

O teor de amilose nos grânulos de amido varia de acordo com a fonte vegetal de origem, mas geralmente, encontra-se nos intervalos de 20-30% em amidos comuns de cereais. O amido de milho contém entre 25 a 28% de amilose, enquanto o de mandioca possui apenas 17%. Algumas variedades de milho, cevada e arroz, referidas pelo termo “ceroso” ("*waxy*") são constituídas totalmente por amilopectina, enquanto outros amidos possuem teores de amilose acima de 50% e são denominados de “*high-amilose”*. Estes amidos, por apresentarem diferentes teores de amilose, possuem propriedades funcionais distintas. O amido de milho comum se caracteriza pela formação de um gel consistente e é bastante utilizado em sopas desidratadas e molhos que requerem viscosidade à quente. Para produtos que necessitam de armazenamento sob refrigeração, esse amido não é muito indicado devido à sinérese, que ocorre em consequência do fenômeno da retrogradação. Nesses casos, é mais indicado o uso do amido de milho ceroso que apresenta maior

estabilidade em baixas temperaturas, pelo fato de praticamente não possuir amilose. Os géis obtidos com esse amido são fracos, altamente viscosos no cozimento, claros e coesivos. Os amidos "*high-amilose"* gelificam e formam filmes com facilidade devido ao alto conteúdo de amilose. Por isso, esses amidos são usados principalmente em produtos como *nuggets,* aos quais confere crocância e previne a penetração excessiva de óleo durante a fritura. Também são muito utilizados na indústria de balas de gomas, contribuindo com 25 a 50% do total de amido utilizado nas formulações (WEBER; COLLARES-QUEIROZ; CHANG, 2009).

Além do teor de amilose e da fonte botânica, diversas propriedades podem ser obtidas dependendo do tipo e grau de modificação aplicado ao amido (LIMA; NASSU, 1996). Os amidos modificados são produtos obtidos a partir do amido com a finalidade de atender às necessidades específicas da indústria de alimentos. Os amidos podem ser modificados enzimaticamente, fisicamente ou quimicamente. As modificações mais comumente aplicadas são: hidrólise ácida ou enzimática, oxidação, formação de ligações cruzadas, esterificação, eterificação, adição de grupos hidrofóbicos, pré-gelatinização, atrito mecânico, microparticulação, entre outras (FRANCO et al., 2001; RIBEIRO; SERAVALLI, 2004).

Os amidos nativos e os modificados possuem várias aplicações em produtos alimentícios como agentes adesivos, ligantes e formadores de filmes, além de atuarem como gelificantes, espessantes, retentores de umidade e retardadores da retrogradação de alguns alimentos (WEBER; COLLARES-QUEIROZ; CHANG, 2009).

Assim, as principais propriedades do amido como imitador de gordura são resultantes da associação da água com as moléculas dos carboidratos e da solubilização das moléculas de amilose, que são lixiviadas do grânulo para a fase aquosa externa. Isso resulta em um aumento substancial da retenção de água e da viscosidade do sistema (FRANCO et al., 2001). Esse aumento no teor de umidade é fundamental para a melhora da textura e do rendimento dos queijos com reduzido e baixo teor de gordura (DRAKE; SWANSON, 1995).

Amidos modificados quimicamente e/ou fisicamente demonstraram possuir um maior potencial de aplicação como imitadores de gordura (O'CONNOR; O'BRIEN, 2011). Acredita-se que amidos modificados com grânulos de diâmetro similares aos dos glóbulos de gordura (2 μm) teriam o potencial de se comportarem como a gordura, proporcionando sensação de lubrificação e melhora na viscosidade,

textura, palatabilidade e aumento na estabilidade, sendo esse tamanho de partícula, geralmente alcançado através de hidrólise ácida ou enzimática, atrito mecânico ou microparticulação do amido (LIMA; NASSU, 1996; PINHEIRO; PENNA, 2004).

O amido octenil succinilado (amido OS) também pode ser utilizado em alimentos como substituto de gordura. É produzido pela substituição de parte do amido com anidrido octenil succínico (OSA). Atualmente, este amido modificado pode ser utilizado em vários países com um máximo permitido de 3% de substituição com OSA, em relação ao peso seco de amido. A natureza bifuncional deste amido, ao mesmo tempo hidrofílico (devido à glicose presente na cadeia do amido) e hidrofóbico (devido à porção do amido substituída por OSA), permite diversas aplicações na área de alimentos, tais como: emulsão em bebibas, encapsulação de aromas, agente de corpo, molhos para salada, cremes e coberturas (CHUNG et al., 2010).

Um amido que tem se mostrado promissor na área de alimentos é o amido de milho ceroso que, devido à sua composição única (apenas traços de amilose), além de contribuir para o aumento da viscosidade, possui outros importantes atributos, tais como: fácil solubilização e espessamento, melhor digestibilidade que os amidos normais e difícil retrogradação, o que se torna uma vantagem para produtos como o queijo Minas frescal que necessitam de refrigeração (WANG et al., 2010).

As soluções de amido ceroso, em geral, não desenvolvem estrutura de gel forte, pois a fase contínua das soluções de amido ceroso são essencialmente cadeias de amilopectina dissolvidas durante a gelatinização dos grânulos. Como resultado, a pasta de amido ceroso consiste em um sistema com a presença de grânulos de amido danificados integrados em uma matriz contínua de amilopectina (WANG et al., 2011). Durante a gelatinização do amido, devido ao maior número de grupos ligantes em suas cadeias ramificadas, a amilopectina se expande muito pouco quando comparada à amilose, mesmo possuindo maior capacidade de retenção de água. Isso ocorre porque a expansão da amilopectina é severamente restringida, devido às camadas de amilopectina cristalina, gerando géis fracos e adesivos (FRANCO et al., 2001).

Em geral, existem vários prós e contras ao uso de imitadores à base de amido. Um fator positivo é que são geralmente baratos e facilmente disponíveis. Além disso, embora os carboidratos forneçam 4 kcal/g, os imitadores de gordura derivados do amido, utilizados em soluções de 25 a 50%, contribuem com 1 ou 2

kcal/g, representando uma redução significativa no consumo calórico, quando comparado com o valor energético das gorduras. Ainda, apresentam poucas restrições de ordem toxicológica, sendo ingredientes reconhecidos amplamente como seguros - GRAS. Entretanto, a estabilidade ao calor, acidez, congelamento e descongelamento e tensões de cisalhamento não é garantida em todas as aplicações. Outro ponto negativo, é que, dependendo do tipo de amido e da quantidade utilizada, pode-se mascarar, em certo grau, sabores característicos do produto, podendo haver também contribuição com leve sabor residual do amido. Porém, isto pode se tornar uma vantagem quando se mascara sabores indesejados ou quando sabores provenientes do amido auxiliam na melhora do sabor global do produto. Em geral, os imitadores de gordura à base de amido, tendem a desempenhar um bom papel em produtos com alto teor de umidade. Sendo assim, são frequentemente utilizados em produtos lácteos, tais como: iogurtes, sobremesas lácteas, sorvetes e queijos, possuindo função texturizante e espessante e conferindo maior estabilidade e cremosidade ao produto final (LUCCA; TEPPER, 1994; PINHEIRO; PENNA, 2004; O'CONNOR; O'BRIEN, 2011).

3.3.1 Interação entre o amido e as proteínas do leite

Alguns aspectos devem ser considerados em sistemas que incluem proteínas do leite e hidrocoloides, como o amido. Os hidrocoloides não são os únicos polímeros presentes nos produtos lácteos. Juntamente com as proteínas do leite, caseínas e proteínas do soro, os hidrocoloides encontram-se dissolvidos em uma fase aquosa formando uma solução poli-eletrolítica. A interação entre polímeros frequentemente gera a formação de um complexo ou a separação de fases, enquanto que a simples miscibilidade ocorre raramente. As caseínas e as proteínas do soro se comportam de maneira diferente em soluções aquosas. A caseína pode existir sob diferentes formas que variam desde pequenas macromoléculas dissolvidas e enoveladas ao acaso até partículas coloidais de tamanho de 300 nm. Enquanto que, as proteínas do soro se comportam como polímeros dissolvidos de baixo peso molecular, a menos que a agregação e a geleificação sejam induzidas por processos térmicos ou que utilizam alta pressão. Nos produtos lácteos comerciais, o estado coloidal é a situação predominante, como os agregados de

caseína (queijo), ou ainda, pode ocorrer na forma de uma camada emulsificante na superfície dos glóbulos de gordura (SYRBE; BAUER; KLOSTERMEYER, 1998).

Assim, existem hipóteses da ocorrência de interação do amido com as proteínas do leite, porém, tais interações não foram ainda extensivamente estudadas. Uma delas é o aprisionamento das cadeias laterais alquila das proteínas pela amilose em sua forma helicoidal. Estas hélices mostraram formar complexos com uma ampla variedade de moléculas, tais como álcoois alifáticos, cetonas alifáticas, ácidos graxos, aldeídos aromáticos, haletos de alquila, álcoois cíclicos, fenóis, benzeno, hidrocarbonetos alifáticos e cíclicos, tetracloreto de carbono, iodo, nitroetano, piridina, corantes, pesticidas, e muitos outros. Estas interações entre as proteínas com o amido, durante o processamento, podem visivelmente influenciar a estrutura de rede e do gel e o perfil reológico do amido (GOEL; SINGHAL; KULKARNI, 1999).

Zaleska, Ring e Tomasik (2001) estudaram a interação entre o amido de batata e a caseína, e sugeriram a ocorrência da formação de um complexo caseína-amido, por meio de interações entre os grupos fosfato e hidroxil do amido com o grupo amina da caseína. Enquanto, Goel, Singhal e Kulkarni (2009) indicam a possível ocorrência de ligações cruzadas entre a caseína e o amido, uma vez que as proteínas contêm muitos grupos hidrofílicos, tais como: -OH, -NH2, -COOH e -SH nas cadeias laterais alquila, que são capazes de formar ligações cruzadas com o amido.

Vu Dang e colaboradores (2009) estudaram a microestrutura de misturas de amido de milho ceroso e isolado proteico de soro (IPS) e observaram que estas misturas são compostas por grânulos de amido gelatinizados dispersos um uma fase contínua de proteína do soro. Além disso, observou-se que a fase continua de IPS era heterogênea e continha grandes agregados proteicos ao redor dos grânulos de amido, o que pode explicar a textura granulosa dos produtos que contém IPS e amido de milho ceroso. Aguilera e Rojas (1996) também observaram rompimento na rede proteica das proteínas do soro pela presença dos grânulos de amido. A rigidez do gel diminuiu com o aumento da concentração de amido (2 a 7%), sendo este resultado atribuído ao efeito de ruptura proporcionado pelos grânulos de amido na matriz continua de IPS.

Fitzmons, Mulvihill e Morris (2008) estudaram géis compostos por diferentes concentrações de amido de milho ceroso e isolado proteico de soro (IPS). Em altas

concentrações de IPS, os géis apresentaram uma fase contínua composta por uma matriz formada pelas proteínas do soro, que continha uma fase dispersa formada pelo amido. Em baixas concentrações de IPS, foi obtida uma matriz contínua de amido, fragmentada pelo IPS após sua geleificação.

O amido, em misturas proteicas, pode existir tanto sob a forma dispersa, se comportando como glóbulos de gordura (enchimento), como sob a forma de fase contínua, se comportando como uma matriz proteica. A ocorrência destas formas irá depender da concentração adicionada de amido e de condições de processamento específicas (YE; HEWITT; 2009).

É possível observar também, nas misturas de proteína e amido, duas fases contínuas separadas. Alguns autores sugerem que esta mudança na estrutura do gel pode ter sido induzida por uma separação de fases entre a proteína e a amilopectina. Em misturas de proteínas e polissacarídeos, a separação de fases é influenciada pela incompatibilidade termodinâmica dos biopolímeros. Um aumento na concentração de amido resulta no aumento da incompatibilidade entre proteína e amido. Não se sabe qual é o limite de concentração necessário para que ocorra a separação de fases em sistemas de caseína e amido, porém, para ao amido de batata adicionado ao queijo processado, a concentração crítica de amido foi de aproximadamente 4% (YE; HEWITT; 2009).

O efeito de amidos de milho com diferentes proporções de amilose e amilopectina em queijo processado também foi estudado. Da mesma maneira, foi constatado que, o efeito do amido nas propriedades de queijos processados é fortemente influenciado pelo comportamento das fases formadas pelas estruturas de proteína e amido. Quando baixos teores de amido são adicionados, o amido fica confinado a uma fase dispersa e então se comporta como um enchimento, resultando no aumento da firmeza do queijo processado sem a perda de sua capacidade de derretimento. Entretanto, em alta concentração, o amido adicionado forma uma malha entrelaçada que se separa da fase proteica, diminuindo a capacidade de derretimento do queijo processado (YE; HEWITT; TAYLOR, 2009).

Por outro lado, Noisuwan e colaboradores (2008), que estudaram o efeito de diferentes produtos à base de proteínas do leite na gelatinização de amido de arroz comum e ceroso, sugerem ainda que a separação de fases durante a formação de pasta destas misturas ocorra em altas temperaturas. Os grânulos de amido se dissociam em amilose e amilopectina, em altas temperaturas, e com o resfriamento

os agregados de proteínas ficam retidos na matriz do amido gelatinizado e resfriado. A Figura 1 mostra uma representação esquemática das diferentes etapas envolvidas desde o aquecimento, com a subsequente gelatinização, até a separação de fases de uma mistura de amido de arroz ceroso e proteínas do leite.

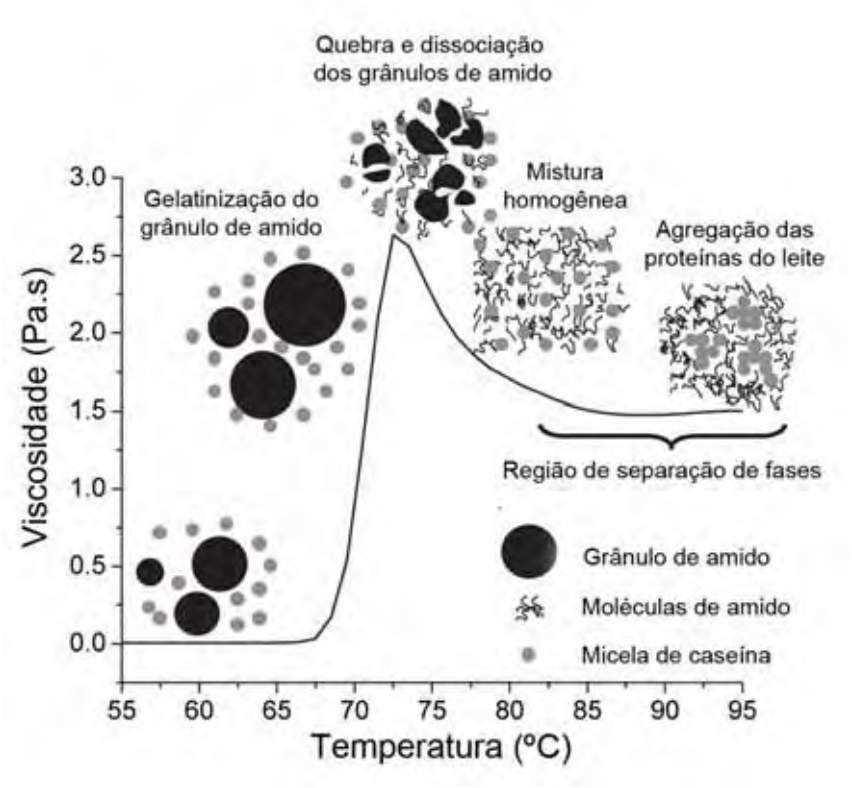

Figura 1. Perfil de formação de pasta de amido de arroz ceroso (10% p/p) em presença de proteínas do leite (10% p/p). Fonte: Adaptado de CONSIDINE et al. (2011).

Além disso, as propriedades de pasta tanto do amido comum, como do amido ceroso foram afetadas pela proteína do leite. A presença das proteínas do leite afetou em maior proporção as propriedades de pasta do amido de arroz comum, pois o amido de arroz comum forma um gel mais forte devido ao seu alto teor de amilose (14%), quando comparado ao teor de amilose do amido de arroz ceroso (5%) (NOISUWAN et al., 2008).

Quando dois sistemas tão complexos como o amido e determinados produtos lácteos são misturados (iogurte, queijos, entre outros) uma ampla faixa de interações e efeitos nas propriedades físico-químicas do sistema podem ocorrer e irão depender das suas concentrações relativas, de suas propriedades físico-químicas e da composição do produto lácteo. Apesar do importante progresso feito nesta área, muitos aspectos fundamentais continuam sem resposta e estes incluem a interação

entre as proteínas do leite e a superfície do grânulo de amido. Outro aspecto que ainda não foi completamente explorado é o efeito da cinética de gelatinização do amido em presença das proteínas do leite (CONSIDINE et al., 2011).

No geral, a literatura mostra que não existe uma tendência clara em relação à viscosidade em misturas de amido e caseína. Em alguns casos, ocorre aumento da viscosidade e em outros, esta diminui. O papel dos íons e da lactose do leite também deve ser considerado, uma vez que podem influenciar nas propriedades da mistura. Quando a interação entre as proteínas do soro e o amido são estudadas, a geleificação das proteínas do soro é um fenômeno que deve ser considerado, assim como a formação de uma fase continua, composta tanto por amido quanto por proteína do soro, cuja ocorrência pode ser alcançada de acordo com as condições de processo (CONSIDINE et al., 2011).

