

URI - CAMPUS ERECHIM
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE MESTRADO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

**INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE PROBIÓTICO (*Lactobacillus rhamnosus*), FIBRA
DE TRIGO E GELATINA NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E
SENSORIAIS DO QUEIJO PRATO DURANTE A MATURAÇÃO.**

CILDA PICCOLI GHISLENI

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Mestrado em Engenharia de Alimentos da URI-Campus de Erechim, como requisito parcial à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração: Engenharia de Alimentos, da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Campus de Erechim.

ERECHIM, RS - BRASIL
FEVEREIRO DE 2008

INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE PROBIÓTICO (*Lactobacillus rhamnosus*), FIBRA DE TRIGO E GELATINA NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E SENSORIAIS DO QUEIJO PRATO LIGHT DURANTE A MATURAÇÃO.

CILDA PICCOLI GHISLENI

Dissertação de Mestrado submetida à Comissão Julgadora do Programa de Mestrado em Engenharia de Alimentos como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração: Engenharia de Alimentos.

Comissão Julgadora:

Prof^a. Eunice Valduga, Dr^a.
Orientadora

Prof. Alexandre José Cichoski, Dr.
Orientador

Prof^a. Neila S. P. S. Richards, Dr^a

Prof^a. Helen Treichel, Dr^a.

Erechim, 21 de Fevereiro de 2008

NESTA PÁGINA DEVERÁ SER INCLUÍDA A FICHA CATALOGRÁFICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO. ESTA FICHA SERÁ ELABORADA DE ACORDO COM OS PADRÕES DEFINIDOS PELO SETOR DE PROCESSOS TÉCNICOS DA BIBLIOTECA DA URI – CAMPUS DE ERECHIM.

DEDICATÓRIA

A minha amada filha Julia e ao meu
amor Joel, pela paciência, compreensão, carinho, apoio
e incentivo durante a realização deste trabalho.

As minhas irmãs, Carla, Ilse e Rita pela imensa ajuda, apoio, incentivo e carinho.

À minha amada mãe (in memória), Cilda, por ter me ensinado o verdadeiro
significado da vida e o verdadeiro valor das pessoas. Por ter me apoiado
incondicionalmente em todas as minhas decisões, sem hesitar. Por todo seu imenso
amor, pelo seu carinho, sempre me auxiliando e aconselhando, por me oferecer a
mais sincera amizade que já conheci...

Com todo meu amor, carinho, gratidão e saudades...

Ao meu amado pai, Adelino, por todo seu amor incondicional, pela dedicação, apoio,
cuidado e auxílio durante todos os momentos de minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida e por mais esta conquista.

A Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, colegas, professores, e funcionários. A Engenharia de Alimentos pela oportunidade.

A minha querida família por fazerem parte da minha vida e serem sempre tão maravilhosos, um agradecimento muito especial a todos pelo carinho, incentivo e apoio.

A Prof. Dr. Eunice Valduga pela disponibilidade, compreensão, orientação, paciência e dedicação em todas as fases deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Alexandre Jose Cichoski pela orientação e colaboração durante o desenvolvimento deste trabalho.

Aos membros da banca examinadora, que contribuíram para o aprimoramento deste trabalho através das correções e sugestões apresentadas para a redação final deste trabalho.

As alunas Andréia, Fernanda e Lidiana, pela responsabilidade, ajuda e competente colaboração na realização das análises, em especial a Fernanda pelo suporte, e apoio em todas as atividades realizadas.

Aos provadores da análise sensorial, que se dispuseram a colaborar.

A todos os funcionários da central de materiais que me ajudaram quando precisei.

As queridas colegas e amigas, Karina, Elisangela e Pihetra.

A Karina e Elisangela, obrigada pelo carinho, pela amizade pura e sincera, incentivo e força nos momentos difíceis.

Para as colegas, Roseana, Giovana, Viviam e Thais, especial agradecimento pelo apoio, companheirismo e incentivo para que eu fizesse o mestrado.

Enfim, a todas as pessoas que, de alguma forma, me incentivaram e contribuíram para a realização deste trabalho, meus sinceros

MUITO OBRIGADO

Resumo da Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Engenharia de Alimentos como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos.

INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE PROBIÓTICO (*Lactobacillus rhamnosus*), FIBRA DE TRIGO E GELATINA NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E SENSORIAIS DO QUEIJO PRATO DURANTE A MATURAÇÃO

Cilda Piccoli Ghisleni

Fevereiro/2008

Orientadores: Prof^a. Dr^a. Eunice Valduga

Prof. Dr. Alexandre José Cichoski

Nos últimos anos, algumas mudanças na tecnologia de fabricação do queijo prato têm sido efetuadas pelas indústrias de laticínios visando à melhoria de sua qualidade e busca de produtos diferenciados. Nesse sentido, o objetivo do presente trabalho foi a elaboração de queijo tipo prato light contendo diferentes concentrações de gelatina, fibra de trigo e probiótico (*Lactobacillus rhamnosus*). Para avaliar os efeitos das variáveis independentes (gelatina: 0 – 10 g/L, fibra de trigo: 0 – 10 g/L e probiótico: 0 – 0,014 g/L) na umidade, pH, acidez, lactose, proteína, gordura, bactérias lácticas, fibras, frações nitrogenadas, aceitação geral, sabor e textura, durante a maturação (2^º, 30^º e 60^º dias a 15 °C), empregou-se a técnica de planejamento experimental. As análises físico-químicas revelaram que os queijos contendo gelatina e probiótico apresentaram alta umidade, sendo maiores que nas amostras com fibra de trigo. O pH de todos os queijos foram superiores a 5, valor que favoreceu o desenvolvimento do probiótico adicionado. Com relação à acidez ocorreu aumento significativo ($p < 0,05$) do 2^º para o 30^º dia de armazenamento, tendo uma redução no 60^º dia. O teor de lactose em todos os queijos apresentou reduções significativas ($p < 0,05$) e sucessivas em todos os dias analisados. A fibra

de trigo exerceu influência significativa negativa em relação à umidade no 2^o, 30^o e 60^o dia de armazenamento. As três variáveis estudadas apresentaram influência significativa sobre o teor de gordura (2^o dia), lactose (30^o dia), índice de extensão da maturação ao 2^o, 30^o e 60^o dia e para acidez no 60^o dia de armazenamento. Para proteína e lactose no 2^o dia de armazenamento a interação gelatina e fibra de trigo foi a única variável que exerceu influência significativa e negativa, no 30^o dia somente a variável probiótico apresentou efeito negativo para proteína e no 60^o dia para o pH. Os maiores teores de fibra-bruta nos queijos tipo Prato foram observados nos ensaios onde adicionou-se gelatina e probiótico, pois estes favoreceram a retenção da fibra na massa. O crescimento das bactérias lácticas foi mais expressivo no 30^o dia de maturação, mantendo-se constante no 60^o dia (8,4log UFC/g), valores estes dentro dos recomendados para um alimento ser considerado probiótico. O índice de extensão da proteólise e o índice de profundidade de proteólise revelaram um aumento significativo ($p < 0,05$) no decorrer da maturação. A avaliação sensorial, para o atributo sabor, em geral, os queijos tiveram aceitação gostei muito, e no atributo textura, a aceitação foi de 37% no quesito gostei muito.

Abstract of Dissertation presented to Food Engineering Program as a partial fulfillment of the requirements for the Degree of Master in Food Engineering

INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE PROBIÓTICO (*Lactobacillus rhamnosus*), FIBRA DE TRIGO E GELATINA NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E SENSORIAIS DO QUEIJO PRATO DURANTE A MATURAÇÃO

Cilda Piccoli Ghisleni

February/2008

Advisors: Prof^a. Dr^a. Eunice Valduga

Prof. Dr. Alexandre José Cichoski

In the last years, some changes in the technology of production of Prato cheese have been made by the industries of dairy products seeking to the improvement of its quality and search of differentiated products. In this sense, the objective of the present work was the elaboration of Prato cheese light containing different jelly concentrations, wheat fiber and probiotic (*Lactobacillus rhamnosus*). To evaluate the effects of the independent variables (jelly: 0 – 10 g/L, wheat fiber: 0 – 10 g/L and probiotic: 0 - 0,014 g/L) in the humidity, pH, acidity, lactose, protein, fat, lactic bacteria, fibers, nitrogenous compounds, general acceptance, flavor and texture, during the maturation (2 °, 30 ° and 60 ° days to 15 °C), the technique of experimental design was used. The physiochemical analyses revealed that the cheeses containing jelly and probiotic presented high humidity, being higher than in the samples with wheat fiber. The pH of all of the cheeses was superior to 5, value that favored the development of the probiotic added. Regarding the acidity, a significant increase ($p < 0,05$) was observed of 2 ° for 30 ° day of storage, reducing in the 60 ° day. The lactose in all cheeses presented significant reductions ($p < 0,05$) and successive in all days analyzed. The wheat fiber had a negative significant influence in relation to the humidity in 2 °, 30 ° and 60 ° day of storage. The three studied

variables presented significant influence on the fat (2^o day), lactose (30^o day), extension index of the maturation to 2^o, 30^o and 60^o day and for acidity in 60^o day of storage. For protein and lactose in 2^o day of storage, the interaction jelly and wheat fiber was the only variable that had significant and negative influence, in 30^o day only the probiotic variable presented negative effect for protein and in 60^o day for the pH. The largest numbers of fiber in the cheeses Prato type were observed in the experiments where jelly and probiotic were added, because they favored the retention of the fiber in the mass. The growth of the lactic bacteria was more expressive in 30^o day of maturation, staying constant in 60^o day (8,4log UFC/g), values inside of the recommended for a food being considered probiotic. The index of extension of the proteolysis and the index of proteolysis depth revealed a significant increase ($p < 0,05$) in elapsing of the maturation. The sensorial evaluation, for the attribute flavor, in general, the cheeses had acceptance liked a lot, and in the attribute texture, the acceptance was of 37% in the requirement liked a lot.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	v
SUMÁRIO.....	x
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE TABELAS	xv
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Queijos	3
2.1.1 Queijo Prato	4
2.1.1.1 Queijo com Leite Desnatado	6
2.1.1.2 Maturação e Proteólise do Queijo.....	9
2.2 Alimentos Funcionais	10
2.2.1. Legislação	11
2.2.2 Probióticos.....	13
2.2.3 Fibra alimentar	19
2.3 Gelatina	22
3. MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1 Fabricação do Queijo tipo Prato	24
3.2 Procedimento de amostragem e das análises realizadas	27
3.3 Análises físico-químicas	27
3.3.1 Determinação do pH	27
3.3.2 Determinação da acidez total	27
3.3.3 Determinação da Umidade	28
3.3.4 Determinação da gordura.....	28
3.3.5 Determinação da lactose.....	28
3.3.6 Determinação da fibra bruta	28
3.3.7 Frações Nitrogenadas	29
3.3.7.1 Nitrogênio total e/ou proteína total	29
3.3.7.2 Nitrogênio solúvel a pH 4,6.....	29