3.3.2 Aplicação de imitadores de gordura, à base de amido, em queijos

Alguns trabalhos foram desenvolvidos com o intuito de estudar os efeitos resultantes da aplicação de imitadores de gordura, à base de diferentes tipos de amidos, em queijos.

A funcionalidade, como imitador de gordura, do amido de mandioca e da lecitina foi estudada em queijo Feta por Sipahioglu, Alvarez e Solano-Lopez (1999). Os queijos foram produzidos com 1% de amido de mandioca modificado, 0,2% de lecitina e a combinação de 0,5% de amido de mandioca modificado e 0,1% de lecitina. O queijo com teor reduzido de gordura adicionado de amido de mandioca obteve a maior umidade (67,6%). A combinação de amido de mandioca e lecitina melhorou o sabor, textura e aceitabilidade geral de queijos Feta com baixo e reduzido teor de gordura. A perda de rendimento e o aumento na dureza do queijo Feta com teor reduzido de gordura foram superados pela alta capacidade de absorção de água do amido e da lecitina. Além disso, a dureza dos queijos foi reduzida quando os imitadores de gordura foram utilizados, em todos os tratamentos avaliados.

Aryana e Haque (2001) estudaram o efeito de repositores de gordura à base de proteínas e de carboidratos na microestrutura de queijos Cheddar com baixo teor de gordura. Os repositores proteicos utilizados foram: Dairy Lo™ (1% p/v) e

Simplesse® (1,5% p/v), enquanto que os à base de carboidratos foram: 1,2% p/v Stellar™ (amido modificado) e 0,2% p/v Novagel® (mistura de celulose e goma guar). Os substitutos comerciais Simplesse® e Novagel® conferiram textura desejável ao queijo comparado com o queijo controle com teor reduzido de gordura, pela descontinuidade da matriz de caseína. Essa descontinuidade na matriz de caseína não foi observada no caso da adição de Dairy Lo™ e Stellar™, que promoveram maciez no queijo por conferirem menor número de camadas (permitindo resistência ao esmagamento) na interface proteína-gordura.

Os efeitos da redução de gordura na composição, dureza e propriedades sensoriais de queijo branco em conserva (*White Pickled Cheese*) e a funcionalidade de estabilizantes derivados de carboidratos: Perfectamylgel MB (amido modificado de batata) em concentração de 0,5% e Satiagel ME4 (k-carragena) em concentração de 0,4% e derivados de proteínas: Dairy LO™ (proteína concentrada de soro) e Simplesse® D-100 (proteína microparticulada de leite e ovo) em concentração de 300 g/60 kg de leite, foram estudados por Kavas e colaboradores (2004). O tipo de substituto de gordura não influenciou significativamente (ao nível de 5%) o sabor dos queijos, e embora o queijo com teor integral de gordura tenha apresentado a pontuação mais alta, todos os queijos foram considerados aceitos pelos provadores, sem apresentarem sabor residual ou amargor. A adição de substitutos de gordura não foi suficiente para melhorar significativamente as características de textura desses queijos, diferenças significativas foram encontradas pelos provadores entre o queijo com adição de Simplesse® D-100 e o queijo integral, não sendo observada diferença com os demais substitutos. No geral, os resultados mostraram que os queijos com baixo teor de gordura, com adição de Dairy LO™, Perfectamylgel MB e Satiagel ME4 foram altamente aceitáveis em comparação com o queijo com baixo teor de gordura, sem substitutos de gordura.

Zisu e Shah (2005) estudaram os efeitos da combinação de pré-acidificação, imitadores de gordura (0,25%) e culturas produtoras de exopolissacarídeos (EPS) em queijo Mussarela com 6% de gordura. Foram produzidos: (1) queijo somente com adição de cultura produtora de EPS (controle); (2) queijo com cultura produtora de EPS e OptaMax® (imitador de gordura à base de amido de milho ceroso, com alto teor de amilopectina, e com comportamento mais próximo ao de um hidrocoloide); (3) queijo com pré-acidificação, cultura produtora de EPS e OptaMax® e (4) queijo com pré-acidificação, cultura produtora de EPS e Versagel® (uma

mistura de α–globulina, goma carragena e goma xantana). A umidade nos queijos adicionados de substitutos foi aumentada, melhorando o rendimento e a textura. A pré-acidificação do leite e o uso de OptaMax® proporcionaram maior umidade e maior rendimento. A natureza do repositor influenciou a microestrutura desses queijos, assim como o seu impacto nas características funcionais. Os queijos que continham OptaMax® apresentaram melhor derretimento e extensibilidade em comparação com os que possuíam Versagel®. Assim, constatou-se que a combinação de uso de culturas produtoras de EPS, de pré-acidificação e do substituto de gordura OptaMax® aumentaram o rendimento dos queijos com baixo teor de gordura, além de resultar em características de textura e de comportamento superiores ao dos queijos Mussarela com baixo teor de gordura, sem adição de imitadores.

Hee e colaboradores (2008) estudaram a formulação de géis poliméricos com o intuito de simular a textura dos queijos franceses: Camembert e Coulommiers (ambos produzidos com leite de vaca, macios, cremosos e com capa branca aveludada de fungos) com 10 dias de maturação. Os análogos de queijo foram formulados com gelatina (formando uma matriz proteica sólida) e a adição de vários polissacarídeos, a fim de modificar suas propriedades reológicas, se aproximando das características desses queijos. As formulações testadas foram: (1) 6% p/p de gelatina, (2) 6% p/p de gelatina e 1% p/p de goma guar, (3) 6% p/p de gelatina e 3% p/p de goma karaya, (4) 6% p/p de gelatina e 3% p/p de goma xantana e (5) 6% p/p de gelatina, 20% p/p de maltodextrina e 3% p/p de amido gelatinizado. O gel polimérico formado com gelatina e adição de maltodextrina e amido gelatinizado, comparado com as gomas guar, karaya e xantana, foi considerado o mais adequado quanto à firmeza, assim, este modelo de gel foi o que mais se aproximou dos queijos Camembert e Coulommiers com 10 dias de maturação, no que diz respeito às suas características de textura. Além disso, nenhum efeito significativo de interações entre gelatina, maltodextrina e amido foi percebido nas propriedades reológicas estudadas.

As pesquisas disponíveis na literatura mostram bons resultados para o uso de imitadores de gordura, à base de amidos, em queijos. De maneira geral, os amidos utilizados, proporcionaram melhora na textura, capacidade de retenção de água e rendimento e não influenciaram negativamente nas caraterísticas sensoriais dos queijos com reduzido teor de gordura. No entanto, não existem relatos do uso de

amido em queijo Minas frescal e, mesmo que sua aplicação neste tipo de queijo, atualmente, não seja permitida pela legislação brasileira, um estudo sobre o efeito deste imitador de gordura, em queijo Minas frescal *light*, pode contribuir com o desenvolvimento da indústria láctea ao avaliar uma alternativa para a melhora da qualidade dos produtos a serem lançados no mercado.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Planejamento dos tratamentos experimentais

Com o intuito de avaliar o efeito do amido modificado sobre as características tecnológicas de queijo Minas frescal com teor reduzido de gordura, foram produzidos, em três processamentos, queijos, conforme três tratamentos: Queijo com teor integral de gordura, produzido com leite integral, com 3,5% de gordura (QI), queijo com teor reduzido de gordura, produzido com leite padronizado a 1,5% de gordura (QL) e queijo com reduzido teor de gordura (1,5%) e adição de 0,5% de amido modificado (QA).

4.2 Ingredientes utilizados na fabricação do queijo Minas frescal

- Leite pasteurizado tipo A integral, marca Xandô (Xandô Laticínios Ltda., Araras – S.P., Brasil);
- Leite pasteurizado tipo A desnatado, marca Xandô (Xandô Laticínios Ltda., Araras – S.P., Brasil);
- Solução de cloreto de cálcio 50%, marca Synth (Labsynth Produtos para Laboratório Ltda., Diadema – SP, Brasil);
- Cultura comercial mista composta por *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* liofilizada - R-704 *(*Christian Hansen, Horsholm, Dinamarca);
- Coalho em pó Ha-la®, constituído de quimosina produzida por *Aspergillus niger* var. *awamori* (Christian Hansen, Horsholm, Dinamarca);
- Cloreto de sódio comercial, marca Cisne (Refinaria Nacional do Sal – S.A., Cabo Frio – R.J., Brasil);
- Embalagem plástica termo-encolhível;
- Amido de milho ceroso, MIRA-MIST-662® (Tate & Lyle, Decatur - I.L., EUA).

4.3 Caracterização do leite pasteurizado utilizado na fabricação dos queijos

A caracterização dos leites pasteurizados, tipo A, integral e desnatado, utilizados na fabricação dos queijos, foi feita em triplicata de acordo com as seguintes análises físico-químicas:

- Densidade e teores de gordura, sólidos não gordurosos (SNG) e proteína: Determinados através da aplicação de ultrassom nas amostras, com a utilização do equipamento Ekomilk-M Ultrasonic Milk Analyzers (Bulteh 2000 Ltda., Stara – Zagora, Bulgária);
- Acidez: Determinada por titulação com NaOH 0,11 N (Dornic) e solução de fenolftaleína como indicador, sendo expressa em ºDornic (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1997).
- Presença de antibióticos: Constatada com a utilização do Teste Snap™ Beta Lactam (IDEXX, Maine, Estados Unidos) (TRONCO, 1997).
- Fosfatase alcalina: Realizado através de teste colorimétrico utilizando-se um kit de Fosfatase Alcalina (Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda., Pinhais-PR, Brasil).

4.4 Preparo da cultura lática

A cultura lática composta por cepas de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (R-704), adquiridas liofilizadas, foram preparadas conforme recomendação do fabricante. O conteúdo total do envelope, de 50 g, foi suspenso em 1 L de leite integral, esterilizado e refrigerado (10 ºC). Logo após, esta suspensão foi armazenada sob congelamento, a -18 ºC, em porções de 30 mL, em tubos de ensaio com tampa rosqueável previamente esterilizados. Esta quantidade de 30 mL, segundo o fabricante, é adequada para o processamento de 15 L de leite. A cultura foi descongelada apenas no momento da fabricação dos queijos.

4.5 Escolha do tipo de amido

Para a produção do queijo *light* com adição de amido (tratamento QA), foi selecionado o teor de amido de 0,5%, baseado em trabalhos disponíveis na

literatura (SIPAHIOGLU; ALVAREZ; SOLANO-LOPEZ, 1999; KAVAS et al., 2004 e ZISU; SHAH, 2005).

Para a escolha do tipo de amido, foi realizado, em teste preliminar, o estudo do efeito de diferentes tipos de amido nas características físico-químicas de queijo tipo Minas frescal com teor reduzido de gordura. Foram realizados quatro tratamentos: Queijo controle com teor integral de gordura (QC) e queijos com teor reduzido de gordura, com adição de 0,5% de amido de diferentes fontes botânicas: Sta-Slim-150 (Tate & Lyle), um amido modificado de mandioca (PSC); EP 1037 (Cargill), um amido modificado de milho (CSC) e Mira-Mist-662 (Tate & Lyle), um amido de milho ceroso (WSC). Foram realizadas as análises de umidade, gordura, gordura na matéria seca, cinzas, proteína, sal, acidez e sinérese, sendo escolhido o amido que apresentasse as características mais próximas às do queijo controle com teor integral de gordura. O estudo foi apresentado no 16th World Congress of Food Science and Technology – IUFOST, e encontra-se disposto no Anexo A.

4.6 Produção dos queijos

Os queijos foram produzidos, em triplicata de processamentos, com 15 L de leite pasteurizado, sendo que, o tratamento QI foi produzido com leite integral (3,5% de gordura) e os tratamentos QL e QA utilizaram leite padronizado a 1,5% de gordura. Para esta padronização, a proporção entre leite integral e leite desnatado foi calculada utilizando-se o diagrama de Pearson (TAMIME; ROBINSON, 1999), após determinação do teor de gordura das amostras de leite, através do equipamento Ekomilk-M.

Para cada processamento foram utilizadas amostras de leite pasteurizado integral e desnatado de um mesmo lote, garantindo assim, a padronização da matéria prima. Após o recebimento do lote de leite, as embalagens foram lavadas e armazenadas, sob refrigeração a 4 ºC, até o momento da produção.

Os queijos foram produzidos na Planta Piloto do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, IBILCE - UNESP, em um tanque mecanizado, encamisado, com capacidade para 56 L. As amostras de leite, segundo cada tratamento, foram adicionadas ao tanque e mantidas sob agitação, até que se

alcançasse a temperatura de 35 ºC, quando foram adicionados, os demais ingredientes, de acordo com a seguinte ordem:

- 0,5% em relação ao volume total de leite, 15 L, de amido de milho ceroso (somente para o tratamento QA), previamente dissolvido em 2 L de leite e aquecido a 85 ºC para que ocorresse a solubilização do amido, antes de sua adição ao processamento (adaptado de ZISU; SHAH, 2005);
- 0,5 mL/L de solução cloreto de cálcio 50%;
- 30 mL da cultura lática mista, composta por *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris;*
- 0,375 g de coalho dissolvido em água de acordo com a relação proposta pelo fabricante de que 500 g de coalho coagulam 20.000 L de leite. Atividade do coalho foi calculada pelo tempo necessário para coagulação de 200 mL de leite em 50 minutos, obtendo-se atividade de: 1:80.000, conforme Oliveira, 1986;

Após a adição do coalho, o leite foi misturado com agitação vigorosa, por 3 minutos, ficando, posteriormente, em repouso até que o leite coagulasse. O tempo de coagulação foi em torno de 50 minutos. O ponto de corte foi verificado pela introdução de uma espátula e observação da formação de uma fenda retilínea. Ao atingir-se o ponto de corte, a coalhada foi então cortada em cubos de aproximadamente 1 cm, com o uso de lira vertical e horizontal, e em seguida, procedeu-se a agitação leve da coalhada durante os primeiros 3 minutos, aumentando-se a sua intensidade nos próximos 22 minutos, totalizando 25 minutos de agitação da massa. Foi feita a dessoragem, com a eliminação de aproximadamente 75% do soro (11 L) para que pudesse ser realizada a salga direta na massa. A quantidade de sal foi calculada para 2,5% em relação à massa, considerando um rendimento de 6 L de leite por kg de queijo. O sal foi adicionado em solução e realizou-se a agitação por 2 minutos para a penetração e distribuição homogênea do sal na massa.

Após a salga, a massa foi colocada em formas redondas, próprias para queijo Minas, e foi realizada a primeira viragem dos queijos após 10 min de fabricação. Os queijos foram novamente virados, após 1 h de dessora, sob refrigeração (5 ºC), e virados, pela última vez, após mais uma hora de dessora. Estes foram deixados em repouso, sob refrigeração a 5 ºC por 24 h. No dia seguinte, os queijos foram retirados das formas e imersos em solução de 10% 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. Após a secagem, os queijos foram embalados a vácuo, em sacos plásticos termo-encolhíveis e armazenados em temperatura de 5 ºC sob refrigeração (adaptado de FURTADO; LOURENÇO NETO, 1994).

4.7 Caracterização físico-química e de composição centesimal dos queijos

Foi avaliado o efeito da redução da gordura e da adição do amido na composição centesimal dos queijos, após 3 dias de fabricação. As análises foram realizadas em triplicata e os métodos encontram-se descritos a seguir:

- Teor do extrato seco total (EST): Foi determinado por secagem em estufa a vácuo por 24 horas a 70 ºC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC, 1997);
- Teor de gordura (G): Foi determinado pelo método de Gerber com butirômetro para queijo (BRASIL, 2006) e o teor de gordura no extrato seco (GES): Foi calculado através da fórmula: % GES = (G / EST) x 100;
- 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 isoelétrica das caseínas (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC, 1997);
- Relação entre NS pH 4,6 e nitrogênio total (WOLFSCHOON-POMBO, 1983);
- 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% (AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1997);
- Relação entre NS TCA 12% e nitrogênio total (WOLFSCHOON-POMBO, 1983);
- Teor de proteína total (PT): Primeiramente, determinou-se o teor de nitrogênio total pelo método de Kjeldahl. Assim, o teor de proteína total foi calculado multiplicando-se o valor do nitrogênio total pelo fator 6,38 (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC, 1997).

- Teor de cinzas: Foi determinado por incineração em mufla a 550 ºC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC, 1997);
- Teor de sal: Foi determinado pelo método de doseamento nas cinzas, utilizando-se o método de titulometria por precipitação (Argentometria) (BRASIL, 2006);

Também foram realizadas, em triplicata, as análises físico-químicas de acidez e pH durante o período de armazenamento de 3, 10 e 17 dias, para avaliar o efeito da redução da gordura e da adição de amido no queijo Minas frescal, com relação ao tempo. Os métodos utilizados encontram-se descritos a seguir:

- Acidez: Foi determinada por titulação com NaOH 0,1 N usando fenolftaleína como indicador (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC, 1997). Os resultados foram expressos em % de ácido lático.
- pH: Obtido pela inserção direta do eletrodo de um pHmetro (Modelo PG1800 da marca Gehaka), previamente calibrado, nas amostras de queijo trituradas dispostas em béqueres.

4.8 Capacidade de retenção de água (CRA)

A fim de avaliar a exsudação de soro do queijo Minas frescal, foi realizado o estudo da capacidade de retenção de água dos queijos produzidos, conforme os tratamentos QI, QL e QA, em triplicata, após 3 dias de armazenamento (Adaptado de PRUDÊNCIO, 2006; VEIGA et al., 2000; HARTE et al., 2003). Foram centrifugados 15 g de amostra, a 5700 *g*, em centrífuga refrigerada (8 ± 1 ºC) por 60 minutos. Após centrifugação, o soro foi exsudado e as amostras foram pesadas, sendo calculado o percentual de capacidade de retenção de água, através da Equação 1:

$$\text{CRA (\%)} = [1 - (\text{Massa soro exsudado na centrifugação} / \text{Massa queijo})] \times 100 \qquad (1)$$

Após 10 e 17 dias de armazenamento, os queijos foram novamente submetidos à avaliação, desprezando-se o soro que foi liberado previamente durante a estocagem.

4.9 Determinação do rendimento

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

4.10 Caracterização do perfil de textura

Com o intuito de avaliar o efeito da redução da gordura e da adição de amido sobre a textura de queijo Minas frescal com teor reduzido de gordura, foi realizada a análise de perfil de textura (TPA), considerando-se os parâmetros: dureza, elasticidade, coesividade e mastigabilidade, após 3 e 17 dias de armazenamento, utilizando-se o texturômetro TA-XT2i (Stable Micro Systems, Surrey, Inglaterra).

Foram utilizadas um total de 6 amostras dos queijos de cada tratamento, em formato cilíndrico, com as dimensões de 2,5 cm de diâmetro e 3,0 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 (GONZÁLEZ, GIOIELLI, OLIVEIRA, 1998; GARCIA, 2010).

Os cilindros de queijo foram cortados momentos antes da análise e armazenados individualmente em embalagens de plástico, a 10 ºC. Para a obtenção de medições confiáveis do perfil de textura dos queijos, as amostras foram mantidas em refrigeração, até o momento da análise, quando cada amostra era retirada, por vez, e analisada no texturômetro.

4.11 Caracterização da microestrutura em microscópio eletrônico de varredura – MEV (SEM)

Para melhor entendimento da distribuição dos glóbulos de gordura na matriz proteica e para o estudo da influência da redução da gordura e da adição de amido nesta matriz, foram realizadas análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) nos queijos produzidos conforme os tratamentos QI, QL e QA. A análise foi realizada nas amostras de queijo de cada tratamento, obtidas após 5 dias de

armazenamento, de acordo com metodologia proposta por Madi-Ravazzi (2007), no Centro de Microscopia Eletrônica do IBILCE – UNESP.

As amostras foram obtidas da parte interna e central dos queijos, sendo cortadas com lâmina para obtenção de pequenos fragmentos com dimensões de, aproximadamente, 5 mm de lado e 1 mm de espessura. Após o corte, as amostras foram fixadas em solução de 2% de glutaraldeído em tampão fosfato e deixadas em repouso, sob refrigeração, até o momento da análise. Em seguida, o fixador foi descartado e foram realizados enxágues sucessivos com tampão fosfato. Posteriormente, adicionou-se às amostras 5 mL de tampão fosfato juntamente com 5 mL de tetróxido de ósmio (OsO_4), sendo deixadas em repouso sob refrigeração, por 2 horas. Logo após, foram realizados enxágues sucessivos com água destilada e a desidratação com soluções de concentrações crescentes de etanol (30, 50, 70, 80, 90 e 100%) por 10 minutos para cada concentração. Após secagem, em ponto crítico, com o equipamento EMITECH 850® (Emitech Ltda Ashford, Kent, Inglaterra), as amostras foram adicionadas nos suportes metálicos circulares (*stubs*) e para sua adesão, foi utilizada uma fita adesiva de cobre, dupla face, permitindo assim, melhor fluxo de elétrons. Os *stubs* contendo as referidas amostras foram cobertos com ouro, com a utilização do metalizador, EMITECH 550® (Emitech Ltda Ashford, Kent, Inglaterra). Após a metalização, as amostras foram analisadas no microscópio eletrônico de varredura, LEO 435 VPi (Zeiss, Cambridge, Inglaterra) utilizando-se 15 kV e uma primeira série de aumentos de 1400 x, 1420 x e 1960 x (10 μm), assim como uma segunda série de aumentos de 4180 x, 4500 x (3 μm) e 4500 x (2 μm).

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

Para avaliação do efeito da redução da gordura e da adição de amido na proteólise do queijo com teor reduzido de gordura, foi realizado o estudo das frações de caseína, dos queijos produzidos, por meio da análise de eletroforese em gel de poliacrilamida (Urea - PAGE)**.** As amostras foram coletadas após 3, 10 e 17 dias de armazenamento e congeladas para posterior avaliação. A análise foi realizada nas amostras dos tratamentos QI, QL e QA com a utilização de uma cuba de eletroforese vertical, Mini Protean 3 Cell (Bio Rad), 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 ureia 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 ºC por 1 hora, após, foi adicionado 5 µL de β-mercaptoetanol, seguido de aquecimento a 37 ºC por 45 minutos, e por fim, foi adicionada uma pequena quantidade de azul de bromofenol. Para a separação das frações, 10 µL das amostras e do padrão de caseinato de sódio foram aplicados no gel, utilizando-se potência de 100 V, até o corante azul de bromofenol atingir o final do gel, aproximadamente, 5 horas. Os géis foram corados com solução de *Coomassie Brilliant Blue* R-250, por 24 h e descorados com solução descorante (água destilada, etanol e ácido acético). Para o armazenamento dos géis, a seco e à temperatura ambiente, estes foram fixados por 24 h em papel celofane previamente molhado e devidamente esticado, para a sua secagem por completo.

4.13 Caracterização microbiológica

Para determinar a qualidade microbiológica dos queijos submetidos à avaliação sensorial, foram realizadas análises microbiológicas, após 2 dias de fabricação. Segundo a Resolução RDC, nº12, de 01/01/2001, da ANVISA, sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos (BRASIL, 2001), para queijos de muita alta umidade, como o queijo Minas frescal, devem ser realizadas as análises de: Contagem de coliformes fecais (NMP/g); Estafilococos coagulase positiva (UFC/g); Presença de *Lysteria monocytogenes* e presença de *Salmonella sp*.

A preparação das amostras para análise e as determinações analíticas foram realizadas segundo o *Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods* (AMERICAN PUBLIC AND HEALTH ASSOCIATION - APHA, 1992) e as análises foram realizadas pelo Laboratório de Análises Microbiológicas do Instituto Adolfo Lutz, de São José do Rio Preto - SP.

4.14 Avaliação sensorial

A aplicação do teste sensorial foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da UNESP (CAAE nº:

08530412.6.0000.5466 / Parecer nº: 123.384). A folha de rosto para pesquisa envolvendo seres humanos, o Parecer Consubstanciado do CEP e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, encontram-se no Anexo B.

Foi determinada, após 10 dias de fabricação, a aceitabilidade geral dos queijos QI, QL e QA, e, consequentemente, a influência da redução da gordura e da adição de amido na aceitabilidade do queijo com teor reduzido de gordura, utilizando-se um teste de afetividade. Uma equipe de 50 provadores não treinados realizou a avaliação dos 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 (aspecto visual do produto), 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).

A avaliação sensorial foi realizada nos períodos da manhã (entre 9 e 11 h) e da tarde (entre 15 e 17 h) em cabines individuais, com iluminação artificial. As amostras foram codificadas com números aleatórios de três dígitos e apresentadas aos provadores de forma monádica, que receberam uma bandeja contendo a amostra, água e a ficha de avaliação (FARIA; YOTSUYANAGI, 2008).

4.15 Delineamento experimental e análise estatística dos resultados

Os experimentos foram realizados em triplicata utilizando um modelo de blocos completos balanceados, com a incorporação de 3 tratamentos: queijo com teor integral de gordura (QI), queijo com teor reduzido de gordura (QL) e queijo com reduzido teor de gordura e adição de 0,5% de amido de milho ceroso (QA), totalizando 9 experimentos.

Para avaliar os resultados das análises de composição centesimal e rendimento, acidez, pH, sinérese, perfil de textura e análise sensorial, foi realizada a análise de variância (ANOVA), e posteriormente, o teste de Tukey para verificação das diferenças entre as médias, ao nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$), utilizando-se o programa Statistica 7.0 (StatSoft, Inc., 2004, Tulsa, EUA).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Composição centesimal e características físico-químicas do leite

A composição físico-química, o teor de acidez e a presença de antibiótico e de fosfatase alcalina referentes aos lotes de leite pasteurizado: integral, utilizado no processamento QI e padronizado, utilizado nos processamentos QL e QA, são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Caracterização físico-química do leite integral e padronizado utilizados na produção dos queijos.

Análises	Leite Integral	Leite Padronizado
Sólidos totais (%)	$11,87^{a} \pm 0,18$	$10,23^{b} \pm 0,03$
Gordura (%)	$3,64^{a} \pm 0,23$	$1,56^{b} \pm 0,02$
SNG * (%)	$8,23^{b} \pm 0,05$	$8,68^{a} \pm 0,01$
Densidade (g/cm^3)	$1,0291^{b} \pm 0,42$	$1,0328^{a} \pm 0,04$
Proteína (%)	$3,01^{b} \pm 0,02$	$3,16^{a} \pm 0,00$
Acidez (ºD)	$17,05^{a} \pm 0,14$	$16,94^{a} \pm 0,17$
Antibiótico	Negativo	Negativo
Fosfatase alcalina	Negativo	Negativo

[a, b] Letras iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si ($p \geq 0,05$). * SNG: Sólidos não gordurosos.

As diferenças observadas na composição físico-química, entre os lotes de leite integral e o padronizado (Tabela 2) estão diretamente relacionadas com o menor teor de gordura do leite padronizado quando comparado ao integral. A remoção da gordura afeta a proporção dos vários componentes do leite, promovendo um aumento no teor de umidade, com consequente diminuição no teor de sólidos totais e aumento relativo no teor de proteína (MISTRY, 2001). Além disso, a densidade do leite padronizado foi maior que a do leite integral (Tabela 2) e isto ocorre devido à retirada da gordura, uma vez que a gordura é menos densa que os demais componentes do leite.

Os valores da composição centesimal dos lotes de leite estão próximos aos requisitos estabelecidos pela Instrução Normativa (IN) 62, havendo variação apenas

no teor de sólidos não gordurosos, para o leite integral, que deveria estar acima de 8,4%, sendo este valor (8,23%) possivelmente atribuído ao alto teor de gordura deste leite (3,64%) (BRASIL, 2011).

Não houve diferença significativa ($p \geq 0,05$) entre o teor de acidez das amostras e os valores também encontram-se de acordo com a legislação, uma vez que, valores aceitáveis devem estar entre 14 e 18º D, e foram obtidos os valores de 17,05 e 16,94 ºD para os lotes de leite integral e padronizado, respectivamente (Tabela 2) (BRASIL, 2011).

As amostras de leite integral e padronizado não apresentaram atividade de fosfatase alcalina, indicando que a pasteurização do leite foi eficaz (OLIVEIRA, 1986), assim como, não apresentaram resíduos de antibióticos, que poderiam inibir o desenvolvimento da cultura lática.

5.2 Composição centesimal dos queijos

A composição centesimal dos queijos produzidos conforme os três tratamentos, analisada após 3 dias de fabricação, encontra-se na Tabela 3.

Tabela 3 - Composição centesimal dos queijos.

Análise	QI	QL	QA
Umidade (%)	$59,97^{c}$±0,92	$61,29^{b}$±1,83	$63,21^{a}$±1,32
Gordura (%)	$20,83^{a}$±1,25	$12,72^{b}$±0,57	$11,72^{b}$±0,62
GES * (%)	$50,75^{a}$±2,10	$32,79^{b}$±0,61	$31,87^{b}$±1,35
Proteína (%)	$14,01^{b}$±0,24	$18,91^{a}$±0,41	$18,65^{a}$±0,48
Cinzas (%)	$2,54^{b}$±0,08	$2,90^{a}$±0,10	$2,84^{a}$±0,09
Sal (%)	$0,49^{a}$±0,17	$0,47^{a}$±0,13	$0,48^{a}$±0,15
NS pH4,6/NT(%)	$4,46^{a}$±1,25	$4,27^{a}$±0,19	$4,07^{a}$±0,17
NS TCA/NT(%)	$1,83^{a}$±0,30	$1,48^{a}$±0,45	$1,47^{a}$±0,28

[a, b, c] Letras iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si ($p \geq 0,05$). * GES - Gordura no extrato seco. QI - Queijo integral; QL - Queijo *light*; QA - Queijo *light* com adição de amido.

A umidade dos queijos foi considerada estatisticamente diferente ao nível 5% (Tabela 3), sendo que os queijos com baixos teores de gordura apresentaram maior

umidade. É natural que esses queijos possuam maior umidade, uma vez que, a gordura removida é substituída em grande parte por água (MISTRY, 2001), sendo este aumento da umidade, uma das estratégias que melhora a qualidade dos queijos com teores reduzidos de gordura por proporcionar aumento na relação: umidade / proteína no queijo, tornando-a semelhante ou maior à da sua variedade integral (KOCA; METIN, 2004).

O maior teor de umidade de QA em relação à QL (Tabela 3) é um resultado positivo, pois indica que o substituto de gordura elevou, ainda mais, a umidade do queijo *light*, possivelmente, pelo aumento da capacidade de retenção de água fornecida pelo amido. Segundo Lucca e Tepper (1994), os imitadores de gordura possuem uma capacidade de retenção de água maior que a da caseína e por isso, resultam em um alto conteúdo de água no queijo, melhorando sua textura.

O aumento de umidade em queijos com teores reduzidos de gordura que utilizaram imitadores, também foi observado por Zalazar e colaboradores (2002) em queijo Argentino cremoso e por Koca e Metin (2004) e Sahan e colaboradores (2008) em queijo do tipo Kashar. Resultados semelhantes com o uso de amido modificado foram encontrados por Romeih e colaboradores (2002) em queijo branco em conserva com a adição de amido modificado de milho, por Sipahioglu, Alvarez e Solano-Lopez (1999) em queijo do tipo Feta com o uso de amido modificado de mandioca e por Noronha e colaboradores (2008), em um análogo de queijo, com 55% de umidade, utilizando diferentes tipos de amidos.

Além disso, todos os queijos produzidos encontram-se de acordo com o regulamento técnico de identidade e qualidade de queijos, uma vez que, o queijo Minas frescal, por ser considerado um queijo de muita alta umidade, deve possuir um teor de umidade maior que 55% (BRASIL, 1997).

O teor de gordura dos queijos foi considerado estatisticamente diferente, ao nível de 5%. Isto se deve à utilização de leite com teores diferentes de gordura (QI com 3,5% de gordura e QL e QA com 1,5% de gordura). O queijo integral apresentou maior teor de gordura (20,83%), enquanto que os demais foram considerados estatisticamente iguais (QL com 12,72% e QA com 11,72%). O teor de gordura no extrato seco (GES) é utilizado para a classificação de queijos *light,* necessitando, para isso de uma redução de 25% no teor de GES em relação à sua variedade integral (BRASIL, 1998). O queijo Minas frescal, por ser considerado um queijo semi-gordo possui entre 25 e 44,9% de gordura (BRASIL, 1997), assim, para

ser considerado *light*, o queijo Minas frescal deve possuir um teor de GES inferior a 33,68%, conforme observado nos queijos dos tratamentos QL (32,79%) e QA (31,87%). Por este motivo, esses queijos podem receber a denominação de queijo *light.*

O teor de proteína do queijo integral (QI) foi considerado estatisticamente inferior ($p \leq 0,05$) aos demais, o que é normal uma vez que a retirada da gordura promove um aumento na proporção relativa de proteína. Em geral, este é o principal problema dos queijos *light,* pois gera uma maior possibilidade de ligações entre as cadeias de proteína, tornando a matriz mais compacta, o que resulta em textura mais dura ao queijo (KAVAS et al., 2004). Os teores de proteína dos queijos dos tratamentos QL e QA foram considerados estatisticamente iguais, ao mesmo nível de significância. Foi observado por Lobato-Calleros e colaboradores (2007) aumento no teor de proteína, em um análogo de queijo fresco com baixo teor de gordura, adicionado de concentrado proteico de soro, quando comparado ao queijo reduzido de gordura sem adição de substituto.

Resultados semelhantes de aumento no teor de proteína em queijos com teores reduzidos de gordura, quando comparados com suas variedades tradicionais, também foram encontrados por Sipahioglu, Alvarez e Solano-Lopez (1999), Kavas e colaboradores (2004), Haque, Kuçukoner e Aryana (2007), Garcia (2010), Diamantino (2011) e Silva (2011).

Os teores de cinzas dos queijos dos tratamentos QL e QA foram considerados estatisticamente iguais ($p \geq 0,05$) e maiores que o do queijo integral. A adição de amido não interferiu no teor de cinzas, comparando-se os queijos QL e QA. O maior teor de cinzas dos queijos *light,* em relação ao queijo integral pode estar relacionado com a redução do teor de gordura dos queijos, que promove uma alteração no balanço dos componentes (DE RENSIS; PETENATE; VIOTTO, 2009).

Não houve influência dos tratamentos experimentais no teor de sal dos queijos QI, QL e QA, sendo considerados estatisticamente iguais ($p \geq 0,05$) (Tabela 3). Essa característica também foi observada por Sipahioglu, Alvarez e Solano-Lopez (1999) e Romeih, Moe e Skeie (2012).