3.3.7.3 Nitrogênio não protéico solúvel em TCA 12 %	29
3.3.7.4 Índices de extensão e profundidade da proteólise do queijo	29
3.4 Análises físicas.....	30
3.4.1 Rendimento dos queijos.....	30
3.5 Análises microbiológicas	30
3.5.1 Bactérias lácticas	30
3.6 Análise Sensorial.....	31
3.7 Análise estatística dos dados	31
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
4.1. Aspectos físicos dos queijos	33
4.2 Características físico-químicas dos queijos.....	40
4.2.1 Umidade	40
4.2.2 pH.....	44
4.2.3 Acidez	48
4.2.4 Lactose.....	51
4.2.5 Proteína.....	55
4.2.6 Gordura	59
4.2.7 Fibra-bruta.....	63
4.2.8 Proteólise	63
4.2.8.1 Índice de Extensão (IEM)	64
4.2.8.2 Índice de Profundidade (IEP).....	68
4.3 Bactérias lácticas	73
4.4 Características sensoriais	77
5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	87
5.1 Conclusões.....	87
5.1 Sugestões para trabalhos futuros.....	89
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	90
ANEXO.....	110
APÊNDICE A.....	111
APÊNDICE B.....	112

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1	Fluxograma do processo de elaboração do queijo tipo Prato com reduzido teor de gordura.....	26
Figura 4.1	Aspecto visual das formulações de queijo tipo Prato aos 30 dias de armazenamento a 15 °C (1 - Padrão; 2 - Gelatina; 3 - Fibra de trigo; 4 - Gelatina/ Fibra de trigo; 5 Probiótico; 6 - Gelatina/ Probiótico; 7 - Fibra de Trigo/ Probiótico; 8 - Gelatina/ Fibra de Trigo/ Probiótico; 9 - Gelatina/ Fibra de Trigo/ Probiótico).....	34
Figura 4.2	Aspecto visual das formulações de queijo Prato aos 60 dias de maturação (1 – Padrão, 2 – Gelatina; 3 – Fibra de trigo; 4 – Gelatina/ Fibra de trigo; 5 – Probiótico; 6 – Gelatina/ Probiótico; 7 – Fibra de trigo/ Probiótico; 8 – Gelatina/ Fibra de trigo/ Probiótico; 9 - Gelatina/ Fibra de trigo/ Probiótico).....	35
Figura 4.3	Curvas de contorno para o rendimento (kg de queijo/100 kg de leite) dos queijos tipo Prato, (a) Fibra de trigo e gelatina e (b) Fibra de trigo e probiótico.....	39
Figura 4.4	Gráfico de Pareto com os efeitos estimados para o teor de pH no 2 ° dia de armazenamento a 15 °C.....	46
Figura 4.5	Gráfico de Pareto com os efeitos estimados para os valores de pH no 60 ° dia de armazenamento a 15 °C.....	47
Figura 4.6	Gráfico de Pareto com os efeitos estimados para o teor de acidez no 60 ° dia de armazenamento a 15 °C.....	51
Figura 4.7	Gráfico de Pareto com os efeitos estimados para o teor de lactose ao 2 ° dia de armazenamento a 15 °C.....	53
Figura 4.8	Gráfico de Pareto com os efeitos estimados para o teor de lactose no 30 ° dia de armazenamento a 15 °C.....	54
Figura 4.9	Gráficos de Pareto com os efeitos estimados para o teor de	

	proteína no 2 ^o (a) e no 30 ^o dia (b) de armazenamento a 15 °C.....	57
Figura 4.10	Gráfico de Pareto com os efeitos estimados para o teor de gordura no 2 ^o (a) e 60 ^o (b) dia de armazenamento a 15 °C.....	60
Figura 4.11	Evolução da extensão da proteólise nos queijos tipo Prato durante o armazenamento a 15 °C.....	65
Figura 4.12	Gráficos de Pareto com os efeitos estimados para o índice de extensão (g NST/100 g de NT) ao 30 ^o (a) e 60 ^o (b) dia de armazenamento a 15 °C.....	66
Figura 4.13	Evolução do índice de profundidade da proteólise nos queijos tipo Prato durante o armazenamento a 15 °C.....	69
Figura 4.14	Curva de contorno para o índice de profundidade (g NNP/100 g de NT) ao 30 ^o dia de armazenamento a 15 °C, em função da concentração de probiótico e fibra de trigo.....	71
Figura 4.15	Gráfico de Pareto com os efeitos estimados para o índice de profundidade (g NNP/100 g de NT) no 60 ^o dia de armazenamento a 15 °C.....	72
Figura 4.16	Gráficos de Pareto com os efeitos estimados para a o número de colônias de bactérias lácticas no 2 ^o (a) e 60 ^o (b) dia de armazenamento a 15 °C, respectivamente.....	75
Figura 4.17	Histograma de frequência para Aceitação geral aos 30 (a) e 60 dias (b), respectivamente (9 - gostei muitíssimo, 8 - gostei muito, 7 - gostei moderadamente, 6 - gostei ligeiramente, 5 - nem gostei / nem desgostei, 4 - desgostei ligeiramente, 3 - desgostei moderadamente, 2 - desgostei muito, 1 - desgostei muitíssimo).....	79
Figura 4.18	Histograma de frequência para o Sabor aos 30 (a) e 60 dias (b), respectivamente.....	80
Figura 4.19	Histograma de frequência para Textura aos 30 (a) e 60 dias (b), respectivamente.....	81

Figura 4.20	Gráfico de Pareto com os efeitos estimados para aceitação geral aos 30 (a) e 60 (b) dias de armazenamento a 15 °C, respectivamente.....	82
Figura 4.21	Gráfico de Pareto com os efeitos estimados para sabor aos 30 (a) e 60 (b) dias de armazenamento a 15 °C, respectivamente.....	83
Figura 4.22	Gráfico de Pareto com os efeitos estimados para textura aos 30 (a) e 60 (b) dias de armazenamento a 15 °C, respectivamente.....	84
Figura A.1	Material utilizado para a avaliação sensorial dos queijos tipo Prato..	111
Figura A.2	Ficha utilizada para a avaliação sensorial dos queijos tipo Prato.....	111
Figura B.1	Curvas de contorno para o teor de umidade (g/100g) no 2 ° dia de armazenamento a 15 °C, em função da concentração de fibra de trigo e gelatina (a), fibra de trigo e probiótico.....	112
Figura B.2	Curvas de contorno para o índice de extensão (g NST/100 g de NT) no 2 ° dia de armazenamento a 15 °C, em função da concentração de fibra de trigo e gelatina (a), probiótico e gelatina (b), e probiótico e fibra de trigo (c).....	115
Figura B.3	Curvas de contorno para o índice de profundidade (g NNP/100 g de NT) ao 2 ° dia de armazenamento a 15 °C, em função da concentração de fibra de trigo e gelatina (a) e probiótico e gelatina (b).....	116

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1	Valores utilizados no planejamento fatorial completo 2^3 (com triplicata do ponto central) na fabricação do queijo tipo prato, para as variáveis gelatina, fibra de trigo e o probiótico.....	25
Tabela 4.1	Matriz do planejamento fatorial completo 2^3 (valores reais e codificados) e resposta em rendimento dos queijos tipo Prato.....	36
Tabela 4.2	Resultados do coeficiente de regressão e desvio padrão provenientes do planejamento fatorial completo para o rendimento dos queijos tipo Prato.....	37
Tabela 4.3	Análise de variância para o rendimento dos queijos tipo Prato.....	38
Tabela 4.4	Matriz do planejamento fatorial completo 2^3 (valores reais e codificados) e os resultados de umidade para o 2 ^º , 30 ^º e 60 ^º dia de armazenamento a 15 °C em queijo tipo Prato.....	41
Tabela 4.5	Resultados do coeficiente de regressão e desvio padrão provenientes do planejamento fatorial completo 2^3 , para umidade no 2 ^º dia de armazenamento a 15 °C.....	42
Tabela 4.6	Análise de variância para o teor de umidade no 2 ^º dia de armazenamento a 15 °C.....	43
Tabela 4.7	Matriz do planejamento fatorial completo 2^3 (valores reais e codificados) e os resultados de pH para o 2 ^º , 30 ^º e 60 ^º dia de armazenamento a 15 °C em queijos tipo Prato.....	45

Tabela 4.8	Resultados do coeficiente de regressão e desvio padrão provenientes do planejamento fatorial completo 2^3 , para o pH no 30 ° dia de armazenamento a 15 °C.....	47
Tabela 4.9	Matriz do planejamento fatorial completo 2^3 (valores reais e codificados) e os resultados de acidez encontrados no 2 °, 30 ° e 60 ° dia de armazenamento a 15 °C em queijos tipo Prato.....	49
Tabela 4.10	Coeficientes de regressão e desvios padrão provenientes do planejamento fatorial completo 2^3 , para acidez no 2 ° e 30 ° dias de armazenamento a 15 °C.....	50
Tabela 4.11	Matriz do planejamento fatorial completo 2^3 (valores reais e codificados) e os teores de lactose para o 2 °, 30 ° e 60 ° dia de armazenamento a 15 °C.....	52
Tabela 4.12	Coeficientes de regressão e desvios padrão provenientes do planejamento fatorial completo 2^3 , para lactose no 60 ° dia de armazenamento a 15 °C.....	54
Tabela 4.13	Matriz do planejamento fatorial completo 2^3 (valores reais e codificados) e os resultados de proteína para o 2 °, 30 ° e 60 ° dia de armazenamento a 15 °C.....	56
Tabela 4.14	Resultados do coeficiente de regressão e desvio padrão provenientes do planejamento fatorial completo 2^3 , para proteína nos 60 dias de armazenamento a 15 °C.....	58
Tabela 4.15	Matriz do planejamento fatorial completo 2^3 (valores reais e codificados) e os resultados em gordura para o 2 °, 30 ° e 60 ° dia de armazenamento a 15 °C.....	59