No terceiro dia de fabricação, não foi observada diferença significativa na proteólise dos queijos produzidos, uma vez que os índices de extensão e de profundidade da proteólise dos queijos dos tratamentos QI, QL e QA foram considerados estatisticamente iguais ($p \geq 0,05$).

O índice de extensão está relacionado com as proteinases naturais do leite e do agente coagulante, enquanto que, o índice de profundidade está relacionado principalmente com a atividade de endoenzimas e exoenzimas da cultura lática empregada na fabricação do queijo e de possíveis contaminantes (NARIMATSU et al*.,* 2003). O teor de gordura, a adição de amido e o aumento da umidade não influenciaram na degradação proteica dos queijos, no terceiro dia de fabricação, provavelmente, devido ao curto tempo em que a análise foi realizada, insuficiente para ocasionar diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as amostras.

Portanto, a redução da gordura promoveu, principalmente, aumento nos teores de umidade, proteína e cinzas do queijo Minas frescal com teor reduzido de gordura, enquanto que a adição de amido resultou, significativamente, apenas no aumento do teor de umidade do queijo.

5.3 Acidez

Os queijos produzidos conforme os três tratamentos apresentaram aumento no teor de acidez ao longo do tempo de estocagem refrigerada (Figura 2). Este comportamento está relacionado, principalmente, com aumento da população de bactérias láticas, as quais são os principais agentes na transformação da lactose em ácido lático (SANGALETTI et al., 2009). Durante a produção do queijo, grande parte da lactose é removida durante o processo de fabricação, porém, a lactose residual é metabolizada rapidamente pela ação da cultura lática, com produção de ácido lático (McSWEENEY; FOX, 2004).

Buriti, Rocha e Saad (2005) avaliaram o queijo Minas frescal, durante 21 dias de armazenamento, à temperatura de 8 °C, e, de maneira semelhante, observaram um aumento na acidez titulável em ácido lático. Sangaletti e colaboradores (2009) também observaram aumento na acidez titulável com o estudo da vida útil de queijo Minas frescal ao longo de 30 dias de armazenamento refrigerado.

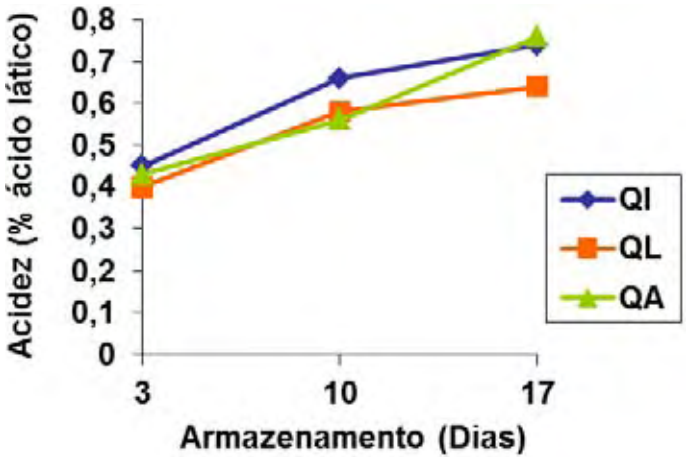

Figura 2 - Evolução da acidez, durante estocagem refrigerada (5 ºC), dos queijos dos tratamentos: QI - Queijo integral, QL - Queijo *light* e QA - Queijo *light* com adição de amido.

Os queijos dos três tratamentos (QI, QL e QA) foram considerados estatisticamente iguais após 3 dias de fabricação ($p \geq 0,05$) (Anexo C). Ao longo do armazenamento, houve aumento gradativo da acidez e no 17º dia de estocagem, os queijos dos tratamentos QI e QA apresentaram-se estatisticamente iguais entre si ($p \geq 0,05$) e com um teor de acidez maior que o do queijo do tratamento QL.

Este é um resultado positivo, que pode indicar que a adição de amido favoreceu as características do produto com teor reduzido de gordura, aumentando a acidez do queijo QA, ao fim do tempo de armazenamento, a valores próximos aos da variedade integral. Embora o aumento da acidez resulte em queijos de menor umidade, uma vez que o ácido lático produzido reage com o paracaseinato de cálcio, tornando-o mais desmineralizado e poroso, facilitando a liberação espontânea de soro (FURTADO; LOURENÇO NETO, 1994), esse resultado pode estar relacionado com o aumento da retenção de água proporcionado pelo amido, que aumentou de maneira significativa a umidade do produto e impediu sua dessoragem, favorecendo o desenvolvimento das bactérias acidoláticas, o que gerou maior produção de ácido lático que a variedade *light* sem adição de amido. Garcia (2010) e Diamantino (2011) também observaram esta característica em queijo Prato com reduzido teor de gordura, adicionado de enzimas e concentrado proteico de soro (CPS) e colágeno hidrolisado, respectivamente, assim como Silva (2011), em queijo Minas frescal com teor reduzido de gordura, adicionado de colágeno.

5.4 pH

Embora, tenha sido observado um leve decréscimo no valor de pH para os queijos dos tratamentos QI e QA, em relação ao tempo (Figura 3), o valor de pH dos queijos dos três tratamentos foi considerado estatisticamente igual ($p \geq 0,05$), ao longo do tempo de armazenagem (Anexo D).

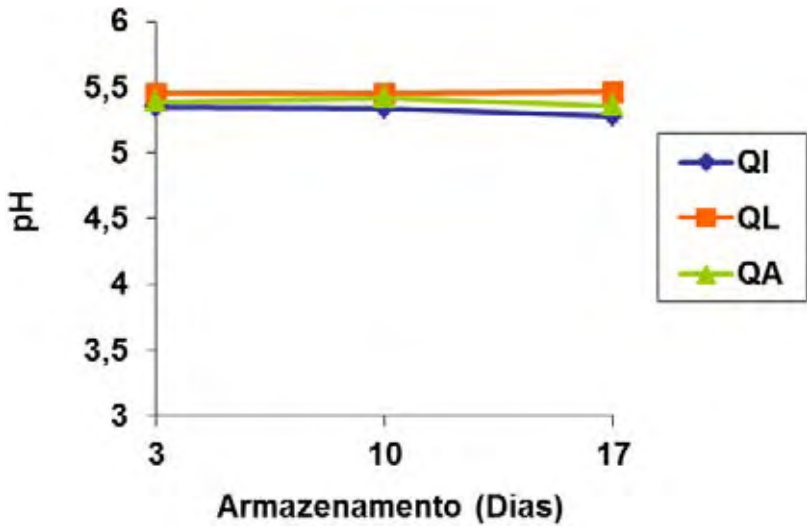

Figura 3 - Evolução do pH, durante estocagem refrigerada (5 ºC) dos queijos dos tratamentos: QI - Queijo integral, QL - Queijo *light* e QA - Queijo *light* com adição de amido.

Contudo, Sangaletti e colaboradores (2009) observaram uma redução no pH de queijo Minas frescal de 6,66 para 5,85 ao longo de 30 dias de armazenamento, enquanto Buriti, Rocha e Saad (2005), ao estudarem o queijo Minas frescal por um período de 21 dias sob refrigeração, observaram uma redução no pH de 6,16 para 5,38.

Essa diferença pode ser atribuída ao tempo de armazenamento que, no presente trabalho, pode ter sido insuficiente para que houvesse a redução do pH a um nível em que causasse diferença estatística ($p \leq 0,05$) entre os queijos, ao longo do tempo de armazenagem. Por outro lado, neste mesmo período de armazenamento, houve aumento da acidez para todas as amostras, dessa forma, esse comportamento de manutenção do pH ao longo do tempo, pode ter sido causado por um possível efeito tamponante gerado pelos sólidos presentes no leite.

Além disso, durante o armazenamento, foram observados maiores valores de pH para os queijos com baixos teores de gordura (em média 5,45 para o queijo do

tratamento QL e 5,39, para o queijo do tratamento QA) quando comparados ao queijo integral (em média, 5,32) (Anexo D). Esse comportamento está coerente com os resultados de acidez, em que os queijos *light* apresentaram menor acidez que o queijo integral. Este resultado também mostra que o amido, possivelmente, melhorou a qualidade do queijo Minas com teor reduzido de gordura, ao proporcionar um pH estatisticamente igual ($p \geq 0,05$) ao do queijo integral, e estatisticamente diferente ($p \leq 0,05$) ao do queijo reduzido de gordura, sem adição de amido, após 17 dias de armazenamento (Anexo D).

5.5 Capacidade de retenção de água (CRA)

Os queijos produzidos conforme os três tratamentos apresentaram aumento na capacidade de retenção de água (CRA) ao longo do tempo de armazenagem refrigerada, sendo menor para o queijo *light* sem adição de amido (Figura 4). Isto acontece porque a capacidade de retenção de água está diretamente relacionada à sinérese, saída de soro que ocorre nos queijos em condição de repouso e que é considerada um fenômeno indesejável quanto à aparência dos produtos durante a comercialização (DEJMEK; WALSTRA, 2004). Sabe-se que, frequentemente, a sinérese é maior em queijos *light* devido à maior umidade característica destes queijos e, principalmente, pelo fato de que a presença da gordura promove um impedimento estérico entre as cadeias de proteínas. Assim, com a sua retirada, aumentam-se as interações proteína-proteína, o que proporciona um aumento na dessoragem. Ainda, é comum ocorrer maior sinérese nos primeiros dias de estocagem, atingindo um equilíbrio ao longo do tempo.

Embora os queijos do tratamento QA tenham apresentado um perfil semelhante aos do QL, a sua capacidade de retenção de água (CRA) foi maior, que a CRA do QL aos 10 e 17 dias de armazenamento (Figura 4). Além disso, a CRA do QA foi considerada, aos 17 dias, estatisticamente igual ($p \geq 0,05$) à CRA do queijo integral (Anexo E). Este é um resultado bastante positivo, que indica que a adição de amido, influenciou na redução da sinérese do queijo QA, mesmo este queijo possuindo a maior umidade quando comparado aos demais, possivelmente, devido à alta capacidade de retenção de água do amido. Esta maior estabilidade é

desejável em produtos com teor reduzido de gordura, para a melhora de suas características, principalmente, de textura e rendimento.

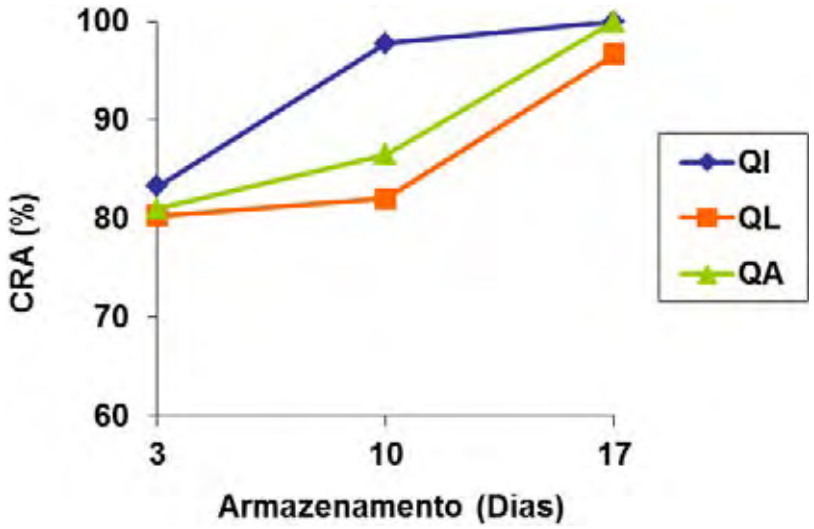

Figura 4 – Evolução da capacidade de retenção de água, durante estocagem refrigerada (5 ºC) dos queijos dos tratamentos: QI - Queijo integral, QL - Queijo *light* e QA - Queijo *light* com adição de amido.

Conforme Romeih e colaboradores (2002) pode-se dizer que alguns imitadores de gordura interferem na contração da matriz de caseína diminuindo as forças envolvidas na expulsão de água das partículas do coágulo. Por outro lado, Franco e colaboradores (2001) sugerem que a alta capacidade de retenção de água do amido de milho ceroso está relacionada com o seu maior teor de amilopectina e, consequentemente, ao maior número de grupos hidrofílicos disponíveis, presentes em suas ramificações. Veiga e colaboradores (2000) encontraram resultados de CRA de aproximadamente 40 a 45% para a maioria das amostras de queijo *petit suisse* avaliadas. Estes menores valores de CRA, quando comparados aos dos queijos deste trabalho, estão relacionados com a maior umidade do queijo *petit suisse*, que gira em torno de 70%. Porém, para a amostra que continha em sua composição: concentrado proteico de soro (CPS) e pectina, a CRA foi bastante elevada, em torno de 92%, próximo aos valores encontrados para o queijo Minas frescal após o 10º dia de fabricação.

Resultados semelhantes, de redução da sinérese e, consequentemente, aumento da retenção de água com a adição de substitutos de gordura foram

encontrados em diferentes queijos *light*: em queijo Kashar, por Koca e Metin (2004); em queijo Prato, por Diamantino (2011) e em queijo Minas frescal, por Silva (2011). Além disso, Noronha e colaboradores (2008) observaram diminuição da mobilidade da água no produto, com o aumento da concentração de diferentes tipos de amido (nativo, pré-gelatinizado, resistente e ceroso) em um análogo de queijo, com 55% de umidade, tal como o queijo Minas frescal.

5.6 Rendimento

O queijo integral apresentou rendimento estatisticamente maior ($p \leq 0,05$) quando comparado aos queijos com teor reduzido de gordura (QL e QA) (Tabela 4). Este menor rendimento ocorreu porque, embora a gordura retirada seja substituída por água, o total de gordura removida não é igual ao de água adicionada (MISTRY, 2001).

Tabela 4 - Rendimento dos queijos (kg de queijo / 100 kg de leite).

	QI	**QL**	**QA**
Rendimento (%)	$14,70^{a}\pm0,36$	$11,62^{b}\pm0,29$	$12,03^{b}\pm0,31$

[a, b] Letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si ($p \geq 0,05$). QI - Queijo integral; QL - Queijo *light*; QA - Queijo *light* com adição de amido.

Além disso, não houve diferença significativa ($p \geq 0,05$) entre os queijos *light* com e sem adição de amido (Tabela 4). O amido, devido à sua natureza polar, deveria atuar melhorando o rendimento dos queijos com baixo teor de gordura, através da sua alta capacidade de retenção de água. Porém, o aumento no rendimento não foi observado, possivelmente, pela quantidade de amido utilizada, que foi insuficiente para produzir este efeito. Por outro lado, a adição deste teor de amido foi suficiente para promover aumento da umidade e da capacidade de retenção de água no produto.

Uma alternativa para a melhora do rendimento destes queijos seria a pré-acidificação do leite. Segundo Campos (2000) a pré-acidificação do leite tem sido um dos processos mais utilizados na fabricação do queijo Minas frescal pela redução do consumo de coalho, aumento do rendimento e da capacidade de retenção de água, e redução e padronização da acidez.

Zisu e Shah (2005) estudaram o efeito da pré-acidificação do leite e de diferentes imitadores de gordura em queijo Mussarela com baixo teor de gordura (6%) e observaram maior rendimento nos queijos do tratamento que utilizou pré-acidificação e adição de 0,25% de amido de milho ceroso.

Campos (2000) obteve rendimentos em torno de 16% (16 kg de queijo/100 kg de leite) para queijo Minas frescal com adição de ácido lático e diferentes proporções de cultura lática. Estes valores se assemelham aos encontrados para o queijo integral do presente trabalho (14,70%) sendo esta diferença, possivelmente, atribuída à acidificação com ácido lático, que, como já citado anteriormente, melhora o rendimento dos queijos (CUNHA; VIOTTO, VIOTTO, 2006).

Maiores valores de rendimento (em torno de 18 kg de queijo/100 kg de leite) foram encontrados por KIKUCHI (2008) em queijo Minas frescal com teor reduzido de gordura produzido por ultrafiltração e submetido a diferentes tratamentos térmicos do leite e do retentado. Esta diferença considerável, quando comparado aos queijos *light* do presente trabalho (11,62% para o QL e 12,03% para o QA), pode ser atribuída ao processo de ultrafiltração, que aumenta o rendimento dos queijos pela incorporação de proteínas do soro ao queijo.

5.7 Caracterização do perfil de textura

Os resultados dos parâmetros de textura: dureza, coesividade, elasticidade e mastigabilidade dos queijos dos tratamentos QI, QL e QA, obtidos por análise de perfil de textura (Texture Profile Analysis – TPA) após 3 e 17 dias de armazenamento, estão apresentados na Tabela 5.

A menor dureza do queijo integral quando comparado aos queijos *light* (Tabela 5) era esperada e está relacionada com o seu maior teor de gordura, já que a remoção da gordura permite uma maior interação entre as proteínas e, portanto, a estrutura do queijo se torna relativamente mais firme e elástica em função do aumento e da intensidade das ligações (PINHEIRO; PENNA, 2004).

Além disso, não houve diferença significativa, ao nível de 5% ($p \geq 0,05$) na dureza dos queijos *light* com e sem adição de amido (QA e QL) ao longo do tempo de armazenamento (Tabela 5). Embora, tenha sido observada uma tendência na redução da dureza do queijo QA quando comparado ao QL, provavelmente, a

quantidade de amido adicionada (0,5%) não foi suficiente para diminuir sua dureza de maneira significativa. Assim, é possível que com o aumento da quantidade adicionada de amido, a dureza do queijo *light* diminua significativamente.

Tabela 5 – Perfil de textura dos queijos durante o armazenamento.

Parâmetro	Dia	QI	QL	QA
Dureza (N)	**3º**	$10,72^{A,b} \pm 2,27$	$19,25^{A,a} \pm 2,69$	$17,92^{A,a} \pm 3,48$
	17º	$2,27^{B,b} \pm 0,66$	$4,93^{B,a} \pm 1,15$	$4,33^{B,a} \pm 0,88$
Coesividade	**3º**	$0,82^{A,b} \pm 0,01$	$0,87^{A,a} \pm 0,02$	$0,87^{A,a} \pm 0,01$
	17º	$0,83^{A,b} \pm 0,03$	$0,85^{B,a,b} \pm 0,03$	$0,85^{B,a} \pm 0,03$
Elasticidade	**3º**	$0,89^{A,b} \pm 0,03$	$0,93^{A,a} \pm 0,03$	$0,93^{A,a} \pm 0,03$
	17º	$0,91^{A,a} \pm 0,07$	$0,89^{B,a} \pm 0,06$	$0,91^{A,a} \pm 0,06$
Mastigabilidade (N)	**3º**	$8,05^{A,b} \pm 1,63$	$14,79^{A,a} \pm 2,17$	$15,95^{A,a} \pm 3,23$
	17º	$1,74^{B,b} \pm 0,55$	$3,84^{B,a} \pm 1,02$	$3,48^{B,a} \pm 0,75$

$^{A,\ B}$ Letras iguais maiúsculas na mesma coluna, por parâmetro, não diferem significativamente entre si ($p \geq 0,05$). $^{a,\ b}$ Letras iguais minúsculas na mesma linha não diferem significativamente entre si ($p \geq 0,05$). QI - Queijo integral; QL - Queijo *light*; QA - Queijo *light* com adição de amido.

Observou-se também uma redução significativa na dureza dos queijos dos três tratamentos, do 3º para o 17º dia de armazenamento (Tabela 5). A redução está relacionada com a fragilização da rede proteica devido à proteólise resultante da ação de enzimas: como as encontradas no coalho, as proteases e peptidases da cultura lática e / ou cultura secundária e as enzimas naturais do leite (FOX; LAW, 1991; LAWRENCE; CREAMER; GILLES, 1987). Nos queijos frescos, não maturados, como o queijo Minas frescal, esse aumento na maciez é provocado, principalmente, por ação do coalho residual, que age logo no período inicial do armazenamento, hidrolisando a α_{S1}-caseína e liberando a α_{S1}-I-caseína (FOX; McSWEENEY, 1998). Além disso, o aumento da acidez, também promove transformações nas características dos agregados proteicos e, consequentemente, em sua textura, gerando queijos mais macios e mais susceptíveis à fragmentação (QUEIROGA et al., 2013). Zisu e Shah (2005) observaram maior redução da dureza

de queijo Mussarela, com baixo teor de gordura, para o tratamento que utilizou pré-acidificação do leite e 0,25% de amido de milho ceroso.

Piazzon-Gomes, Prudêncio e Silva (2010) encontraram em queijo Minas frescal adicionado de extrato solúvel de soja valores de dureza em torno de 11 a 15 N, semelhantes aos encontrados neste trabalho. Queiroga e colaboradores (2013) estudaram as propriedades nutricionais, sensoriais e de textura de queijo Coalho produzido com leite de diferentes espécies: cabra, vaca e a mistura destas espécies, e também obtiveram, para o queijo produzido com leite de vaca, valores de dureza entre 12 e 20 N, considerados próximos aos encontrados no presente trabalho no 3º dia de armazenamento. Enquanto, Kikuchi (2008) encontrou valores de dureza consideravelmente menores para queijo Minas frescal com teor reduzido de gordura, produzido por ultrafiltração (de 4 a 7 N), sendo esta diferença, possivelmente, relacionada ao processo de ultrafiltração que promove a inclusão de proteínas do soro ao leite, tornando o queijo mais macio.

Os queijos *light* (QL e QA), no 3º dia de armazenamento, apresentaram coesividade e elasticidade estatisticamente maiores ($p \leq 0,05$) que o queijo integral. Este resultado é devido à existência de poucos glóbulos de gordura para romper a matriz proteica, o que é responsável pela textura característica destes queijos, denominada de “borrachenta” (MERRIL et al., 1996; RODRÍGUEZ, 1998; PINHEIRO; PENNA, 2004). No 17º dia de estocagem, a elasticidade de QI, QL e QA, foi considerada estatisticamente igual ($p \geq 0,05$), assim como a tendência da coesividade em se tornar estatisticamente igual para os queijos dos três tratamentos avaliados (Tabela 5), o que pode estar relacionado com a intensidade da proteólise ao fim do armazenamento. Resultados, de coesividade e elasticidade, semelhantes aos encontrados no presente trabalho foram observados em queijo Minas frescal por Buriti, Rocha e Saad (2005), Piazzon-Gomes, Prudêncio e Silva (2010) e Silva (2011).

Para a mastigabilidade foi observada a mesma tendência apresentada para a dureza, ou seja, de aumento da mastigabilidade com a redução do teor de gordura e de redução da mastigabilidade ao longo do tempo. Isto porque esses dois parâmetros encontram-se intimamente relacionados. Piazzon-Gomes, Prudêncio e Silva (2010) encontraram resultados semelhantes aos do queijo integral no 3º dia de fabricação, em queijo Minas frescal com adição de derivados de soja (com valores de mastigabilidade entre 5 e 8 N), enquanto que Lobato-Calleros e colaboradores

(2007) encontraram valores muito próximos aos encontrados nos queijos *light,* para queijo fresco com teor reduzido de gordura e adição de óleo de canola e concentrado proteico de soro, obtendo, para alguns tratamentos, valores de mastigabilidade entre 10 e 18 N.

No geral, constatou-se que com a redução do teor de gordura, todos os parâmetros de textura aumentaram, exceto a elasticidade no 17º dia de armazenamento, que foi considerada estatisticamente igual para QI, QL e QA. Koca e Metin (2004) também observaram aumento dos mesmos parâmetros de textura com a diminuição do teor de gordura em queijo fresco tipo Kashar.

Além disso, a adição de amido não influenciou significativamente na melhora de nenhum dos parâmetros de textura, comparando-se com o queijo *light* sem adição de amido*,* possivelmente, pela quantidade de amido utilizada (0,5%). Foi observada, apenas, uma leve tendência de melhora, principalmente, dos parâmetros dureza e mastigabilidade. Kavas e colaboradores (2004) também não observaram melhora significativa dos parâmetros de textura em queijo branco em conserva (*White Pickled Cheese*) com teor reduzido de gordura e 0,5% de amido modificado de batata.

5.8 Caracterização da microestrutura em microscópio eletrônico de varredura – MEV (SEM)

A Figura 5 apresenta as fotomicrografias da análise de microestrutura do queijo Minas frescal integral (QI) e de suas variedades com teor reduzido de gordura com adição de amido (QA) e sem adição de amido (QL), após 5 dias de fabricação, sob armazenamento refrigerado.

As fotomicrografias de varredura (SEM) dos queijos dos tratamentos QI, QL e QA (Figura 5) demonstraram, principalmente, a quantidade e a interação dos glóbulos de gordura com a matriz proteica do queijo Minas frescal, assim como as diferenças na densidade da matriz proteica, entre o queijo integral e os queijos *light.*

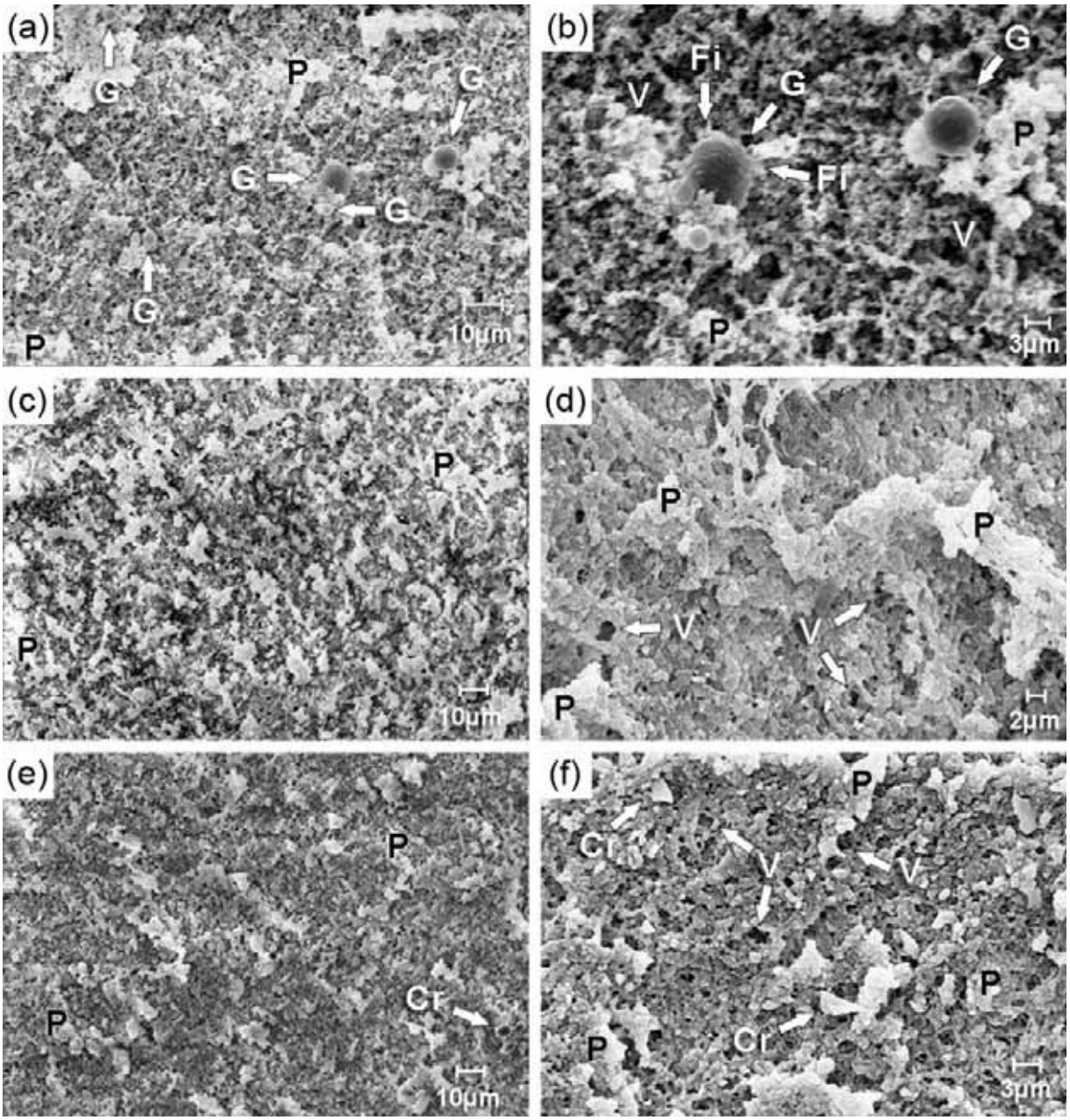

Figura 5 - Fotomicrografias eletrônicas de varredura de: (a) Queijo Minas frescal Integral – QI, Magnitude: 1960 x; (b) Queijo Minas frescal Integral – QI, Magnitude: 4180 x; (c) Queijo Minas frescal *light* – QL, Magnitude: 1420 x; (d) Queijo Minas frescal *light* – QL, Magnitude: 4500 x; (e) Queijo Minas frescal *light* com adição de amido – QA, Magnitude: 1400 x; (f) Queijo Minas frescal *light* com adição de amido – QA, Magnitude: 4500 x. P: Matriz proteica; G: Glóbulos de gordura; V: Espaços vazios; Fi: Filamentos proteicos; Cr: Inclusões cristalinas.

No queijo integral (Figuras 5.a e 5.b) observou-se um grande número de glóbulos de gordura (G), esféricos e de diversos tamanhos, inseridos na matriz proteica (P). O queijo integral também apresentou o maior número de glóbulos de gordura, dispersos em toda a extensão desta amostra, quando comparado aos queijos *light* (Figuras: 5.c a 5.f).

Na figura 5.b é possível visualizar, com maior precisão, o glóbulo de gordura aprisionado na matriz proteica. Em sua superfície, observam-se estruturas filamentosas (Fi) que podem representar cadeias de caseína e / ou de proteínas do soro. O depósito destas proteínas na superfície do glóbulo é, provavelmente, o responsável pela integração do glóbulo de gordura à matriz proteica (LOBATO-CALLEROS et al., 2007). Esta mesma figura também mostra que o queijo integral exibe uma matriz mais aberta que a dos queijos *light,* devido à interrupção nas cadeias proteicas ocasionadas pela presença dos glóbulos de gordura (G) e de espaços vazios (V) formados pela eliminação da água ou do ar que ficaram aprisionados na matriz do queijo, durante o processamento (LYU; XU; GUO, 2008), ou ainda pela degradação de glóbulos de gordura (LOBATO-CALLEROS et al., 2007).

Em comparação com o queijo integral, os queijos *light,* sem adição de amido (Figuras 5.c e 5.d) e com adição de amido (Figuras 5.e e 5.f), apresentaram estrutura proteica (P) mais uniforme, densa e coesa, e com um menor número de espaços vazios (V). Lobato-Calleros e colaboradores (2007) descrevem esta estrutura como uma rede proteica compacta, formada por fibras de caseína que exibem formato arredondado. Os glóbulos de gordura, aprisionados na matriz, atuam como pontos de fratura diminuindo a dureza do queijo. Com a retirada da gordura, ocorre uma maior interação entre as proteínas, gerando uma estrutura mais firme e coesa que pode explicar os valores mais altos de dureza dos queijos *light,* na análise de TPA (SIPAHIOGLU; ALVAREZ; SOLANO-LOPEZ,1999; PINHEIRO; PENNA, 2004).

Entre os queijos *light*, com e sem adição de amido, praticamente não foram observadas diferenças estruturais em suas fotomicrografias. Além disso, não foram observadas estruturas relacionadas ao amido de milho ceroso na amostra QA (Figuras 5.e e 5.f). Este resultado pode estar relacionado com a ausência de estruturas referentes ao amido nas amostras escolhidas para análise, ou ainda, com a ausência do amido no queijo, com a possibilidade deste hidrocoloide ter se perdido no soro, pela falta de interação com as proteínas do queijo, o que explicaria a sua ação ineficiente na melhora do rendimento e da textura. Entretanto, Sipahioglu, Alvarez e Solano-Lopez (1999) também não observaram estruturas referentes ao amido de mandioca adicionado ao queijo Feta com teor reduzido de gordura, e indicaram que o amido foi, provavelmente, incorporado à matriz proteica. Outros

pesquisadores também relataram a integração do amido à matriz proteica, uma vez que constataram que qualquer material não particulado, interligado às cadeias de proteínas, se tornaria indistinguível, por apresentar estrutura semelhante à rede proteica (ALVAREZ; SMITH; FLEGLER, 1991). Ye, Hewitt (2009) estudaram o efeito de diferentes concentrações de amido de batata em queijo processado e também não observaram a presença de grânulos de amido, por análise de microscopia, o que estaria relacionado à gelatinização do amido. Durante a gelatinização, o inchamento dos grânulos e a concomitante solubilização da amilose e da amilopectina induzem a perda da integridade granular do amido, com a formação de uma pasta viscosa (FRANCO et al., 2001).

No queijo QA, como o amido encontra-se em baixa concentração (0,5%), é possível que o amido fique confinado a uma fase dispersa, na matriz contínua de caseína, comportando-se como um material de enchimento, retendo moléculas de água e aumentando a umidade do produto (YE; HEWITT; TAYLOR, 2009).

Também foram detectadas, em algumas imagens, inclusões cristalinas (Cr) que podem estar relacionadas com a formação de cristais de cálcio. Barros (2009) e Barros e colaboradores (2011) também observaram a presença de inclusões cristalinas em queijo Parmesão, tanto através de análise por microscopia eletrônica de varredura (SEM), como por microscopia eletrônica de transmissão (TEM), atribuindo a presença destas inclusões à cristais de cálcio, uma vez que em queijos duros, como o Parmesão, é possível a ocorrência da formação de cristais de tirosinato de cálcio, que refletem o grau de maturação do queijo. Entretanto, como o queijo Minas frescal não é um queijo maturado, estas inclusões cristalinas também podem estar relacionadas com a presença de cristais de NaCl que não se dissociaram.

5.9 Caracterização do perfil eletroforético em gel de poliacrilamida (UREA – PAGE)

O perfil eletroforético em gel de poliacrilamida UREA-PAGE (Figura 6) representa a proteólise dos queijos Minas frescal: Integral, *Light* e *Light* com adição de amido, com a degradação da caseína (CN) nas frações γ, β, α_{S1}, α_{S1}-I e frações da α_{S2} – CN.

Em todos os tratamentos foram identificados dois principais grupos de bandas eletroforéticas, um com maior mobilidade, referente à α_{S1}-CN e outro com menor mobilidade, referente à β-CN (Figura 6) (SILVA; MALCATA, 2005).

Em geral, não houve diferenças no perfil eletroforético da caseína em relação ao tratamento do queijo (Integral, *Light* e *Light* com adição de amido). Apenas para o queijo integral, no 10º e no 17º dias de fabricação é que, possivelmente, houve uma maior degradação da α_{S1}-caseína, indicada pelo aparecimento de bandas mais claras que as das outras amostras, referentes a esta fração no eletroforetograma (Figura 6). Mistry e Kasperson (1998) citam que em queijos com baixos teores de gordura, normalmente, ocorre uma quebra inadequada da caseína, e por esta razão, o queijo apresenta uma textura relativamente mais firme, em consequência da menor proteólise.