Tabela 4.16	Resultados do coeficiente de regressão e desvio padrão provenientes do planejamento fatorial completo 2^3 , para gordura aos 30 dias de armazenamento a 15 °C.....	61
Tabela 4.17	Teor de fibra (g/100 g) dos queijos tipo Prato no 2 ° dia de armazenamento a 15 °C.....	63
Tabela 4.18	Matriz do planejamento fatorial completo 2^3 (valores reais e codificados) e os resultados para índice de extensão da proteólise ao 2 °, 30 ° e 60 ° dia de armazenamento a 15 °C.....	65
Tabela 4.19	Matriz do planejamento fatorial completo 2^3 (valores reais e codificados) e os resultados para índice de profundidade da proteólise ao 2 °, 30 ° e 60 ° dia de armazenamento a 15 °C.....	69
Tabela 4.20	Resultados do coeficiente de regressão e desvio padrão provenientes do planejamento fatorial completo 2^3 , para índice de profundidade no 30 ° dia de armazenamento a 15 °C.....	70
Tabela 4.21	Análise de Variância (ANOVA) para o índice de profundidade no 30 ° dia de armazenamento a 15 °C.....	71
Tabela 4.22	Matriz do planejamento fatorial completo 2^3 (valores reais e codificados) e os resultados em bactérias lácticas para o 2 °, 30 ° e 60 ° dia de armazenamento a 15 °C.....	74
Tabela 4.23	Resultados do coeficiente de regressão e desvio padrão provenientes do planejamento fatorial completo 2^3 , para o número de colônias de bactérias lácticas aos 30 dias de armazenamento a 15 °C.....	76
Tabela 4.24	Matriz do planejamento fatorial completo 2^3 (valores reais e codificados) e resposta em aceitação geral, sabor e textura dos	

	queijos aos 30 e 60 dias de armazenamento a 15 °C.....	78
Tabela B.1	Resultados do coeficiente de regressão e desvio padrão provenientes do planejamento fatorial completo 2^3 , para umidade no 30 ° dia de armazenamento a 15 °C.....	113
Tabela B.2	Resultados do coeficiente de regressão e desvio padrão provenientes do planejamento fatorial completo 2^3 , para umidade no 60 ° dia de armazenamento a 15 °C.....	113
Tabela B.3	Resultados do coeficiente de regressão e desvio padrão provenientes do planejamento fatorial completo 2^3 , para índice de extensão no 2 ° dia de armazenamento a 15 °C.....	113
Tabela B.4	Análise de variância para o índice de extensão no 2 ° dia de armazenamento a 15 °C.....	114
Tabela B.5	Resultados do coeficiente de regressão e desvio padrão provenientes do planejamento fatorial completo 2^3 , para índice de profundidade no 2 ° dia de armazenamento a 15 °C.....	115
Tabela B.6	Análise de Variância (ANOVA) para o índice de profundidade no 2 ° dia de armazenamento a 15 °C.....	115

1. INTRODUÇÃO

Há vários séculos a humanidade reconhece a relação entre alimento e saúde. Com o passar dos anos vem aumentando a preocupação com a saúde e com a qualidade dos alimentos, como consequência o mercado de alimentos funcionais nos últimos anos expandiu-se significativamente (BISTRÖM e NORDSTRÖM, 2002; BOURROUL, 2006).

Devido ao grande aumento na preocupação dos consumidores com relação as questões de saúde, a indústria de alimentos funcionais tem explorado cada vez mais, novos processos e aumentado a diversidade de produtos alimentares disponíveis para o consumo humano. Os consumidores modernos estão interessados em consumir alimentos que além de saudáveis também sejam capazes de prevenir doenças. Nos países desenvolvidos é crescente a popularidade dos alimentos funcionais contendo probióticos e isto se deve aos avanços nas pesquisas em desenvolvimento de novos produtos, que resultaram na incorporação de probióticos não só em produtos lácteos, mas também em bebidas, cereais e até mesmo em produtos cárneos (MATTILA-SANDHOLM *et al.*, 2002; MICHIDA *et al.*, 2006, MATSUBARA, 2001).

Alimento funcional é um dos termos que pode ser usado para se referir a alimentos que trazem benefícios a saúde. Emprega-se também, terminologia como nutracêuticos, alimentos probióticos e alimentos medicinais. O alimento funcional, além de suas funções nutricionais como fonte de energia e de substrato para a formação das células dos tecidos, possui em sua composição uma ou mais substâncias que atuam modulando e ativando os processos metabólicos, melhorando assim as condições de saúde do consumidor, pois promove aumento da efetividade do sistema imune, promovendo o bem estar das pessoas e prevenindo o aparecimento precoce de alterações patológicas e de doenças degenerativas, que levam a uma diminuição da longevidade (BISTRÖM e NORDSTRÖM, 2002; THAMER e PENNA, 2006).

A indústria de laticínios vem destacando-se nesse novo nicho de mercado. A demanda dos consumidores por alimentos funcionais impulsionou a expansão

principalmente de iogurtes, bebidas lácteas e bebidas a base de soja. Recentemente leites fermentados e queijos são os alimentos mais comuns contendo probióticos (SAARELA *et al.*, 2000; BISTRÖM e NORDSTRÖM, 2002; THAMER e PENNA, 2006). A literatura relata estudos com queijos como veículos para cepas probióticas (*Lactobacillus* e *Bifidobacterium*), acrescidas de prebióticos, revelando-se apropriados, tais como os queijos Cheddar, o Gouda, o Gresenza e os frescos incluindo o Minas frescal (SAAD, 2006). Em geral, estes alimentos funcionais contendo bactérias probióticas, vem resultando em produtos com alto grau de aceitabilidade, nos quais a sua viabilidade e funcionalidade são mantidas (OLIVEIRA *et al.*, 2002).

Nos anos de 2004 a 2005, o queijo prato foi o segundo queijo mais consumido no Brasil e se caracterizou pelo seu sabor suave, consistência macia e por se tratar de um queijo de massa semi-cozida e lavada. Observou-se nesse período uma tendência cada vez maior no seu consumo de forma indireta, ou seja, como ingrediente culinário, em sanduíches (BARROS, 2005).

A demanda por produtos lácteos com baixo teor de gordura no final da década de noventa começou a aumentar. Dietas gordurosas, especialmente de origem animal começaram a ser consideradas como uma das maiores causas de perigo à saúde, e foram relacionadas ao surgimento e ao aumento de doenças como câncer, obesidade, doenças cardiovasculares, pressão alta e diabetes (KATSUDA *et al.*, 1999; RYHÄNEN *et al.*, 2001; MICHAELIDOU *et al.*, 2003).

A preocupação com relação aos teores de gordura influenciou o consumo de produtos *light*, fazendo com que o processo de fabricação de queijo tipo Prato com reduzido teor de gordura passasse a ser mais atrativo para as indústrias (STEFFENS, 2006).

Nesse contexto, o presente trabalho visou acompanhar a evolução de características físicas (rendimento), físico-químicas, (umidade, pH, acidez, lactose, proteína, gordura, frações nitrogenadas e fibra), sensoriais (aceitação geral, sabor e textura) e contagem de bactérias lácticas do queijo tipo prato elaborado com leite contendo 1,3 % de gordura, adicionado de fibra de trigo, gelatina e probiótico (*Lactobacillus rhamnosus*), durante o período de 60 dias de armazenamento a 15 °C.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste item, são apresentados aspectos do processamento de queijo, principalmente do queijo prato, maturação e proteólise. Serão abordados ainda, aspectos da legislação brasileira em vigor, fatores que afetam a maturação, elaboração de produtos diferenciados com propriedades funcionais (probióticos), bem como as vantagens de adicioná-los na alimentação.

2.1 Queijos

Apreciado desde a pré-história, o queijo caracteriza-se por ser um alimento rico e saboroso. Os Nômades encontravam nele uma segura fonte de nutrientes; Gregos e Romanos deram-lhe lugar de destaque. Na Europa medieval foram desenvolvidos métodos de elaboração e formas de conservação, e atualmente, são conhecidas mais de 400 espécies de queijos (www.sapo.spg.sapo.pt). A transformação do leite em queijo representa uma das maneiras de aumentar a vida de prateleira deste produto perecível. A produção de queijo é uma das mais antigas formas de emprego da biotecnologia, datando talvez de 6000 a.C. e foi bem estabelecida durante a era do Império Romano. O queijo tem desejáveis propriedades nutritivas, é um alimento convenientemente clássico e pode ser consumido como principal componente de refeições, como sobremesa ou como ingrediente de outros alimentos (LAW, 1997; FERREIRA, 2004).

Como definição considera-se o queijo como um produto fresco ou maturado que se obtém pela separação parcial do soro do leite ou leite constituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, de enzimas e bactérias específicas, ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade aptos para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias, especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes. Qualquer que seja o tipo de queijo, os ingredientes imprescindíveis em sua elaboração são o leite, as enzimas e suas

bactérias. O queijo fresco é aquele que está pronto para o consumo logo após sua fabricação, já o queijo maturado é aquele que sofreu as trocas bioquímicas e físicas necessárias relacionadas à variedade do queijo. A denominação queijo está reservada aos produtos em que a base láctea não contenha gordura e/ou proteínas de origem não láctea (BRASIL, 2007a).

O queijo é um alimento de alto valor nutritivo e sabor agradável, sendo bastante consumido pela população em geral (GUTIERREZ *et al.*, 2004), apresentando em sua composição proteínas, lipídios, carboidratos, sais minerais, principalmente cálcio, fósforo e vitaminas, entre elas A e B (PERRY, 2004).

Em relação ao rendimento do queijo elaborado com leite bovino, tem-se que aproximadamente a metade dos sólidos totais do leite ficam no soro, quando se emprega o processo tradicional em sua elaboração. Necessita-se, em média, 10 L de leite para se obter um 1 kg de queijo. Este fato ocorre devido a perda das proteínas solúveis lactoglobulina e lactoalbumina, quando da retirada do soro (OLIVEIRA, 1986).

2.1.1 Queijo Prato

Vários queijos europeus foram introduzidos, sobretudo na década de 20, e o queijo tipo Prato apareceu sob a influência dos imigrantes dinamarqueses e holandeses na região sul de Minas Gerais. Esse tipo de queijo é semelhante aos queijos dinamarqueses: Tybo, Elbo, Fynbo, Havarti e Danbo e ao queijo holandês Gouda. Entretanto, devido às condições climáticas tropicais, o processo de elaboração original foi adaptado considerando as tecnologias holandesas e dinamarquesas usadas para a fabricação do Gouda e do Danbo, respectivamente. Assim, surgiram as variedades de queijo tipo Prato segundo as adaptações locais desenvolvidas. O queijo tipo Prato não tem sua origem na fabricação caseira como o queijo Minas. Sua obtenção é mais complexa e necessita de um maior controle do processo, notadamente na etapa do cozimento da massa. Seu surgimento relaciona-se, portanto, às primeiras produções em grande escala com finalidade comercial (OLIVEIRA, 1986; FURTADO e LOURENÇO NETO, 1994; AUGUSTO, 2003; SPADOTI *et al.*, 2005; ABIQ, 2007).

Em 04 de setembro de 1997, o Ministério da Agricultura e Abastecimento através da Portaria 358, aprovou o Regulamento Técnico para Fixação da Identidade e Qualidade do queijo Prato, o qual teve por objetivo estabelecer a identidade e os requisitos mínimos de qualidade que deve apresentar o queijo Prato destinado ao consumo humano. Segundo este regulamento, o queijo tipo Prato caracteriza-se por ser maturado, obtido por coagulação enzimática do leite, complementada pela ação de bactérias lácticas específicas. É classificado como um queijo gordo, de média umidade. Apresenta como características, consistência elástica, textura macia e compacta, e pequenas olhaduras bem distribuídas. Tem como característica distinta no processo de elaboração a obtenção de uma massa semicozida por coagulação enzimática, com remoção parcial do soro, prensada, salgada e maturada pelo tempo mínimo de 25 dias ou tempo necessário para se conseguir as características específicas (BRASIL, 2007b).

Além disso, o queijo deve se apresentar sem crosta ou com uma crosta fina, lisa sem trincas. Com a denominação “Queijo Prato” poderão ser encontrados diferentes tipos de produtos como o “Queijo Prato Lanche ou Sandwich” (na forma de paralelepípedo de seção transversal retangular), “Queijo Prato Cobocó” (de forma cilíndrica), e o “Queijo Prato Esférico ou Bola”. O peso varia de 0,4 a 5 kg de acordo com a variedade correspondente, sendo a variedade lanche a mais comercializada, já que o Prato é geralmente utilizado por sua boa fatiabilidade (BRASIL, 2007b).