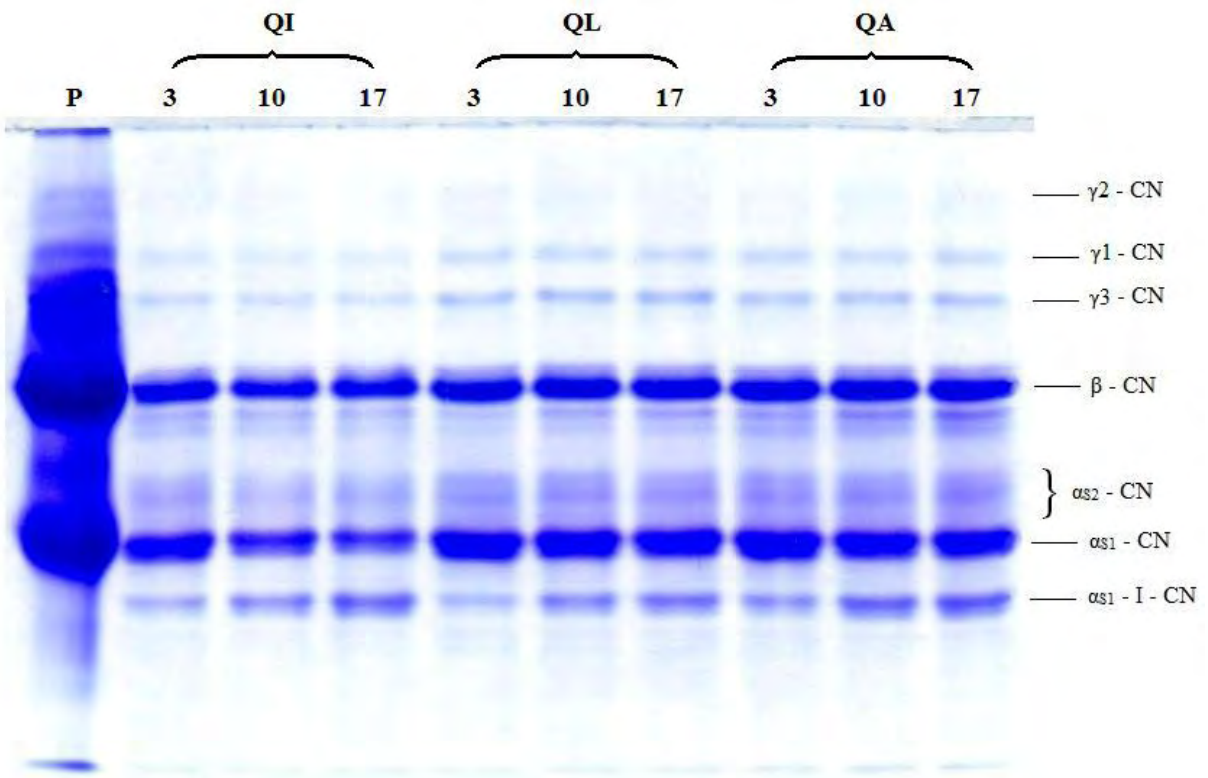

Figura 6 - Perfil eletroforético em gel de poliacrilamida (UREA-PAGE) dos queijos Minas frescal integral (QI), *light* (QL) *e light* com adição de amido (QA) com 3, 10 e 17 dias de fabricação. (P) Padrão de caseinato de sódio.

Essa maior degradação da α_{S1}-caseína, não foi observada para o queijo integral no 3º dia de fabricação e este resultado encontra-se de acordo com o obtido

para o índice de extensão da proteólise onde, o queijo integral foi considerado estatisticamente igual ($p \geq 0,05$) às outras amostras.

Entretanto, para todas as amostras avaliadas, ao longo do tempo de armazenamento, houve o surgimento da fração α_{S1}-I-caseína, em consequência da degradação da α_{S1}-caseína, que é representada pela banda mais clara no 3º dia de fabricação, que vai se tornando mais espessa e escura após os 10º e 17º dias de fabricação (Figura 6). Isto ocorre porque a quimosina residual encontrada nos queijos, cliva a α_{S1}-CN, na ligação entre os aminoácidos Phe23 e Phe24, nos estágios iniciais de maturação, dando origem à α_{S1}-I-CN (FOX; McSWEENEY, 1998). A fração α_{S1}-I-caseína é um polipeptídeo de alto peso molecular, mais resistente à hidrólise posterior, e que, portanto, aparece em grandes quantidades na maioria dos queijos, apresentando caráter mais ácido e maior mobilidade eletroforética que a α_{S1}-caseína (SILVA, 1998).

Silva (2011) também observou maior intensidade na hidrólise da α_{S1}-CN no período final de armazenamento (14º e 21º dias) para todos os tratamentos estudados (queijo Minas frescal Integral, *Light* e *Light* com adição de colágeno).

Além disso, a degradação da α_{S1}-CN foi mais extensa que a degradação da β-CN que culminou com a formação de bandas correspondentes às frações γ1-CN e γ3-CN e a formação, em menor quantidade, da banda correspondente à fração γ2-CN, devido à sua menor intensidade (Figura 6). Na maioria das variedades de queijos, a fração β-CN é mais resistente à degradação, que a α_{S1}-CN e ocorre devido à clivagem dos resíduos C-terminais da β-CN, principalmente por ação da enzima plasmina, naturalmente presente no leite (FOX; McSWEENEY, 1998; IRIGOYEN et al., 2002).

Esta maior hidrólise da α_{S1}-CN em relação à β-CN, também foi observada em estudos realizados com queijo Prato por Garcia (2010), Diamantino (2011) e Merheb-Dini (2012) e com queijo Minas frescal por Silva (2011).

5.10 Caracterização microbiológica

As análises microbiológicas de contagem de coliformes termotolerantes, contagem de estafilococos coagulase positiva, presença de *Lysteria monocytogenes e* presença de *Salmonella* sp foram realizadas nos queijos, com 2 dias de

fabricação, para a realização da análise sensorial. As análises foram efetuadas pelo Laboratório de Análises Microbiológicas do Instituto Aldolfo Lutz e os resultados estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 – Caracterização microbiológica dos queijos dos tratamentos QI, QL e QA.

Análises	**QI**	**QL**	**QA**
Coliformes a 45 ºC (NMP/g)	0,36	0,36	0,36
Estafilococos coagulase positiva (UFC/g)	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$
Listeria monocytogenes	Ausência	Ausência	Ausência
Salmonella sp.	Ausência	Ausência	Ausência

QI - Queijo integral; QL - Queijo *light* e QA - Queijo *light* com adição de amido.

De acordo com a Resolução RDC, nº12, de 02/01/2001, da ANVISA (BRASIL, 2001), a população máxima de coliformes termotolerantes permitida em queijos é de 5×10^2 NMP/g. Para a contagem de estafilococus coagulase positiva, é estabelecido um número máximo de: 5×10^2 UFC/g. Enquanto que, para *Listeria monocytogenes e Salmonella* sp., é estabelecida a ausência destes micro-organismos em 25 g de amostra. Portanto, os queijos dos três tratamentos avaliados encontram-se aptos ao consumo (Tabela 6), uma vez que atenderam a todos os padrões microbiológicos exigidos pela legislação brasileira.

5.11 Avaliação sensorial

Para os queijos dos três tratamentos, não houve diferenças significativas, ao nível de 5% ($p \geq 0,05$), para os atributos sensoriais: aparência, aroma, sabor e avaliação global, enquanto que, para o parâmetro textura, QA foi considerado, ao mesmo tempo, estatisticamente igual a QI e QL (Tabela 7).

Esperava-se que o queijo integral, obtivesse as maiores notas, para todos os atributos, uma vez que a gordura exerce um papel fundamental no aumento da palatabilidade, textura e lubrificação dos alimentos, influenciando, desta maneira, em sua cremosidade, aparência, aroma, odor, maciez e suculência (O'CONNOR; O'BRIEN, 2011). Este é um resultado positivo, uma vez que a retirada da gordura e a adição de amido não resultaram em menor aceitabilidade. Por outro lado, pode

estar relacionado com as reações bioquímicas naturais que ocorreram durante o tempo de armazenamento refrigerado das amostras, previamente à análise sensorial, que foi de 10 dias.

Tabela 7 – Médias dos valores para os atributos: aparência, aroma, textura, sabor e avaliação global dos queijos dos tratamentos QI, QL e QA.

Atributos	**QI**	**QL**	**QA**
Aparência	$8,14^{a} \pm 0,98$	$8,34^{a} \pm 0,86$	$8,12^{a} \pm 0,97$
Aroma	$7,56^{a} \pm 1,13$	$7,22^{a} \pm 1,33$	$7,30^{a} \pm 1,20$
Textura	$6,68^{b} \pm 1,73$	$7,52^{a} \pm 1,28$	$7,12^{a,b} \pm 1,51$
Sabor	$7,16^{a} \pm 1,41$	$7,18^{a} \pm 1,34$	$7,06^{a} \pm 1,49$
Avaliação global	$7,20^{a} \pm 1,13$	$7,54^{a} \pm 1,06$	$7,20^{a} \pm 1,26$

[a, b, c] Letras iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si ($p \geq 0,05$). QI - Queijo integral; QL - Queijo *light*; QA - Queijo *light* com adição de amido.

Este tempo, entre a produção dos queijos e a análise sensorial, foi necessário para que fossem realizadas as análises microbiológicas determinadas para queijo Minas frescal, pelos Padrões Microbiológicos para Alimentos, da ANVISA (BRASIL, 2001), com a finalidade de garantir a sanidade das amostras. Além disso, essas análises microbiológicas foram exigidas pelo Comitê de Ética em Pesquisa como pré-requisito à realização da análise sensorial.

Para o atributo aparência, é possível que o queijo integral não tenha alcançado notas maiores que os queijos *light,* por apresentar-se visualmente mais mole e translúcido que os demais, possivelmente devido à proteólise e à maior taxa de lipólise durante o armazenamento, sendo esta mais intensa no queijo integral devido ao seu maior teor de gordura.

Enquanto isso, para o atributo aroma, não foram observadas diferenças significativas entre os queijos dos três tratamentos ($p \geq 0,05$), indicando que a retirada da gordura e a adição de amido não influenciaram de maneira significativa a aceitabilidade do aroma dos queijos, durante os 17 dias de estocagem.

Em relação à textura, assim como para a aparência, as notas mais baixas atribuídas ao queijo integral podem estar relacionadas com ação da proteólise que tornou-o excessivamente mais mole. Por este motivo, muitos provadores alegaram que e textura desta amostra assemelhava-se mais com a de um queijo mole, como o

queijo fundido. Em contrapartida, os queijos *light* que normalmente receberiam notas menores, por possuírem textura mais dura e seca, receberam notas mais altas, possivelmente, pela redução da dureza ocasionada pela proteólise. Além disso, não houve diferença significativa ao nível de 5% ($p \geq 0,05$) entre QL e QA, o que indica que a adição de 0,5% de amido não foi suficiente para aumentar a aceitabilidade da textura do queijo *light*.

Quanto ao sabor, o queijo integral não apresentou as notas mais altas, contrariando a atribuição característica da gordura de melhora na cremosidade e palatabilidade dos alimentos, provavelmente pelo fato deste queijo possuir maior susceptibilidade à lipólise durante o armazenamento, o que ocasionou o desenvolvimento de um leve sabor de ranço, percebido por alguns provadores e caracterizado como: “sabor residual mais forte”, “mais azedo” ou “mais amargo” que os demais. Além disso, a adição de amido não influenciou a aceitabilidade do sabor do queijo *light*, uma vez que foi considerado estatisticamente igual ($p \geq 0,05$) aos demais.

Finalmente, em relação a avaliação global, mais uma vez não houve diferença significativa entre QI, QL e QA ($p \geq 0,05$), podendo, este resultado, estar diretamente relacionado com os resultados anteriores, principalmente os de sabor e de textura que, conforme os comentários dos provadores, apresentaram maior peso na avaliação do produto como um todo.

Desta forma, um estudo com concentrações maiores de amido se mostra promissor no aumento da aceitabilidade, principalmente, da textura e da aparência de queijos *light*, uma vez que, não houve diferenças significativas ($p \geq 0,05$) com relação ao sabor, mostrando que o amido não afetou negativamente esta característica.

Resultados semelhantes foram encontrados por Silva (2011) em queijo Minas frescal submetido a três tratamentos (Integral, *Light* e *Light* com adição de colágeno). Embora o queijo integral, tenha apresentado boas notas, estas, em sua maioria, foram menores que as notas dos queijos *light* com e sem adição de colágeno, atribuindo estes resultados não só à textura mais macia, como também à maior acidez deste queijo, quando comparado aos demais. Este resultado contrasta com os resultados deste trabalho, uma vez que não houve diferença significativa na acidez dos queijos, que pudesse influenciar suas características sensoriais.

6 CONCLUSÃO

Foi produzido queijo Minas frescal, de acordo com os tratamentos: integral, *light* e *light* com adição de amido de milho ceroso.

De maneira geral, a redução da gordura proporcionou ao queijo Minas frescal, aumento dos teores de umidade, proteína e cinzas, redução do rendimento e aumento da dureza. Além disso, proporcionou uma microestrutura mais densa e com menor número de glóbulos de gordura, promoveu proteólise menos intensa durante o armazenamento e influenciou significativamente na aceitabilidade da textura.

Enquanto que, a adição de 0,5% de amido de milho ceroso desempenhou o papel de aumentar a umidade e a capacidade de retenção de água do queijo Minas frescal *light*. Porém, esse aumento não foi suficiente para melhorar o rendimento, os parâmetros de textura e as características sensoriais dos queijos, assim como também não houve influência da adição de amido na microestrutura e na proteólise do queijo Minas frescal com teor reduzido de gordura.

.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVAREZ, V. B.; SMITH, D. M.; FLEGLER, S. Effect of extruder die temperature on texture and microstructure of restructured mechanically deboned chicken and corn starch. **Food Structure**, Chicago, v. 10, n. 2, p. 153-160, 1991.

AGUILERA, J.M.; ROJAS, E. Rheological, thermal and microstructural properties of whey protein–cassava starch gels. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 61, n. 5, p. 962–966, 1996.

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.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA. **Compendium of methods for the examination of foods**. 3. ed. Washington: Edwards Brothers, Ann Arbor, 1992. 1219p.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Dairy products. In: **Official Methods of Analysis**. 16. ed. Arlington, 1997.

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.

BARROS, J. J. C. **Estudo *in situ* de culturas autóctones de *Lactobacillus helveticus* autolíticos sobre a dinâmica bioquímica e sensorial do queijo Parmesão.** 2009. 122 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2009.

BARROS, J. J. C.; AZEVEDO, A. C.; FALEIROS JÚNIOR, L. R.; TABOGA, S. R. PENNA, A. L. B. Queijo Parmesão: caracterização físico-química, microbiológica e microestrutura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, n. 2, p. 285-294, 2011.

BEHMER, M. L. A. **Tecnologia do leite**. 15. ed. São Paulo: Nobel, 1991, 320 p.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Química do Processamento de Alimentos**. São Paulo: Varela Editora, 1992.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de Janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Poder Executivo, Brasília, DF, 02 de Jan. 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, 29 de dezembro de 2011. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite de Tipo A. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Poder Executivo, Brasília, DF, 29 de Dez. 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. 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.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite Pasteurizado. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Poder Executivo, Brasília, DF, 18 set. 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n. 146, de 07 de Março de 1996. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Poder Executivo, Brasília, DF, 07 mar. 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 68 de 12 de Dezembro de 2006. Métodos Analíticos Oficiais Físico-químicos para Controle de Leite e Produtos Lácteos. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Poder Executivo, Brasília, DF, 12 Dez. 2006.

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.

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.

CAMPOS, A. C. **Efeito do uso combinado de ácido lático com diferentes proporções de fermento ácido mesofílico no rendimento, proteólise, qualidade microbiológica e propriedades mecânicas do queijo Minas frescal.** 2000. 86 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

CARVALHO, J. D. G; VIOTTO, W. H.; KUAYE, A. Y. The quality of Minas Frescal cheese produced by different technological processes. **Food Control,** Vurrey, v. 18, n. 3, p. 262–267, 2007.

CHUNG, H. J.; LEE, S. E.; HAN, J. A.; LIM, S. T. Physical properties of dry-heated octenyl succinylated waxy corn starches and its application in fat-reduced muffin. **Journal of Cereal Science**, New York, v. 52, n. 3, p. 496-501, 2010.

CONSIDINE, T.; NOISUWAN, A.; HEMAR, Y.; WILKINSON, B.; BRONLUND, J.; KASAPIS, S. Rheological investigations of the interactions between starch and milk proteins in model dairy systems: A review. **Food Hydrocolloids,** Oxford, v. 25, n. 8, p. 2008-2017, 2011.

CUNHA, C. R.; VIOTTO, W. H.; VIOTTO, L. A. Use of low concentration factor ultrafiltration retentates in reduced fat ‘‘Minas Frescal’’ cheese manufacture: Effect on composition, proteolysis, viscoelastic properties and sensory acceptance. **International Dairy Journal**, Barking, v. 16, n. 3, p. 215-224, 2006.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. **Química de Alimentos de Fennema.** Porto Alegre: Ed. Artmed, 2010. 900p.

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

DEJMEK, P.; WALSTRA P. The syneresis of rennet-coagulated curd In: FOX, P. F. et al. (Ed.) **Cheese: Chemistry, physics & microbiology-general aspects.** 3 ed. London: Academic Press, 2004. vol. 1, p. 71-99.

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.

DIAMANTINO, I. M.; PENNA, A. L. B. Efeito da utilização de substitutos de gordura em queijos *light.* **Revista Instituto Adolfo Lutz,** São Paulo, v. 70, n. 3, 258-267, 2011.

DORNELLAS, J. R. F. **Efeito do tipo de coagulante e acidificante no rendimento, proteólise e "shelf life" do queijo minas frescal.** 1997. 96 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997.

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

FAGAN, C. C. EVERARD, C.; O'DONNELL, C. P.; DOWNEY, G.; SHEEHAN, E. M.; DELAHUNTY, C. M. ; O'CALLAGHAN, D. J.; HOWARD, V. Prediction of processed cheese instrumental texture and meltability by mid-infrared spectroscopy coupled with chemometric tools. **Journal of Food Engineering,** London, v. 80, n. 4, p. 1068-1077, 2007.

FARIA, E. V.; YOTSUYANAGI, K. **Técnicas de Análise Sensorial**. 2. ed. - Campinas: ITAL, 2008.

FARRELL, H. M.; JIMENEZ-FLORES, R.; BLECK, G. T.; BROWN, E. M.; BUTLER, J. E.; CREAMER, L. K.; HICKS, C. L.; HOLLAR, C. M.; NG-KWAI-HANG, N. F.; SWAISGOOD, H. E. Nomenclature of the proteins of cow's milk - Sixth revision. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 87, n. 6, p. 1641–1674, 2004;

FITZMONS, S. M.; MULVIHILL, D. M.; MORRIS, E. R. Co-gels of whey protein isolate with crosslinked waxy maize starch: analysis of solvent partition and phase structure by polymer blending laws. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 22, n. 3, p. 468-484, 2008.

FOX P. F; LAW J. Enzymology of cheese ripening. **Food Biotechnology**, Philadelphia, v. 5, n. 3, p. 239-262, 1991.

FOX, P. F.; COGAN, T. M. Factors that affect the quality of cheese. In: FOX, P. F. et al. (Ed.) **Cheese: Chemistry, Physics & Microbiology - General Aspects.** 3 ed. London: Academic Press, 2004. vol. 1, p. 583-608;

FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H. Milk Proteins. **Dairy Chemistry and Biochemistry**. London: Blackie Academic & Professional, 1998. p. 146-238.

FRANCO, C. M. L.; DAIUTO, E. R.; DEMIATE, I. M.; CARVALHO, L.; J. C. B.; LEONEL, M.; CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. F.; SARMENTO, S. B. S**.;** FRANCO, C. M. L. et al. **Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas: Propriedades gerais do amido.** v. 1., Campinas: Fundação Cargill, 2001. 224 p.

FURTADO, M. M.; LOURENÇO NETO, J. P. M. **Tecnologia de Queijos - Manual Técnico para Produção Industrial de Queijos.** 1. ed., São Paulo: Editora Dipemar Ltda, 1994. 118 p.

GARCIA, G. A. C. **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.

GOEL, P. K.; SINGHAL, R. S.; KULKARNI, P. R. Studies on interactions of corn starch with casein and casein hydrolysates. **Food Chemistry**, Barking, v. 64, n. 3, p. 383-389, 1999.

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

HARTE, F.; LUEDECKE, L.; SWANSON, B.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Low-fat set yogurt made from milk subjected to combinations of high hydrostatic pressure and thermal processing. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, n. 4, p. 1074–1082, 2003.

HEE, L. L. Y.; JACQUOT, M.; HARDY, J.; DESOBRY, S. Formulating polymeric gels simulating soft cheeses texture. **Food Hydrocolloids,** Oxford, v. 22, n. 5, p. 925-933, 2008.

HORNE, D. S.; BANKS, J. M. Rennet - induced Coagulation of Milk. In: FOX, P. F. et al. (Ed.), **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology - General Aspects.** 3 ed. London: Academic Press, 2004. vol. 1. p. 47-70.

IMPOCO, G.; TUMINELLO, L.; FUCÀ, N.; CACCAMO, M.; LICITRA, G. Segmentation of structural features in cheese micrographs using pixel statistics. **Computers and Electronics in Agriculture,** New York, v. 79, n. 2, p. 199–206, 2011.

IRIGOYEN, A.; IZCO, J. M.; IBÁÑEZ, F. C.; TORRE, P. Evaluation of the effect of rennet type on casein proteolysis in an ovine milk cheese by means of capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**. New York, v. 881, n. 1-2, p. 59–67, 2000.

JOHNSON, M. E. Cheese - Low-Fat Cheese, In: HOGINSKI, H. (Ed.), **Encyclopedia of Dairy Sciences.** Oxford: Elsevier, 2002. p. 438-444.

KAVAS, G.; OYSUN, G.; KINIK, O.; UYSAL, H. Effect of some fat replacers on chemical, physical and sensory attributes of low-fat white pickled cheese. **Food Chemistry,** Barking, v. 88, n. 3, p. 381-388, 2004.

KIKUCHI, M. **Efeito do tratamento térmico do leite e retentado na qualidade de queijo minas frescal *light* fabricado por ultrafiltração.** 2008. 95 f. Dissertação. (Mestrado em Tecnologia em Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2008.

KOCA, N.; METIN, M. Textural, melting and sensory properties of low-fat fresh Kashar cheeses produced by using fat replacers. **International Dairy Journal,** Barking, v. 14, n. 4, p. 365–373, 2004.

LAWRENCE, R. C.; CREAMER, L. K.; GILLES, J. Texture development during cheese ripening. **Journal of Dairy Science**, Champaign, 70, n. 8, p. 1748-1760, 1987.

LIMA, J. R.; NASSU R. T. Substitutos de gorduras em alimentos: Características e Aplicações. **Química Nova**, São Paulo, v.19, n. 2, p.127-134, 1996.

LOBATO-CALLEROS, C.; REYES-HERNÁNDEZ, J.; BERISTAIN, C.I; HORNELAS-URIBE, Y.; SÁNCHEZ-GARCÍA, J.E.; VERNON-CARTER, E.J. Microstructure and texture of white fresh cheese made with canola oil and whey protein concentrate in partial or total replacement of milk fat. **Food Research International**, Barking, v. 40, n. 4, p. 529-537, 2007.

LUCCA, P. A.; TEPPER, B. J. Fat replacers and the functionality of fat foods. **Trends in Fond Science & Technology,** Cambridge, v. 5, n. 1, p. 12-19, 1994.
LUCEY, J. A. Cheese - Rennet-Induced Coagulation of Milk, In: FUQUAY, J. W. (Ed.), **Encyclopedia of Dairy Sciences.** 2. ed., San Diego: Academic Press, 2011. p. 579-584.

LYU, H.; XU, X. M.; GUO, S. D. Comparison of full-fat and low-fat cheese analogues with or without pectin gel through microstructure, texture, rheology, thermal and sensory analysis. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 43, n. 9, p. 1581–1592, 2008.

MADI-RAVAZZI, L. **Microscopia eletrônica de varredura com ênfase à análise de amostras biológicas**. Apostila. São José do Rio Preto, 2007, 33 p.

McSWEENEY, P. L. H.; FOX, P. R. Metabolism of Residual Lactose and of Lactate and Citrate. In: FOX, P. F. et al. (Ed.) **Cheese: Chemistry, physics & microbiology-general aspects.** 3. ed. London: Academic Press, 2004. vol. 1. p. 361-371.

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.; GARCIA, G. A. C.; PENNA, A. L. B.; GOMES, E.; SILVA, R. Use of a new milk-clotting protease from *Thermomucor indicae-seudaticae* N31 as coagulant and changes during ripening of Prato cheese. **Food Chemistry**, Barking, v. 130, n. 4, p. 859-865, 2012.

MERRILL, R. K.; OBERG, C. J.; MCMANUS, W. R.; KALÁB, M.; MCMAHON, D. J. Microstructure and physical properties of a reduced fat Mozzarella cheese made using *Lactobacillus casei* ssp. casei adjunct culture. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, New York, v. 29, n. 8, p. 721-728, 1996.

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

MISTRY, V. V.; KASPERSON, K. M. Influence of salt on quality of reduced fat. Cheddar cheese. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 5, p. 1214–122, 1998.

NARIMATSU, A.; DORNELLAS, J. R. F.; SPADOTI, L. M.; PIZAIA, P. D.; ROIG, S. M. Avaliação da proteólise e do derretimento do queijo prato obtido por ultrafiltração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos,** Campinas, v. 23, p. 177-182, 2003.

NOISUWAN, A.; BROLAND, J.; WILKINSON, B.; HEMAR, Y. Effect of milk protein products on the rheological and thermal (DSC) properties of normal rice starch and waxy rice starch. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 22, n. 1, p. 174-183, 2008.

NORONHA, N.; DUGGAN, E.; ZIEGLER, G. R.; O'RIORDAN, E. D.; O'SULLIVAN, M. Inclusion of starch in imitation cheese: Its influence on water mobility and cheese functionality. **Food Hydrocolloids,** Oxford**,** v. 22, n. 8, p. 1612–1621, 2008.

O'CONNOR, T. P.; O'BRIEN, N. M. Butter and Other Milk Fat Products - Fat Replacers, In: FUQUAY, J. W. (Ed.), **Encyclopedia of Dairy Sciences.** 2. ed. San Diego: Academic Press, 2011. p. 528-532.

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

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

PIAZZON-GOMES, J.; PRUDENCIO, S. H.; SILVA, R. S. S. F. Queijo tipo minas frescal com derivados de soja: características físicas, químicas e sensoriais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos,** Campinas, v. 30, n. 1, p. 77-85, 2010.

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 em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2006.

QUEIROGA, R. C. R. E.; SANTOS, B. M.; GOMES, A. M. P.; MONTEIRO, M. J.; TEIXEIRA, S. M.; SOUZA, E. L.; PEREIRA, C. J. D.; PINTADO, M. M. E. Nutritional, textural and sensory properties of Coalho cheese made of goat's, cow's milk and their mixture. **LWT - Food Science and Technology,** London, v. 50, n. 2, p. 538-544, 2013.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de Alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher, 2004. 184 p.

ROBINSON, R. K.; WILBEY, R. A. **Fabricación de queso.** 2. ed. Zaragoza: Editorial Acribia, S.A., 2002. 488 p.

ROCHA, T. S. **Estudo das características estruturais de amido: efeito do "annealing", da hidrólise ácida e da hidrólise enzimática.** 2010. 181 p. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos). Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2010.

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.

ROMEIH, E. A.; MICHAELIDOU, A.; BILIADERIS, C. G.; ZERFIRIDI, G. K. Low-fat white-brined cheese made from bovine milk and two commercial fat mimetics: chemical, physical and sensory attributes. **International Dairy Journal**, Barking, v. 12, n. 6, p. 525-540, 2002.

ROMEIH, E. A.; MOE, K. M.; SKEIE, S. The influence of fat globule membrane material on the microstructure of low-fat Cheddar cheese. **International Dairy Journal,** Barking, v. 26, n. 1, p.62-72, 2012.

ROSENTHAL, A. J., Low-fat foods - Types and Manufacture, In: CABALLERO, B. (Ed.), **Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition.** 2. ed. Oxford: Academic Press, 2003, p. 3612-3617.

SAHAN, N.; YASAR, K.; HAYALOGLU, A. A.; KARACA, O. B.; KAYA, A. Influence of fat replacers on chemical composition, proteolysis, texture profiles, meltability and sensory properties of low-fat Kashar. **Journal of Dairy Research,** London, v. 75, n. 1, p. 1–7, 2008.

SANGALETTI, N.; PORTO, E.; BRAZACA, S. G. C.; YAGASAKI, C. A.; DALLA DEA, R. C.; SILVA, M. V. Estudo da vida útil de queijo Minas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos,** Campinas, v. 29, n. 2, p. 262-269, 2009.

SEBRAE; ESPM. **Queijos Nacionais**. Estudos de mercado SEBRAE, ESPM 2008. Relatório completo, 10 Ago. 2008, Disponível em: <http://www.sebrae.com.br/ customizado/acesso-a-mercados/sebrae-mercado/estudos-de-mercado/>, Acesso em: 03 Ago. 2012.

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, G. O.; TAKIZAWA, F. F.; PEDROSO, R. A.; FRANCO, C. M. L.; LEONEL, M.; SARMENTO, S. B. S.; DEMIATE, I. M. Características físico-químicas de amidos modificados de grau alimentício comercializados no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos,** Campinas, v. 26, n. 1, p. 188-197, 2006.

SILVA, S, V.; MALCATA, F. X. **I**nfluence of the coagulant level on early proteolysis in ovine cheese-like systems made with sterilized milk and *Cynara cardunculus.* **Journal of Food Science**, Chicago, v. 69, n. 7, p. 579-584, 2004.

SILVA, T. F. **Efeito de colágeno hidrolisado sobre a qualidade tecnológica de queijo Minas frescal *light.*** 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.

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

SINGH, N.; INOUCHI, N.; NISHINARI, K. Structural, thermal and viscoelastic characteristics of starches separated from normal, sugary and waxy maize. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 20, n. 6, p. 923–935, 2006.

SIPAHIOGLU, O.; ALVAREZ, V. B.; SOLANO-LOPEZ, C. Structure, physico-chemical and sensory properties of feta cheese made with tapioca starch and lecithin as fat mimetics. **International Dairy Journal**, Barking, v. 9, n. 11, p. 783-789, 1999.

SYRBE, A.; BAUER, W. J.; KLOSTERMEYER, H. Polymer science concepts in dairy systems - An overview of milk protein and food hydrocolloid interaction. **International Dairy Journal**, Barking, v. 8, n. 3, p. 179-193, 1998.

TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R. K. **Yoghurt: science and technology**. 2. ed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 1999. 619 p.

TRONCO, V. M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. 1. ed. Santa Maria: Ed. UFSM, 1997. 166 p.

UPADHYAY, V. K.; McSWEENEY, P. L. H.; MAGBOUL, A. A. A.; FOX, P. F. Proteolysis in cheese during ripening. In: FOX, P. F. et al. **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology.** 3 ed. v. 1. London: Elsevier Academic Press, 2004.

VEIGA, P. G.; CUNHA, R. L.; VIOTTO, W. H.; PETENATE, A. J. Caracterização química, reológica e aceitação sensorial do queijo *petit suisse* brasileiro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 3, p. 349-357, 2000.

VU DANG, H.; LOISEL, C.; DESRUMAUX, A.; DOUBLIER, J. L. Rheology and microstructure of cross-linked waxy maize starch/whey protein suspensions. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 23, n. 7, p. 1678-1686, 2009.

WALSTRA P.; WOUTERS, J. T. M.; GEURTS, T. G. **Dairy Science and Tecchnology**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2006. 782 p.

WANG, B., LI; D.; WANG, L. J.; OZKAN, N. Anti-thixotropic properties of waxy maize starch dispersions with different pasting conditions. **Carbohydrate Polymers**, Oxford, v. 79, n. 4, p. 1130–1139, 2010.

WANG, B.; WANG, L. J.; LI; D.; ZHOU; Y. G.; OZKAN, N. Shear-thickening properties of waxy maize starch dispersions. **Journal of Food Engineering**, London, v. 107, n. 3-4, p. 415–423, 2011.

WEBER, F. H.; COLLARES-QUEIROZ, F. P.; CHANG, Y. K. Caracterização físico-química, reológica, morfológica e térmica dos amidos de milho normal, ceroso e com alto teor de amilose. **Ciência e Tecnologia de Alimentos,** Campinas, v. 29, n. 4, p. 748-753, 2009.

WOLFSCHOON-POMBO, A. F. Índices de proteólise em alguns queijos brasileiros. **Boletim do Leite**, São Paulo, v. 56, n. 61, p. 1-8, 1983.

YE, A.; HEWITT, S. Phase structures impact the rheological properties of rennet-casein-based imitation cheese containing starch. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 23, n. 3, p. 867–873, 2009.

YE, A.; HEWITT, S.; TAYLOR, S. Characteristics of rennet–casein-based model processed cheese containing maize starch: Rheological properties, meltabilities and microstructures. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 23, n, 4, p. 1220–1227, 2009.

ZALAZAR, C. A.; ZALAZAR, C. S.; BERNAL, S.; BERTOLA, N. BEVILACQUA, A.; ZARITSKY, N. Effect of moisture level and fat replacer on physicochemical, rheological and sensory properties of low fat soft cheeses. **International Dairy Journal,** Barking, v. 12*,* n. 1, p. 45-50*,* 2002*.*

ZALESKA, H.; RING, S.; TOMASIK, P. Electrosynthesis of potato starch-casein complexes. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 36, n. 5, p. 509-515, 2001.

ZISU B., SHAH, N. P. Textural and functional changes in low-fat Mozzarella cheeses in relation to proteolysis and microstructure as influenced by the use of fat replacers, pre-acidification and EPS starter. **International Dairy Journal,** Barking, v. 15, n. 6-9, p. 957–972, 2005.