Na elaboração do queijo prato, a operação de pasteurização é uma exigência legal, trazendo, além da segurança sanitária, padronização tecnológica, uniformização do sabor e redução da incidência de defeitos e perdas, em consequência das fermentações anormais, sendo considerado, portanto, um dos fatores indispensáveis para a qualidade do produto oferecido ao mercado. O leite é um produto altamente perecível e a pasteurização é a forma de prolongar o seu tempo de conservação, preservando suas características naturais, além de torná-lo seguro sob o ponto de vista de saúde pública. A pasteurização consiste no emprego de calor, com o objetivo de eliminar totalmente a flora microbiana patogênica, a maioria fermentativa, sem alteração sensível de sua constituição física e do equilíbrio químico do leite, sem prejudicar seus

elementos bioquímicos, como também suas propriedades organolépticas (SILVEIRA e ABREU, 2003).

As etapas de fabricação incluem a pasteurização do leite (72 °C/16 segundos), resfriamento a aproximadamente 32 °C, adição de cultura láctica e de coalho. As etapas de tratamento incluem corte, agitação, remoção parcial do soro e adição de água quente para promover o semicozimento da massa. Após a dessoragem, o queijo é enformado, salgado em salmoura, que posteriormente é seco e embalado a vácuo para posterior maturação (VIANNA, 2006; BRASIL, 2007b).

Segundo OLIVEIRA (1986), o queijo tipo Prato caracteriza-se por apresentar em média 40 % de umidade; 25,5 % de proteína; 29 % de gordura; 1,8 % de lactose; 1,7 % de sal; 2 % de cinzas e pH variando entre 5,3 e 5,5 após a maturação. Enquanto que FURTADO e LOURENÇO NETO, (1994) definem a composição média do queijo tipo Prato da seguinte forma: 42 a 44 % de umidade; 26 a 29 % de gordura; 1,6 a 1,9 % de sal após a maturação. Após 10 dias de maturação, GARCIA *et al.* (2005) obtiveram queijo tipo Prato com 48,16 % de umidade; 29,17 % de gordura e 28,46 % de proteína total.

2.1.1.1 Queijo com Leite Desnatado

A gordura tem varias funções importantes no organismo humano. Além de fonte concentrada de energia (9 Kcal/g), é carreadora das vitaminas lipossolúveis A, D, E e K, é essencial para a estrutura das membranas celulares e também é precursora de muitos hormônios. Porém alguns hábitos relacionados ao estilo de vida, como dieta rica em energia, gorduras saturadas, colesterol e sal (NaCl), estão entre os fatores de riscos associados com problemas de saúde, como doenças cardiovasculares, obesidade e hipertensão. Para atender as necessidades específicas de consumidores com tais problemas, está aumentando a demanda por queijos com reduzidos e baixos teores de gordura saturada. Nos últimos quinze anos a comercialização de queijos com baixos teores de gordura a nível mundial aumentou significativamente (COSTA e ABREU, 2005; SILVA e VAN DENDER, 2005).

Entretanto, a gordura do leite contribui na formação do sabor no queijo através da dissolução dos compostos responsáveis do sabor que podem ser produzidos pela hidrólise da gordura e da proteína, ou por outras vias. A gordura é também útil por mascarar sabores indesejáveis como o amargo, e exerce também um papel preponderante na geração do *flavor* (SBAMPATO *et al.*, 2000; BARROS, 2005).

A remoção ou a redução da gordura poderá afetar o sabor, a textura e a aparência do alimento. Quando do desenvolvimento de produtos com valores reduzidos de gordura torna-se importante monitorar suas características. As estratégias recomendadas nesse tipo de produto, no sentido de minimizar as alterações indesejáveis, seriam o acompanhamento de características sensoriais específicas modificações na tecnologia de fabricação, utilização de culturas adjuntas e o emprego de substitutos de gordura. Nenhuma delas pode substituir completamente todas as propriedades e funções da gordura, no entanto, avanços nessas áreas têm trazido como consequência melhorias consideráveis no sabor e na textura (BANKS, 2004).

Um queijo pode ser classificado como de baixo teor de gordura se o conteúdo de gordura reduzido for $\frac{2}{3}$ ou menos do que o conteúdo de um queijo convencional, podendo então ser rotulado como “*light*”, “*less*”, “*reduced*”, “*minus*” e “*lower*” (BARROS, 2005). De acordo com a Portaria n.º 27, de 13 de janeiro de 1998, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2008), o termo “*light*” pode ser utilizado em produtos quando ocorrer uma redução mínima de 25 % de gorduras totais e uma diferença entre o produto convencional e o *light* maior que 3 g de gordura/100 g do produto.

Os queijos elaborados com leite contendo de 0,3 a 1,5 % de gordura melhoram o seu *flavor* quando obtidos pela suplementação de cultura láctica. As culturas lácteas adicionadas na elaboração de queijos *light* maturados desenvolvem o *flavor* e melhoram as características funcionais daqueles com baixo teor de gordura, COSTA e ABREU (2005) justificaram estas alterações, pelo fato da gordura do leite conter ácidos graxos de cadeia curta, que quando hidrolisados pelas lipases contribuem para o *flavor* do queijo e ao reduzir o teor de gordura, conseqüentemente estes ácidos graxos estarão em menor quantidade e poderá ocorrer menor desenvolvimento de *flavor*, sendo mais intenso esse efeito quanto maior for a redução de gordura.

O desenvolvimento de gosto amargo precoce nos queijos maturados de baixo teor de gordura é decorrente do alto teor de umidade e o baixo teor de sal, parâmetros esses que induzem o crescimento excessivo das bactérias lácticas e a proteólise (ARDÖ, 1993). De modo geral, nos produtos lácteos, o sabor amargo está relacionado à presença de peptídeos e aminoácidos, resultante da hidrólise das proteínas do leite. Em queijos, o gosto amargo está relacionado com o acúmulo lento de peptídeos hidrofóbicos (AUGUSTO, 2005).

Outros problemas detectados em queijos com baixo teor gordura foram textura muito firme e elástica (descrita como “borrachenta”) ou danificada pela cristalização do lactato de cálcio e rendimento menor (CUNHA *et al.*, 2002, SILVA *et al.*, 2005; STEFFENS, 2006; RENSIS *et al.*, 2007).

Em queijo tipo Prato, não apenas a textura, mas também o sabor são atributos importantes na determinação da qualidade. Nesse sentido, várias propostas têm sido apresentadas para melhorar a qualidade sensorial dos queijos com reduzido teor de gordura, como modificações na tecnologia de fabricação e o uso de substitutos de gordura são as principais estratégias utilizadas para melhorar as características sensoriais. O desenvolvimento do gosto amargo em queijos gera prejuízos à indústria queijeira por diminuir a aceitação do produto pelo consumidor (MISTRY, 2001; AUGUSTO, 2005; RENSIS *et al.*, 2007).

Os procedimentos desenvolvidos para evitar os defeitos de sabor e textura nos queijos com reduzido teor de gordura envolvem alternativas que podem incluir modificações nos procedimentos de fabricação ou utilização de novas tecnologias, adição de culturas adjuntas ou culturas atenuadas e uso de estabilizantes e substitutos de gordura (DRAKE e SWANSON, 1995; MISTRY, 2001). As modificações tecnológicas são a forma mais simples e econômica de melhorar o sabor e textura dos queijos com reduzido teor de gordura (DRAKE e SWANSON, 1995).

2.1.1.2 Maturação e Proteólise do Queijo

A maturação caracteriza-se pela quebra das proteínas (caseínas) do queijo resultante da atividade de várias enzimas. Os principais contribuintes são o coalho, proteases e peptidases do fermento láctico e/ou flora secundária e enzimas naturais do leite (NARIMATSU *et al.*, 2003). Durante o processo de maturação dos queijos ocorrem diversas transformações bioquímicas que envolvem carboidratos, proteínas e lipídeos. A estrutura e a composição do queijo mudam e, conseqüentemente, suas propriedades sensoriais se desenvolvem (sabor, consistência, cor, aroma e textura característicos), estando envolvidos aspectos bioquímicos, microbiológicos, bem como os puramente químicos e físicos (OLIVEIRA, 1986; GUTIERREZ *et al.*, 2004; GARCIA *et al.*, 2005; SILVA *et al.*, 2005). As mudanças microbiológicas durante a maturação incluem a morte e a lise das células da cultura láctica e o crescimento da microbiota secundária. As mudanças bioquímicas envolvem o metabolismo da lactose residual, lactato, citrato, gordura e proteína, seguidos do desenvolvimento de compostos do sabor (MCSWEENEY, 2004).

Os três eventos enzimáticos que ocorrem durante a maturação são a proteólise, a lipólise e a glicólise (FOX, 1993; SILVA *et al.*, 2005). Dentre os três eventos a proteólise é o evento bioquímico mais complexo e importante que ocorre na maioria dos queijos (FOX, 1989; MCSWEENEY, 2004).

As reações primárias da maturação são responsáveis pela mudança da textura devido à hidrólise da matriz protéica por enzimas proteolíticas. Os peptídeos e os aminoácidos são substratos para reações catabólicas, que geram compostos sápidos e aromáticos, contribuindo diretamente para o sabor do queijo. A proteólise pode variar de muito limitada a muito extensiva, dependendo da característica do queijo produzido. Os peptídeos e aminoácidos podem também conferir sabor amargo em queijos, dependendo da extensão da proteólise e da especificidade da enzima proteolítica (FOX *et al.*, 2000; SOUZA *et al.*, 2001; MCSWEENEY, 2004). Dos queijos nacionais, o tipo Prato é o queijo que sofre proteólise mais intensa e pode apresentar sabor amargo durante a maturação (AUGUSTO, 2005).

As reações secundárias da maturação permitem a degradação dos produtos gerados pelas reações primárias em moléculas mais simples. As enzimas envolvidas na maturação são numerosas: coalho residual, enzimas endógenas do leite como a plasmina e as enzimas liberadas pela cultura láctica adicionada e pelos microrganismos contaminantes (FOX, 1989; FOX, 1993).

Nos queijos, a proteólise é amplamente usada para avaliar a evolução da maturação, calculando-se dois índices, a partir da quantificação das frações nitrogenadas pelo método de Kjeldahl. O primeiro é o índice de extensão de maturação (IEM), que reflete a proporção de grandes peptídeos produzidos pela proteólise primária. Sua determinação analítica é feita após a precipitação isoelétrica da caseína em pH 4,6. O índice de extensão de maturação é calculado a partir da porcentagem do teor de nitrogênio solúvel em pH 4,6 em relação ao nitrogênio total (NT). O segundo índice é o de profundidade de maturação (IPM), definido segundo a proporção de moléculas menores geradas pela proteólise secundária. Após a precipitação das proteínas em ácido tricloroacético (TCA) a 12 %, o índice de profundidade de maturação é calculado a partir da porcentagem do teor de nitrogênio solúvel em TCA a 12 % em relação ao nitrogênio total (WALSTRA *et al.*, 1999).

A maturação do queijo prato é muito importante, pois é nesta fase do processamento, realizada em condições de temperatura e umidade controladas, que o produto adquire as características que lhe são peculiares (SILVA *et al.*, 2005).

2.2 Alimentos Funcionais

As pesquisas com alimentos funcionais começaram no início da década de 80 no Japão, e em 1991, a denominação legal de alimento funcional foi estipulada de acordo com o sistema “Alimento Destinado a Uso Específico de Saúde” - Food for Specific Health Use (FOSHU) (ROBERFROID, 2000; STANTON *et al.*, 2005).

Os alimentos funcionais são alimentos modificados (compreendendo também os ingredientes alimentares), semelhantes aos alimentos convencionais, no entanto, são modificados com a adição de ingredientes como estratégia para corrigir distúrbios

metabólicos, promover funções nutricionais básicas, exercer efeito benéfico à saúde do hospedeiro, manter boa saúde física e mental, podendo auxiliar na redução do risco de doenças crônico-degenerativas. Como exemplo está o emprego de probióticos e prebióticos (BERGAMINI *et al.*, 2005; DRUNKLER *et al.*, 2005; MICHIDA *et al.*, 2006; MORAES e COLLA, 2006).

Os alimentos e ingredientes funcionais podem ser classificados em relação a sua origem (animal ou vegetal) e em relação aos benefícios que oferecem ao organismo conforme área de atuação (sistema gastrointestinal, sistema cardiovascular; no metabolismo de substratos; no crescimento, desenvolvimento e diferenciação celular; nas funções fisiológicas) (BERNAL, 2004; MORAES e COLLA, 2006).

2.2.1. Legislação

No Brasil, o Ministério da Saúde, através da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, regulamentou os Alimentos Funcionais através das seguintes resoluções: ANVISA/MS 18/99; ANVISA/MS 19/99, cuja essência é:

- a) Resolução ANVISA/MS 18/99 - Aprova o Regulamento Técnico que estabelece as Diretrizes Básicas para a Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e/ou de Saúde, alegadas em rotulagem de alimentos (BRASIL, 1999a);
- b) Resolução ANVISA/MS 19/99 - Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimentos com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde em sua Rotulagem (BRASIL, 1999b).

As diretrizes para a utilização da alegação de propriedades funcionais e ou de saúde, segundo a ANVISA são:

- a) A alegação de propriedades funcionais e ou de saúde é permitida em caráter opcional;
- b) O alimento ou ingrediente que alegar propriedades funcionais ou de saúde pode, além de funções nutricionais básicas, quando se tratar de nutriente, produzirem efeitos metabólicos e ou fisiológicos e ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica;

- c) São permitidas alegações de função ou conteúdo para nutrientes e não nutrientes, podendo ser aceitas aquelas que descrevem o papel fisiológico do nutriente ou não nutriente no crescimento, desenvolvimento e funções normais do organismo, mediante demonstração da eficácia. Para os nutrientes com funções plenamente reconhecidas pela comunidade científica não será necessária a demonstração de eficácia ou análise da mesma para alegação funcional na rotulagem (item 3.3 da Resolução ANVISA n.º. 18);
- d) No caso de uma nova propriedade funcional, há necessidade de comprovação científica da alegação de propriedades funcionais e ou de saúde e da segurança de uso, segundo as Diretrizes Básicas para avaliação de Risco e Segurança dos alimentos;
- e) As alegações podem fazer referências à manutenção geral da saúde, ao papel fisiológico dos nutrientes e não nutrientes e à redução de risco de doenças. Não são permitidas alegações de saúde que façam referência à cura ou prevenção de doenças (BRASIL, 1999a; BRASIL, 1999b).

O Comitê de Alimentos e Nutrição do Instituto de Medicina da Federação Náutica de Brasília (FNB) define alimentos funcionais como qualquer alimento ou ingrediente que possa proporcionar um benefício à saúde, além dos nutrientes tradicionais que eles contêm. A definição de que o alimento funcional pode ser classificado como alimento é aceita nos EUA, Europa e também no Brasil. Nessa perspectiva, o alimento funcional deve apresentar primeiramente as funções nutricional e sensorial, sendo a funcionalidade a função terciária do alimento (MORAES e COLLA, 2006).

O registro de um alimento funcional só pode ser realizado depois de comprovada a alegação de propriedades funcionais ou de saúde com base no consumo previsto ou recomendado pelo fabricante, na finalidade, condições de uso e valor nutricional, quando for o caso ou na evidência (s) científica (s): composição química ou caracterização molecular, quando for o caso, e ou formulação do produto; ensaios bioquímicos; ensaios nutricionais e ou fisiológicos e ou toxicológicos em animais de experimentação; estudos epidemiológicos; ensaios clínicos; evidências abrangentes da literatura científica, organismos internacionais de saúde e legislação internacionalmente

reconhecidas sob propriedades e características do produto e comprovação de uso tradicional, observado na população, sem associação de danos à saúde (BRASIL, 1999a; BRASIL, 1999b; MORAES e COLLA, 2006).

2.2.2 Probióticos

Os probióticos possuem uma longa história de uso, sendo que os primeiros registros da ingestão de bebidas contendo microrganismos probióticos datam de 2000 anos atrás (GIBSON, 2004).

Segundo DRUNKLER *et al.* (2005), a palavra probiótico se deriva de duas palavras gregas que significam "por vida". O termo foi usado para significar a substância que estimula o crescimento de outro microrganismo (BURITI *et al.*, 2005a) ou extratos de tecido com os quais se promove o crescimento microbiano, mas não tiveram aceitação geral. DRUNKLER *et al.* (2005) definiram os probióticos como um suplemento alimentício de microrganismos vivos que afeta de forma benéfica o animal hospedeiro pelo seu incremento no balanço da flora intestinal.

Diversas outras definições de probióticos foram publicadas nos últimos anos (SAAD, 2006). Os probióticos são descritos como culturas de uma única espécie ou de várias espécies de microrganismos que, quando utilizadas por animais ou pelo homem, trazem benefícios à saúde, promovendo melhora nas características da microflora natural (STANTON *et al.*, 2001). A microflora natural é uma complexa população de microrganismos que exercem influência na saúde de seu hospedeiro (KLAENHAMMER, 1998).

Os produtos com probióticos representam um forte nicho entre os alimentos funcionais e muitas pesquisas são desenvolvidas com o objetivo de incorporar estes organismos aos alimentos. Os probióticos mais comumente estudados e utilizados como suplemento em alimentos pertencem ao gênero *Lactobacillus* e ao gênero *Bifidobacterium* (STANTON *et al.*, 1998; GARDINER *et al.*, 1999; ISOLAURI *et al.*, 2001; OHR, 2002), desde que tenham sido isolados da flora saudável do intestino delgado e intestino grosso humano, respectivamente (SAAD, 2006).

O termo probiótico é restrito aos produtos que contenham microrganismos vivos, ou seja, as culturas devem ser estáveis quando liofilizadas, congeladas ou suspensas e as células devem permanecer viáveis quando adicionadas ao alimento (KLAENHAMMER, 1998; STANTON *et al.*, 2001). Para um produto ser considerado um alimento probiótico deve apresentar contagem da população probiótica maior ou igual a $1,0 \times 10^7$ células viáveis/g ou mL do produto ($\log_{10}$ 7,0 UFC/g). Todavia, a quantidade mínima requerida e o período ideal para a administração dos probióticos para se obter efeitos benéficos para a saúde não estão claros, já que o número varia de acordo com a espécie do microrganismo e com o tipo de alimento (STANTON *et al.*, 2001; ZALAZAR *et al.*, 2004). A dose mínima terapêutica proposta é de $1,0 \times 10^5$ células viáveis/g ou mL do produto ($\log_{10}$ 5,0 UFC/g) (STANTON *et al.*, 2001; SONGISEPP *et al.*, 2004) e este deve ser consumido diariamente e em doses maiores que 100 g ao dia (KASIMOGLU *et al.*, 2004).

A função dos probióticos se dá devido à aderência destes microrganismos às células de revestimento da parede intestinal, prevenindo o crescimento de bactérias patogênicas. Os mecanismos pelos quais os benefícios são atingidos se dão através da modificação da microflora; do fortalecimento da barreira intestinal (por exemplo, aderência dos probióticos na mucosa intestinal, impedindo a adesão das bactérias patogênicas); modificação da atividade enzimática bacteriana, influência na permeabilidade da mucosa intestinal; produção de substâncias inibidoras; competição por nutrientes; degradação de receptores de toxinas e estímulo à imunidade (SALMINEN *et al.*, 1998; SAAD, 2006). Os produtos finais e os produtos secundários do metabolismo desses microrganismos são ácidos, o que diminui o pH intestinal, deixando-o abaixo daquele necessário para o desenvolvimento dos patógenos competitivos. Além disso, muitos Lactobacilos e Bifidobactérias produzem antibióticos naturais com amplo espectro de atividade (GIBSON, 2004).

O desenvolvimento de produtos contendo probiótico depende da capacidade do microrganismo em sobreviver aos processos de elaboração e estocagem do produto. Para trazer benefícios ao hospedeiro, as culturas de microrganismos devem ser de origem humana e devem alcançar o trato gastrointestinal em quantidade significativa, ou

seja, é necessário que os microrganismos sobrevivam às condições adversas da digestão como o pH ácido do estômago e aos ácidos biliares no intestino delgado e, após, colonizar o intestino (SAAD, 2006). Sendo assim, quando microrganismos são selecionados para compor alimentos é de fundamental importância que sejam consideradas as suas características de tolerância à passagem pelo trato gastrointestinal; aderência à mucosa intestinal humana; colonização temporária do trato gastrointestinal humano; produção de substâncias antimicrobianas e inibição do crescimento de patógenos. Além disso, estes microrganismos devem crescer e sobreviver aos processos de elaboração, maturação e estocagem do produto, bem como não afetar negativamente a qualidade do produto e ser seguro à saúde do consumidor (SALMINEN *et al.*, 1998; ISOLAURI *et al.*, 2001; STANTON *et al.*, 2001; ZALAZAR *et al.*, 2004).

Além dos benefícios em termos de nutrição e saúde que proporcionam, as culturas probióticas podem também contribuir para melhorar o sabor do produto final, possuindo a vantagem de promover acidificação reduzida durante a armazenagem pós-processamento (THAMER e PENNA, 2005).

Muitos produtos alimentícios estão sendo utilizados como carreadores das bactérias ácido lácticas, destacando-se, entre eles, os leites fermentados. Todavia, estudos mostram que o baixo pH dos leites fermentados pode ser inadequado para a sobrevivência de certas bactérias probióticas, e sugerem o queijo como veículo mais adequado para estas bactérias. O queijo, além de possuir maior pH e conteúdo lipídico que os leites fermentados, possui também uma matriz sólida, a qual pode proteger essas bactérias com maior eficiência, que o ambiente fluido do leite, durante o período de estocagem e também durante o trânsito no organismo humano. O efeito de proteção do queijo também se destaca quando comparado ao iogurte (ZALAZAR *et al.*, 2004; SONGISEPP *et al.*, 2004; KASIMOGLU *et al.*, 2004).