ANEXOS

Anexo A - Estudo do efeito da adição de diferentes amidos modificados em queijo Minas frescal *light*, apresentado no 16th World Congress of Food Science and Technology – IUFoST

EFFECT OF MODIFIED STARCH IN REDUCED-FAT MINAS FRESH CHEESE

Vivian Ribeiro Diamantino (1); Ana Lúcia Barretto Penna (1)

(1) UNESP - São Paulo State University - Department of Food Engineering and Technology. R. Cristóvão Colombo, 2265; CEP: 15054-000, São José do Rio Preto, São Paulo, Brazil.
analucia@ibilce.unesp.br

INTRODUCTION

Minas fresh cheese is a typical Brazilian cheese, that is largely consumed over the country. It is a fresh, soft and white cheese, slightly salty and with a mild acid taste. Due to the concern to health, the cheeses consumers have been seeking for products with low fat contents, however, low fat cheeses generally show sensorial defects, such as poor flavor and rubbery texture. The addition of fat replacers is one of the alternatives to improve quality of low-fat cheeses. Fat replacers are categorized as fat substitutes or fat mimetics. Fat mimetics are polar, water-soluble compounds that may improve sensory and functional characteristics of low-fat cheeses by binding water and improving texture and yields. Among the mimetics, starch is widely used, because of its low cost and easy application. Good results were found for low-fat cheeses that used modified starch as a fat mimetic, though, there are no reports of its use in Minas fresh cheese. Thus, the aim of this research was to study the effect of different types of modified starch in syneresis and physicochemical characteristics of reduced fat Minas fresh cheese.

METHODS AND RESULTS

Four different treatments were performed: A full-fat control cheese (CC), using a 3,5% fat milk, and three reduced-fat cheeses (using a padronized milk with 1,5% of fat) with addition of modified starch from: potato (PSC), corn (CSC) and waxy maize (WSC). Cheeses were produced according to procedures shown in Figure 1.

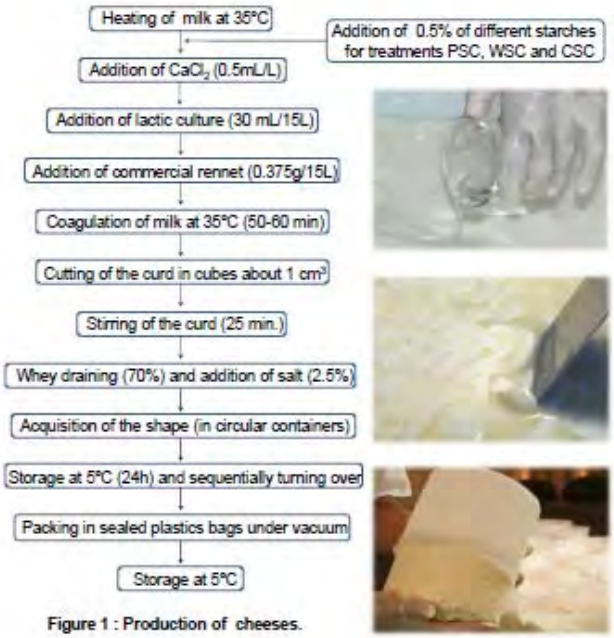

Figure 1 : Production of cheeses.

The physicochemical analysis were determined after 5 days of storage at 5ºC and carried out in triplicate. Cheeses produced were analyzed for protein (% w/w) by the Kjeldahl method (N x 6.38) (AOAC; 2005); Fat (% w/w) by Gerber - Van Gulik method (IAL, 2008) and fat in dry matter (FDM) (% w/w) by the equation: %FDM=(Fat / Total solids) x 100. Moisture content (% w/w) was determined from drying at 70ºC under vacuum for 24 hours (IAL, 2008); Ash (% w/w) by heating at 550ºC (IAL, 2008) and salt by determination in ashes method (SILVA *et al.*, 1997). Titratable acidity (% lactic acid) according to the IAL (2008) and syneresis by a centrifugation method (8ºC - 1 hour) according to Prudêncio (2006), were also evaluated. Analysis of variance (ANOVA) were performed and differences between means were detected by Tukey's test. Statistical analysis were carried out by STATISTICA 7.0 software (StatSoft, Inc., 2004, Tulsa, EUA).

Table 1 - Physicochemical and syneresis analysis after 5 days of production.

Analysis	CC[1]	PSC[1]	WSC[1]	CSC[1]
Moisture%	$61.02^{c}\pm0.77$	$69.51^{a}\pm0.08$	$67.64^{b}\pm0.31$	$69.71^{a}\pm0.44$
Acidity%	$0.22^{a}\pm0.01$	$0.15^{b}\pm0.01$	$0.14^{b}\pm0.01$	$0.12^{b}\pm0.00$
Fat%	$19.17^{a}\pm0.29$	$9.00^{c}\pm0.0$	$9.83^{b}\pm0.29$	$8.83^{c}\pm0.29$
Fat in dry matter%	$49.17^{a}\pm0.56$	$29.52^{b}\pm0.08$	$30.38^{b}\pm0.61$	$29.15^{b}\pm0.54$
Protein%	$1.75^{c}\pm0.18$	$15.09^{b}\pm0.22$	$16.56^{a}\pm0.20$	$14.68^{b}\pm0.12$
Ash%	$2.24^{d}\pm0.06$	$2.59^{c}\pm0.06$	$2.79^{b}\pm0.05$	$2.93^{a}\pm0.01$
Syneresis%	$19.20^{c}\pm0.09$	$27.62^{a}\pm0.54$	$23.31^{b}\pm1.13$	$28,24^{a}\pm0.75$

[a-d] Means values (with standard deviation) followed by a common superscript, in the same line, do not differ significantly ($p \geq 0.05$).

CC had the lowest protein content (13.75%), possibly because of its higher fat. Due to the different fat content of the milk used in process, PSC, WSC and CSC cheeses presents lower fat contents (9.00, 9.83 and 8,83%, respectively) than CC (19,17%), and, furthermore, they can be considered "reduced-fat" cheeses because all of them had, at least, 25% less fat content in dry matter when compared with the full fat cheese. All the treatments were considered statistically different ($p \leq 0.05$) for ash content and were higher for cheeses produced with starch, which may probably, contribute for the increase of ash content. Cheeses with starch addition showed acidity statistically equal ($p \geq 0,05$) among them and were less acid than CC, possibly influenced by the higher moisture of these cheeses when compared to control. This higher moisture is desired for light cheeses, however, for PSC and CSC cheeses, this percentage was excessive (69.51% and 69.71%, respectively) affecting its appearance for being more soft and exudative than ideal (27.62 and 28.24% of syneresis, respectively), while WSC (67.64% of moisture; 23.31% of syneresis) showed a similar appearance to CC that presents 61.02% of moisture and 19.20% of syneresis.

CONCLUSION

Cheeses with starch addition had higher moisture, protein and ash content and lower acidity, fat and fat in dry matter content when compared with CC. For syneresis, WSC presents more water binding capacity than PSC e CSC, being closest to the full fat cheese and presenting a good potential for use in reduced-fat Minas fresh cheese.

ACKNOWLEDGEMENTS

CAPES and FUNDUNESP: For financial support.

Anexo B – Folha de rosto para pesquisa envolvendo seres humanos, Parecer Consubstanciado do CEP e Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

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

FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

1. Projeto de Pesquisa: Efeito da adição de amido de milho ceroso em queijo Minas frescal com teor reduzido de gordura	2. Número de Sujeitos de Pesquisa: 50
3. Área Temática:	
4. Área do Conhecimento: Grande Área 1. Ciências Exatas e da Terra , Grande Área 3. Engenharias , Grande Área 5. Ciências Agrárias	

PESQUISADOR RESPONSÁVEL

5. Nome: Vivian Ribeiro Diamantino			
6. CPF: 368.948.358-10	7. Endereço (Rua, n.º): MAESTRO JOSE CASSIANO SOBRINHO JARDIM SOARES Nº 1136 BARRETOS SAO PAULO		
8. Nacionalidade: BRASILEIRA	9. Telefone: (17) 3322-9276	10. Outro Telefone:	11. Email: vivian.diamantino@hotmail.com
12. Cargo:			

Termo de Compromisso: Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Resolução CNS 196/96 e suas complementares. Comprometo-me a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e a publicar os resultados sejam eles favoráveis ou não. Aceito as responsabilidades pela condução científica do projeto acima. Tenho ciência que essa folha será anexada ao projeto devidamente assinada por todos os responsáveis e fará parte integrante da documentação do mesmo.

Data: 25 / 09 / 2012

Vivian Ribeiro Diamantino
Assinatura

INSTITUIÇÃO PROPONENTE

13. Nome: Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas/ Campus de São José do Rio Pre	14. CNPJ: 48.031.918/0011-04	15. Unidade/Órgão: DETA
16. Telefone: (17) 3221-2456	17. Outro Telefone: 3221-2266	

Termo de Compromisso (do responsável pela instituição): Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Resolução CNS 196/96 e suas Complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste projeto, autorizo sua execução.

Responsável: JOSÉ ROBERTO RUGGIERO CPF: 791.452.058-68

Cargo/Função: Diretor

Data: 25 / 09 / 2012.

Prof. Dr. José Roberto Ruggiero
Diretor
Assinatura

PATROCINADOR PRINCIPAL

Não se aplica.

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS
LETRAS E CIÊNCIAS
EXATAS/CAMPUS DE SÃO

Plataforma Brasil

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito da adição de amido de milho ceroso em queijo Minas frescal com teor reduzido de gordura

Pesquisador: Vivian Ribeiro Diamantino

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 08530412.6.0000.5466

Instituição Proponente: Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas/ Campus de São José do

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 123.384

Data da Relatoria: 10/10/2012

Apresentação do Projeto:

O projeto trata da produção de queijo minas frescal com reduzido teor de gordura com a adição de amido de milho ceroso (amido modificado geneticamente). Para efeito de comparação, três tipos de queijo serão produzidos: queijo integral, queijo com teor reduzido de gordura, e queijo com reduzido teor de gordura e 0,5% de amido de milho ceroso. Os queijos serão avaliados quanto à composição centesimal, rendimento, acidez, pH e sinérese, microestrutura, textura, perfil eletroforético da caseína e análise sensorial. O projeto está bem apresentado, contemplando introdução, objetivos, metodologia de análise e de análise dos dados e cronograma de execução.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo geral da pesquisa, que é estudar o efeito da adição de amido de milho ceroso na qualidade tecnológica de queijo Minas frescal com teor reduzido de gordura, é apresentado de forma clara, está em consenso com a revisão bibliográfica e é contemplado pela metodologia apresentada.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

A pesquisa envolve a análise sensorial dos queijos produzidos com cinquenta provadores. A pesquisadora menciona que os riscos são mínimos, uma vez que os queijos serão produzidos obedecendo os programas de Boas Práticas de Fabricação, assegurando a qualidade dos produtos, além da realização de análises microbiológicas anteriormente à análise sensorial para garantia da inocuidade dos produtos. Caso haja alguma irregularidade, os queijos serão descartados e a

Endereço: CRISTOVAO COLOMBO 1897/99999
Bairro: JARDIM NAZARETH **CEP:** 15.054-000
UF: SP **Município:** SAO JOSE DO RIO PRETO
Telefone: (17)3221-2456 **Fax:** (17)3221-2500 **E-mail:** soraiafr@ibilce.unesp.br;

análise sensorial será cancelada. Também menciona que serão excluídos da pesquisa os indivíduos que possuam algum tipo de alergia à proteína do leite e aqueles com intolerância à lactose e que não possam consumir queijos. Quanto aos benefícios, a pesquisadora menciona que a pesquisa pode resultar em contribuições para a área de laticínios, pelo potencial de melhorar a qualidade sensorial dos produtos light a serem desenvolvidos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto é relevante e importante para a área em que insere, pois propõe melhorar a qualidade nutritiva de queijos minas frescal através da redução de gordura e melhorar a qualidade sensorial destes produtos através da aplicação de amido de milho, que atua aumentando a capacidade de retenção de água nos queijos e melhorando a textura e o rendimento. A orientadora tem vasta experiência em pesquisa relacionada com a temática do projeto e possui produção científica com regularidade, publicadas em veículos especializados.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido contempla os itens obrigatórios mínimos, além de incluir os critérios de exclusão de provadores para a realização da análise sensorial e a informação sobre a conduta a ser tomada caso haja algum efeito adverso decorrente da pesquisa. No entanto, não é mencionado como e em que momento será obtido o TCLE, nem quem ficará responsável em obtê-lo. Portanto, solicita-se que essas informações sejam apresentadas no relatório.

Recomendações:

Nenhuma.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências ou inadequações.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Os relatórios são obrigatórios e semestrais a partir da data da aprovação do projeto.

São José do Rio Preto, 16/10/12

Ana E Silva

Prof.ª Dr.ª Ana Elizabete Silva
Coordenadora Comitê de Ética em Pesquisa
IBILCE/UNESP

Endereço: CRISTOVAO COLOMBO 1897/99999
Bairro: JARDIM NAZARETH **CEP:** 15.054-000
UF: SP **Município:** SAO JOSE DO RIO PRETO
Telefone: (17)3221-2456 **Fax:** (17)3221-2500 **E-mail:** soraiafr@ibilce.unesp.br;

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus 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 da adição de amido de milho ceroso em queijo Minas frescal com teor reduzido de gordura" sob responsabilidade da pesquisadora Vivian Ribeiro Diamantino. O estudo será realizado com amostras de queijo Minas frescal para avaliação de suas características sensoriais (aparência, aroma, textura, sabor e avaliação global). Os riscos à saúde são mínimos uma vez que, os queijos serão produzidos de acordo com os programas de Boas Práticas de Fabricação e, além disso, serão previamente submetidos à análises microbiológicas garantindo a sanidade das amostras. Também serão excluídos da pesquisa os indivíduos que possuam algum tipo de alergia à proteína do leite e os indivíduos com intolerância à lactose e que não possam consumir queijos. 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 só serão utilizados para divulgação em reuniões e revistas científicas, sem a sua identificação. 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. No caso de eventual problema de saúde (efeito adverso) decorrente de sua participação nos testes sensoriais, você será encaminhado à Seção Técnica de Saúde, situada à Rua Cristóvão Colombo, 2265 – Jardim Nazareth – São José do Rio Preto/SP – Telefones (17) 3221.2415 – 3221.2416 – 3221.2485. Este estudo é importante porque seus resultados fornecerão informações para o estudo e desenvolvimento de alternativas para a melhoria das características sensoriais de queijos com reduzidos teores de gordura.

Diante das explicações, se você não possui alergia à proteína do leite e/ou intolerância à lactose e concorda em participar deste projeto, assine a seguir e forneça os dados solicitados.

Nome:_____R.G._____

Endereço:_____Fone:_____

_____,_____de_____de 20

_____ _____

Usuário ou responsável legal Pesquisador responsável

Nome Pesquisador(a): Vivian Ribeiro Diamantino	Cargo/Função: Mestranda
Instituição: IBILCE - UNESP – campus de São José do Rio Preto	
Endereço: Rua Cristóvão Colombo, 2265; Bairro: Jardim Nazareth; CEP: 15054-000 São José do Rio Preto - SP, Telefone: (17) 3221.2200	
Projeto submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do IBILCE/UNESP São José do Rio Preto – fone 17-3221.2456/2545 e 3221.2384	

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

Anexo C – Acidez titulável dos queijos dos tratamentos QI (Queijo integral), QL (Queijo *light*) e QA (Queijo *light* com adição de amido), durante estocagem refrigerada (5ºC).

Queijo	3 dias	10 dias	17 dias
QI (Integral)	$0,45^{a,C}$±0,07	$0,66^{a,B}$±0,06	$0,74^{a,A}$±0,02
QL (*Light*)	$0,40^{a,B}$±0,10	$0,58^{a,b,A}$±0,10	$0,64^{b,A}$±0,08
QA (*Light* com amido)	$0,43^{a,C}$±0,11	$0,56^{b,B}$±0,03	$0,76^{a,A}$0,02

$^{a,\ b}$ Letras minúsculas iguais na mesma coluna e $^{A,\ B,\ C}$ letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si (p ≥ 0,05).

Anexo D – pH dos queijos dos tratamentos QI (Queijo integral), QL (Queijo *light*) e QA (Queijo *light* com adição de amido), durante estocagem refrigerada (5ºC).

Queijo	3 dias	10 dias	17 dias
QI (Integral)	$5,35^{b,A}$±0,09	$5,34^{a,A}$±0,17	$5,28^{b,A}$±0,08
QL (*Light*)	$5,45^{a,A}$±0,06	$5,45^{a,A}$±0,21	$5,46^{a,A}$±0,12
QA (*Light* com amido)	$5,39^{a,b,A}$±0,08	$5,42^{a,A}$±0,10	$5,36^{a,b,A}$±0,07

$^{a,\ b}$ Letras minúsculas iguais na mesma coluna e ^{A} letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si (p≥0,05).

Anexo E – Capacidade de retenção de água dos queijos dos tratamentos QI (Queijo integral), QL (Queijo *light*) e QA (Queijo *light* com adição de amido), durante estocagem refrigerada (5ºC).

Queijo	3 dias	10 dias	17 dias
QI (Integral)	$83,29^{a,B}$±4,20	$97,78^{a,A}$±3,45	$100,00^{a,A}$±0,00
QL (*Light*)	$80,29^{a,B,}$±2,95	$82,00^{c,B}$±1,46	$95,71^{b,A}$±4,04
QA (*Light* com amido)	$80,98^{a,c}$±0,00	$86,54^{b,B}$±4,04	$100,00^{a,A}$±0,00

$^{a,\ b,\ c}$ Letras minúsculas iguais na mesma coluna e $^{A,\ B}$ letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si (p ≥ 0,05).