A adição de *Lactobacillus* em queijo está associada com a intensificação do sabor (ONG *et al.*, 2006). No caso do queijo prato, não apenas a textura, mas também o sabor são atributos importantes na determinação da qualidade. Assim, culturas adjuntas podem ser definidas como cepas selecionadas, de microrganismos

relacionados com queijos, que são adicionadas ao leite destinado à fabricação de queijos, que pode ser interessante no sentido de melhorar ou acelerar o desenvolvimento do *flavor* e a aceitação sensorial de queijo prato de baixo ou reduzido teor de gordura (EL SODA *et al.*, 2000; SILVA *et al.*, 2005; BARROS *et al.*, 2006).

Diversos tipos de queijos foram testados como veículos para cepas probióticas de *Lactobacillus* e de *Bifidobacterium*, revelando-se apropriados, entre eles, o Cheddar, o Gouda; o Crescenza, o Árzúa-Ulloa, e queijos frescos, incluindo o Minas frescal (GARDINER *et al.*, 1998; BURITI *et al.*, 2005b). Os probióticos do gênero *Bifidobacterium*, são os mais comumente adicionados em queijos, havendo poucos estudos científicos que relatam a adição de probióticos do gênero *Lactobacillus* em queijos (STANTON *et al.*, 1998; GARDINER *et al.*, 1999).

Os procedimentos a serem adotados para a avaliação de segurança, registro e comercialização de substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcionais e/ou de saúde estão descritos na Resolução RDC n^o 2, de 07 de janeiro de 2002. Segundo esta Resolução, no rótulo destes produtos, deve constar a quantidade dos microrganismos viáveis que garanta a ação alegada dentro do prazo de validade do produto. Esta informação deve estar próxima à alegação de propriedade funcional e/ou de saúde do produto e fora da Tabela de Informação Nutricional (ANVISA B, 2007).

Os microrganismos aprovados como probióticos são *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei shirota*, *Lactobacillus casei* variedades *ramnosus*, *defensis*, *Lactobacillus delbrueckii* subespécie *bulgaricus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterim lacatis*, *Biidobacterium longum* *Streptococcs salivarius* subespécie *thermoplillus* (ANVISA A, 2007).

As bactérias ácido-lácticas podem ser tanto adicionadas no início da fabricação do queijo, quanto serem contaminantes naturais do leite. Todos os representantes do grupo das bactérias ácido lácticas têm como principal função produzir ácido láctico a partir da lactose durante a fermentação, mas suas enzimas certamente contribuem para a maturação após a lise das células (BERESFORD *et al.*, 2001).

De acordo com o metabolismo de carboidratos, os *Lactobacillus* podem ser divididos em três grupos (TOMELIN e PEPLAU, 2005): a) Homofermentadores obrigatórios: fermentam hexoses predominantemente a ácido láctico, não fermentando pentoses; b) Heterofermentadores facultativos: ao fermentarem hexoses, produzem ácido láctico, acético, fórmico e etanol. As pentoses também podem ser fermentadas por meio da indução da enzima fosfocetolase; c) Homofermentadores obrigatórios: fermentam de hexoses a ácidos láctico e acético.

Os lactobacilos são largamente distribuídos no meio ambiente, especialmente em produtos de origem vegetal (superfícies de plantas) e animal. Também habitam normalmente o trato gastrintestinal de aves e mamíferos, além de colonizar o trato urogenital feminino dos mamíferos. Raramente são patogênicos (BIER, 1994; HOLT *et al.*, 1994; JAY, 1994, TOMELIN e PEPLAU, 2005).

As cepas de *L. casei* pertencem ao grupo *Streptobacterium*. Ao longo dos anos, a espécie *L. casei* foi classificada em cinco subespécies: ssp. *alactosus*; ssp. *casei*; ssp. *pseudopantarum*; ssp. *rhamnosus* e ssp. *tolerans*. *L. casei* ssp. *O* microrganismo *alactosus* difere de *L. casei* ssp, sendo que o *casei* devido à inabilidade em fermentar o lactato. A diferenciação inicial entre *L. casei*, *L. alactosus* e *L. rhamnosus* foi baseada na inabilidade em crescer a 15 e 45 °C e na fermentação da lactose e ramnose. *L. rhamnosus* cresce em ambas as temperaturas referidas e pode ser identificado bioquimicamente pela incapacidade de fermentar a rafinose e habilidade em fermentar a ramnose. O *L. rhamnosus* apresenta-se como bacilos não móveis, heterofermentativos, que crescem em temperaturas de 10 °C, porém alguns podem crescer em 15 e 45 °C. Produz ácido láctico e fermenta a amidalina, arbutina, celubiose, frutose, galactose, beta-gentiobiose, gluconato, glicose, lactose, manitol, manose, maltose, melezitose, N-acetilglicosamina, ramnose, ribose, salicina, sorbitol, turanose e trealose. Não possui a capacidade de hidrolisar arginina e uréia, porém hidrolisa a esculina (MACEDO, 2005).

O *L. rhamnosus* (LGG e ATCC 53103) é um microrganismo da flora intestinal saudável do homem e foi isolado em 1985 (GORBACH, 2002). Os efeitos benéficos deste microrganismo com relação à prevenção de distúrbios intestinais têm sido

largamente estudados. Comparando-se com outros microrganismos probióticos, o *L. rhamnosus* mostra melhor tolerância às condições do trato gastrointestinal e melhor sobrevivência quando adicionado aos alimentos funcionais. Este microrganismo tem a habilidade de aderir e colonizar a mucosa intestinal, modulando a resposta imunológica intestinal e preservando a integridade intestinal. Estudos revelam que a adesão dessa bactéria às superfícies biológicas pode ser promovida pela presença de um exopolissacarídeo bacteriano, auxiliado por outros fatores como pequenas moléculas, compostos protéicos e glicoproteínas. Segundo o autor, o papel fisiológico dessa exopolissacarídeo, como promotor da adesão, deve ser melhor investigado (LANDERSJO *et al.*, 2002). O *L. rhamnosus* GG é capaz de aderir à mucosa intestinal *in vivo* e de permanecer aderido por mais de uma semana após a descontinuidade da sua administração via oral (ALANDER *et al.*, 1999; CICHOSKI *et al.*, 2008).

Em estudo realizado com as bactérias do iogurte *Staphilococcus thermophilus*, *L. bulgaris* e *L. acidophilus* em leite fermentado, o *L. rhamnosus* apresentou melhor viabilidade perante as demais bactérias estudadas (OLIVEIRA e DAMIN, 2003). Em diferentes pesquisas realizadas com o objetivo de verificar os efeitos da suplementação oral com probióticos o *L. rhamnosus* GG apresentou os melhores efeitos quando administrado em crianças com diarreia causada por rota vírus (DRUNKLER *et al.*, 2005). Com exceção do *L. rhamnosus* GG, não se conhecem probióticos capazes de se instalar no trato digestivo do adulto, mesmo após ingestão prolongada. Mas eles permanecem viáveis durante sua passagem pelo sistema digestivo, razão pela qual são indicados como bioterapêuticos (NICOLI e VIEIRA, 2002).

A sobrevivência das bactérias probióticas no meio de fermentação depende das linhagens usadas, da interação entre espécies presentes, das condições de cultivo, da composição química do meio, da acidez final, conteúdo de sólidos, promotores e inibidores de crescimento, concentração de açúcares, oxigênio dissolvido (especialmente para bifidobactérias), quantidade de inóculo, temperatura de incubação, tempo de fermentação e temperatura de armazenamento (LOURENS-HATTINGH e VILJOEN, 2000).

2.2.3 Fibra alimentar

Em tempos recentes, os países ocidentais viram a prevalência do aumento da obesidade e uma forte evidência do consumo de uma dieta com muita gordura, falta de atividade física e baixo consumo de fibra dietética (SORDI *et al.*, 2006; NORONHA *et al.*, 2007). As fibras alimentares trazem benefícios na manutenção da saúde, prevenindo doenças, funcionam também como um componente na terapia médico nutricional, podendo ser obtida através dos alimentos (CORRÊA, 2002).

Na década de 70 enfatizou-se o estudo sobre fibras, principalmente com os questionamentos dos pesquisadores Denis Burkitt e Hugh Trowell acerca das diferenças entre as patologias existentes no Leste da África em comparação às comunidades ocidentais. Naquela época o conhecimento sobre os benefícios das fibras ainda era restrito, mas se sabia que dietas ricas em alimentos contendo material da parede celular de plantas em seu estado natural, eram protetoras contra uma série de doenças prevalentes nas comunidades ocidentais afluentes, como por exemplo, diabetes, doenças coronarianas, obesidade, doenças da vesícula biliar, e câncer de intestino grosso (COSTA, 2005).

A presença de fibra alimentar nos alimentos é de grande interesse na área da saúde, a partir dessas indagações, as pesquisas sobre fibras e os componentes relativos ao conteúdo não absorvível dos alimentos, tomaram proporção mais significativa e outros pesquisadores iniciaram suas investigações procurando também elaborar métodos eficientes para sua determinação. Durante as últimas décadas os conceitos foram aprimorados e, novas definições atribuídas. O conceito de fibra, originalmente definido como restos indigeríveis de plantas, evoluiu nos últimos anos, e segundo CORRÊA (2002), fibra alimentar é um termo genérico e abrange uma ampla variedade de substâncias que são resistentes à hidrólise pelas enzimas alimentares humanas do ponto de vista digestivo, mas que são fermentados pela microflora colônica e assim podem proporcionar efeitos benéficos à saúde (CALLEGARO *et al.*, 2005).

As fibras alimentares são partes de plantas ou carboidratos análogos que são resistentes à digestão e absorção no intestino delgado humano e que são completa ou

parcialmente fermentadas no intestino grosso, fornecendo energia principalmente para o crescimento bacteriano (GORDON, 2002; SAAD, 2006). Além destas propriedades fisiológicas, fibras cereais consistindo principalmente de celulose possuem propriedades tecnológicas vantajosas, tais como alto teor de água e capacidade de ligar gorduras e são ótimos ingredientes para alcançar altos rendimentos. De 1 a 3 % das fibras e certos alimentos pode também reduzir a retenção de lipídeos quando estes alimentos são fritos (SÁNCHEZ-ALONSO *et al.*, 2007).

As fibras alimentares podem ser divididas em duas categorias: fibra solúvel e fibra insolúvel, podendo ser classificadas conforme sua hidrossolubilidade, viscosidade, e com base nas suas propriedades físicas (capacidade de retenção, absorção, adsorção de água, ligação aos minerais, capacidade de troca catiônica e absorção de moléculas orgânicas) e funções fisiológicas (CORRÊA, 2000; GUTKOSKI e PEDÓ, 2000; OLIVEIRA e MARCHINI, 2000; COSTA, 2005).

As fibras solúveis incluem pectinas, mucilagens, beta-glicanos e algumas hemiceluloses (GUTKOSKI e PEDÓ, 2000; SILVA *et al.*, 2003). Exemplos de fibras insolúveis incluem a celulose, hemicelulose, lignina, cutina, suberina, ceras de plantas, quitina e quitosana (MILAGRES *et al.*, 2005).

Estudiosos têm recomendado aumento na ingestão de fibras na dieta, que pode advir da ingestão de grande variedade de produtos à base de grãos integrais, frutas e vegetais, inclusive leguminosas; entretanto, é impossível aumentar a fibra na dieta sem mudar também o conteúdo de gordura e proteína, uma modificação que também tem implicações sobre a saúde (MAHAN e SCOTT-STUMP, 2005). O Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos recomenda uma ingestão diária de fibras da ordem de 25 a 35 g/dia, 10 a 13 g/1000 kcal. A ingestão em excesso de fibras pode interferir com a absorção de cálcio e zinco, especialmente nas crianças e nos idosos (CORRÊA, 2002; MAHAN e SCOTT-STUMP, 2005).

A ingestão diária de fibra deve seguir a proporção fibra insolúvel: fibra solúvel de 3:1. Esta ingestão pode ser obtida com cinco porções ou mais de frutas e vegetais e seis porções diárias de pães de grão integral, cereais e legumes (MAHAN e SCOTT-

STUMP, 2005). As fontes mais concentradas de fibras alimentares são os grãos integrais, especialmente o grão de trigo (CORRÊA, 2002).

Dentre as fibras insolúveis merece destaque à celulose, pois é um carboidrato estrutural dos vegetais que resiste à hidrólise no trato digestivo humano. A celulose lembra o amido porque é feita de muitas moléculas de glicose em uma forma não ramificada similar a da amilose. A estrutura única da celulose é particularmente importante em termos de fornecimento alimentar. Apesar de a celulose consistir inteiramente de glicose, o trato digestivo humano é incapaz de reduzi-la a uma forma na qual possa ser absorvida no sangue. Conforme a celulose passa pelo trato digestivo para ser excretada, serve ao propósito útil de fornecer volume no intestino grosso, acelerando o trânsito intestinal. Entretanto, nenhuma energia é derivada de todas as moléculas de celulose. A celulose é encontrada apenas em materiais vegetais: polpa de frutas e vegetais, peles, talos, folhas e na cobertura externa dos grãos, nozes, sementes e leguminosas (FOOKS *et al.*, 1999; MAHAN e SCOTT-STUMP, 2005).

Um dos alimentos que possuem teor de celulose, ou seja, fibra insolúvel na sua composição é o farelo de trigo. O farelo de trigo representa o principal subproduto da moagem do trigo, constituindo-se de uma mistura heterogênea dos fragmentos dos grãos originada da camada hialina-aleurona da semente. As proteínas de melhor valor biológico, os minerais e as vitaminas que estão concentradas no farelo tornam-se uma fonte muito rica desses nutrientes (DI LENA *et al.*, 1997). Contudo, o valor nutritivo do farelo vai depender da sua biodisponibilidade e da digestibilidade de seus nutrientes. O teor de fibra alimentar total presente no farelo de trigo encontra-se em torno de 47,31 %, e, desse total, o teor de fibra insolúvel é cerca de 86 % e de 14 % as fibras solúveis (GUTKOSKI e PEDÓ, 2000).

Em razão do alto teor de fibras insolúveis no farelo de trigo, o seu principal efeito fisiológico é conferir um aumento no peso e no volume fecal, uma vez que a maior parte das fibras insolúveis não se degrada no cólon e pode reter água dentro de uma matriz, aumentando o peso fecal úmido de 3 a 6 g de fibra e ingerida na dieta facilitando a evacuação (SILVA *et al.*, 2003).

Os produtos lácteos são candidatos ideais para a adição de fibras. Alguns lácteos com fibra têm sido desenvolvidos, entre os quais, destacam-se sorvete, manteiga, queijo e iogurte (VAN DENDER *et al.*, 2005). Entretanto, não foram encontrados na literatura estudos sobre a adição de fibra de trigo em queijo.

Em estudo com o efeito das fibras dos farelos de trigo e aveia sobre o perfil lipídico no sangue de ratos, observou-se que a fibra de trigo exerceu efeito positivo sobre os níveis de triacilglicerol sérico dos ratos. As fibras insolúveis, por diminuírem o tempo de trânsito intestinal, diminuem a absorção de gorduras, podendo diminuir os níveis de triacilglicerol sérico (SILVA *et al.*, 2003). ANDERSON e HANNA (1999), após realizarem uma revisão neste assunto, constataram que em alguns trabalhos realizados com farelo de trigo houve uma redução média de 38 % nos níveis de triacilglicerol.

2.3 Gelatina

A gelatina é uma substância translúcida, incolor ou amarelada, praticamente insípida e inodora, que pode ser obtida aquecendo certos produtos animais, como ossos, pele e outras partes com tecido conectivo. É uma proteína derivada da hidrólise parcial do colágeno, em que as ligações moleculares naturais entre as fibras separadas de colágeno são quebradas, permitindo o seu rearranjo (WIKIPEDIA, 2007). As moléculas de gelatina, devido à sua estrutura dão firmeza às substâncias, sendo filiformes e são hidrofílicas (BALDASSO *et al.*, 2007).

Um terço dos aminoácidos da gelatina, é formado por glicina; outros 22 % de prolina e hidroxipolina e os restantes 45 % são distribuídos em 17 aminoácidos diferentes. Uma característica especial da gelatina é o seu alto teor de aminoácidos básicos e ácidos. Dos aminoácidos ácidos (ácido glutâmico e ácido aspártico), cerca de 1/3 apresenta-se na forma de amida, como glutamina e aspargina. Dos aminoácidos que contém enxofre (básicos), a metionina é o único presente, porém em pequena quantidade (GARCIA, 2005).

O comportamento físico e químico da gelatina é determinado pela seqüência de aminoácidos das moléculas, pela estrutura espacial resultante, pela distribuição da

massa molecular, assim como pelas condições do ambiente como pH, força iônica e reações com outras moléculas (GARCIA, 2005; SCHRIEBER e GAREIS, 2007).

Experiências práticas têm mostrado que muitos problemas são solucionados com o uso da gelatina como a formação de géis termorreversíveis e elásticos; ajuste da propriedade de fluidez de emulsão; prevenção de coalescência e separação de emulsão, em que estão dispersos óleos e glóbulos de gordura; prevenção da separação de fases em emulsões e cremes; prevenção da sinerese; fortalecimento de consistência e textura em produtos de baixo teor calórico (GELITA, 2007).

A gelatina em particular, é um excelente ingrediente para alimentos com teor reduzido de gordura, pois tem um perfil de derretimento similar ao da gordura. A gelatina é uma proteína isenta de carboidratos, gordura e colesterol. Quanto maior a redução de gordura, maior é a concentração de gelatina necessária para criar as características desejadas como substituto de gordura. Dissolve-se facilmente em água, mas requer aquecimento para a dissolução completa. Ela pode ser introduzida na fase aquosa e deve ser dissolvida em uma relação de 1:3 (gelatina: água). É um ingrediente que não desencoraja o consumidor quando declarada nas embalagens, por apresentar naturalmente um apelo saudável (GARCIA, 2005).

Conforme demonstrado na revisão da literatura observa-se uma escassez de informações a respeito do emprego de gelatina, fibra de trigo e probiótico em produtos lácteos, em especial no queijo, por este motivo buscou-se fazer o acompanhamento do queijo tipo prato elaborado com leite contendo 1,3 % de gordura, visando acompanhar o comportamento destes componentes em diferentes concentrações, em relação ao índice de proteólise, aos fatores que afetam a maturação, com o objetivo de desenvolver um produto novo com características funcionais e probióticas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Neste item será apresentada a metodologia e os materiais necessários para a fabricação do queijo tipo Prato, os procedimentos de amostragem das análises físico-químicas (pH, acidez, umidade, gordura, lactose, fibra-bruta, proteína total e frações nitrogenadas: nitrogênio total (NT), nitrogênio solúvel total (NST), não protéico (NNP)), contagem de bactérias lácticas e análise sensorial dos queijos tipo Prato, bem como a análise estatística dos resultados.

3.1 Fabricação do Queijo tipo Prato

O processamento dos queijos foi realizado na usina piloto de leite e derivados da URI Campus de Erechim (RS).

O leite utilizado na elaboração dos queijos foi pasteurizado na Corlac S.A., a 73 °C por 15 segundos, e padronizado com 1,3 % de gordura. Foi transportado até a Universidade em tarros plásticos, e ao chegar à usina foi imediatamente armazenado em tanque de resfriamento de aço inox de parede dupla com sistema de refrigeração (Equilati) à temperatura de 4 °C, para em seguida ser utilizado na fabricação dos queijos.

Os queijos foram fabricados pelo método tradicional (OLIVEIRA, 1986) modificado, conforme fluxograma apresentado na Figura 3.1. Na elaboração das formulações, utilizou-se tanque de inox (Equilati) com capacidade para 50 L de leite, onde se colocou 10 L de leite, sendo que o mesmo foi aquecido a 34 °C através da injeção de vapor na camisa do tanque. Em seguida, adicionou-se 4 mL de solução de cloreto de cálcio (40 %) (Chr Hansen) e 4 mL de corante de urucum (Chr Hansen). As concentrações de gelatina (Gel-lac gelatina especial para lácteos, Gelita), fibra de trigo (Vitacel, WF 600) e o probiótico - *Lactobacillus rhamnosus* (Danisco Brasil Ltda) variaram seguindo um planejamento experimental 2³, conforme os níveis indicados na Tabela 3.1. A gelatina foi dissolvida em 1000 mL de leite a 34 °C e após incorporada ao

restante do leite. A fibra, o probiótico e 9 mL de coagulante líquido quimosina (Chymax, Chr Hansen) foram adicionados diretamente no leite.

A temperatura de coagulação foi de 34 °C e o corte do gel efetuado com as liras (vertical e horizontal), em cubos de aproximadamente 0,5 cm de aresta. Iniciou-se a agitação, 5 minutos após o corte e foi do tipo lenta. Posteriormente, realizou-se o aquecimento indireto da massa até 40 °C, elevando-se a temperatura gradativamente. Ao atingir o ponto da massa, efetuou-se a primeira dessoragem, com a retirada de aproximadamente 80 % do soro. A salga foi realizada na massa, com cloreto de sódio (Cisne) na razão de 2 % sobre o peso da massa.

Posteriormente realizou-se a enformagem em formas retangulares de 0,25 kg, que foram submetidas a duas etapas de prensagem. A primeira etapa ocorreu a 2 lbf/pol² durante 90 minutos, enquanto que a segunda etapa de prensagem ocorreu a 3 lbf/pol² por 90 minutos, com posição invertida dos queijos dentro das formas e das formas na prensa. Após a prensagem, os queijos foram embalados a vácuo (-690 mmHg), em máquina Selovac - Sistemas de vácuo 200 B, em embalagens plástica termoencolhível (Supravac VC2 - 55 micras, poliamidas (Nylon) e EVA (Etileno Vinil Acetato) em estruturas coextrusadas) e armazenados em câmara fria (Cia do aço - Jalp) a 15 °C durante 60 dias.

Tabela 3.1 - Valores utilizados no planejamento fatorial completo 2³ (com triplicata do ponto central) na fabricação do queijo tipo prato, para as variáveis gelatina, fibra de trigo e o probiótico.

Variáveis independentes	Códigos	Níveis		
		-1	0*	+1
Gelatina (g/L)	X ₁	0	5	10
Fibra de trigo (g/L)	X ₂	0	5	10
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> (g/L)	X ₃	0	0,007	0,014

*Ponto central

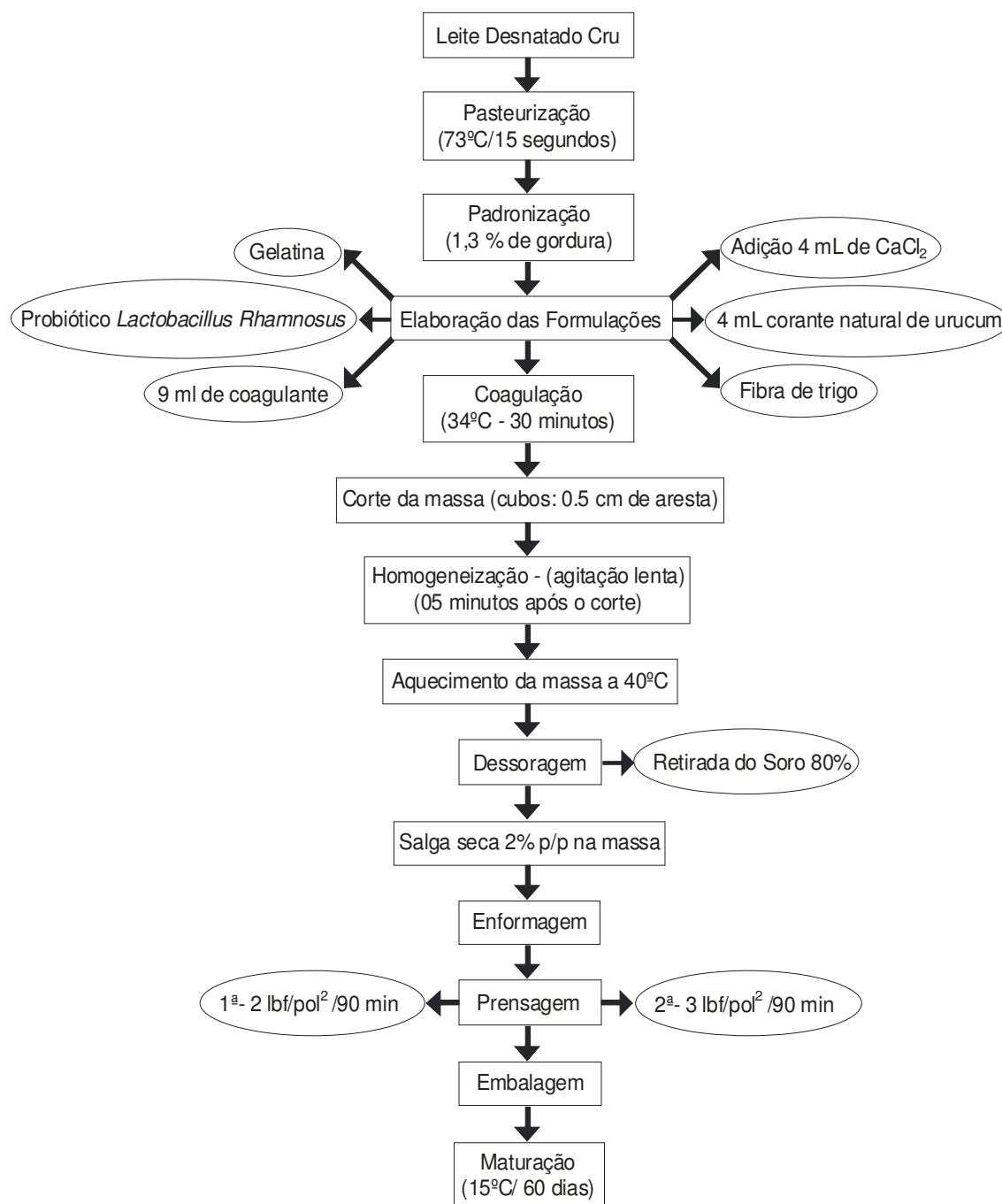


Figura 3.1 - Fluxograma do processo de elaboração do queijo tipo Prato com reduzido teor de gordura.

3.2 Procedimento de amostragem e das análises realizadas

As determinações físico-químicas e microbiológicas nos queijos foram realizadas no 2^o, 30^o e 60^o dia de armazenamento, enquanto que as determinações físicas e as avaliações sensoriais foram realizadas somente no 30^o e 60^o dia.

3.3 Análises físico-químicas

Para as análises físico-químicas (pH, acidez, umidade, gordura, lactose, fibra-bruta, proteína total e frações nitrogenadas: nitrogênio total (NT), nitrogênio solúvel total (NST), não protéico (NNP), o queijo foi aleatoriamente escolhido e triturado em multiprocessador, homogeneizado e realizado o quarteamento manual, para ser utilizado nas determinações analíticas, constituindo-se assim uma amostra representativa. As análises foram realizadas em duplicata. Para a determinação de fibra-bruta, inicialmente, as amostras foram desengorduradas pelo método de soxhlet (BRASIL, 2005).

3.3.1 Determinação do pH

O pH foi determinado pelo método potenciométrico, utilizou-se pHmetro (Marconi PA - 200) previamente calibrado em solução tampão pH 4 e 7 numa mistura contendo 10 g de amostra de queijo em 100 mL de água destilada a temperatura de (20 °C) introduzindo o eletrodo na solução, conforme método n.º 4022, AOAC (2000).

3.3.2 Determinação da acidez total

A acidez total foi determinada por titulação da amostra com hidróxido de sódio N/9 (solução Dornic), em presença do indicador fenolftaleína, segundo método n.º 947.05 AOAC (2000). O resultado foi expresso em g/100 g de compostos com caráter ácido expresso em ácido láctico.

3.3.3 Determinação da Umidade

A determinação da umidade do queijo foi determinada gravimetricamente em estufa de recirculação (Fanem – 320 - SE) a 105 °C por aproximadamente 4 h e/ou até peso constante, segundo metodologia descrita por BRASIL (2005).

3.3.4 Determinação da gordura

A gordura foi determinada conforme metodologia descrita pela norma FIL-IDF 5B (1986). A amostra foi previamente digerida em HCl à 25 % (v/v), e extração realizada com a mistura de éter etílico e petróleo (1:1 v/v) e quantificação pelo método gravimétrico em estufa de recirculação (Fanem – 320 – SE) à 105 °C, até peso constante.

3.3.5 Determinação da lactose

A lactose foi determinada pelo método Munson-Walker, conforme metodologia descrita pela norma FIL-IDF 28A (1974). As amostras de queijo foram previamente solubilizadas em água e submetidas à desproteínização com ferrocianeto de potássio a 15 % (p/v) e sulfato de zinco a 30 % (p/v) em bomba de vácuo (Tecnal – TE - 058). O óxido de cobre I, obtido na reação do sulfato de cobre II e a lactose, foram filtrados e dessecados em estufa de recirculação (Fanem – 320 – SE) a 105 °C. Os miligramas de óxido de cobre I foram convertidos em gramas de lactose anidra conforme Tabela I (Tabela de Panreac) que se Anexo.

3.3.6 Determinação da fibra bruta

A fibra bruta foi determinada pelo método (detergente ácido-básico) conforme metodologia proposta por BRASIL (2005). Utilizou-se 2 g de amostra seca, triturada, colocando-a em um cadinho filtrante de vidro, previamente seco em estufa (Fanem – 320 - SE) a 105 °C, por 2 horas e em mufla (Brasimet) a 550 °C durante 30 minutos. Os cadinhos foram conectados ao sistema de extração e após adicionou-se 150 mL de ácido sulfúrico a 1,25 %, previamente aquecido, levou-se a amostra em ebulição por 30 minutos. A digestão básica foi efetuada adicionando-se 150 mL de hidróxido de sódio a 1,25 % aquecido, e levados em ebulição por mais 30 minutos em bomba a vácuo (Tecnal – TE- 058). Após as digestões ácida e básica, os cadinhos foram

lavados com 3 porções de 50 mL de água aquecida e posteriormente adicionou-se 10 mL de acetona. Os cadinhos foram levados na estufa por 4 horas e posteriormente, submetidos à incineração em mufla a 550 °C por 3 horas.

3.3.7 Frações Nitrogenadas

3.3.7.1 Nitrogênio total e/ou proteína total

A quantidade de nitrogênio total nas amostras foi determinada, pelo método de Kjeldahl, segundo metodologia nº 920.123 da AOAC (2000). A proteína total foi determinada, em destilador (VELP- UDK 126 A), e o valor foi obtido utilizando-se o teor de nitrogênio total multiplicando pelo fator de correção 6,38.

3.3.7.2 Nitrogênio solúvel a pH 4,6

O teor de nitrogênio solúvel (NS) do queijo foi determinado após precipitação isoelétrica das caseínas com solução de ácido clorídrico 1,41 N até pH 4,6, em uma amostra de queijo, previamente solubilizada em citrato de sódio 0,5 M. A quantificação dessas substâncias solúveis foram feitas segundo LINCHSTEIN e OGINSKY (1965).

3.3.7.3 Nitrogênio não protéico solúvel em TCA 12 %

As amostras de queijo previamente solubilizadas em citrato de sódio 0,5 M, foram precipitadas em solução final (12 %) com ácido tricloroacético (TCA) e filtradas em papel de filtro Whatman n.º 3 (F1- $88 \pm 4\text{g/m}^2$, $12,5 \pm 0,1$ cm) coletando-se uma solução límpida com peptídeos de baixo peso molecular e aminoácidos. O nitrogênio total contido na solução foi quantificado pelo método Kjeldahl, de acordo com VAKALERIS e PRICE (1959).

3.3.7.4 Índices de extensão e profundidade da proteólise do queijo

Para cálculo dos índices de extensão da maturação e da profundidade da proteólise durante a maturação nos queijos, empregou-se as fórmulas citadas por WOLFSCHOON-POMBO (1983).

O índice de extensão da maturação foi calculado levando em consideração a relação entre a porcentagem de nitrogênio solúvel a pH 4,6 e a porcentagem de nitrogênio total (Equação 3.1), que foram relatados nos itens 3.3.7.2 e 3.3.7.1.

$$\text{Índice de Extensão} = \frac{\text{Nitrogênio solúvel a pH 4,6} \times 100}{\text{Nitrogênio total}} \quad (3.1)$$

O índice da profundidade da maturação, foi calculado levando em consideração a relação entre a porcentagem de nitrogênio não protéico e nitrogênio total (Equação 3.2), que foram relatados nos itens 3.3.7.3 e 3.3.7.1.

$$\text{Índice de Profundidade} = \frac{\text{Nitrogênio solúvel em TCA 12\%} \times 100}{\text{Nitrogênio total}} \quad (3.2)$$

3.4 Análises físicas

3.4.1 Rendimento dos queijos

A avaliação do rendimento dos queijos foi calculada segundo a Equação 3.3:

$$\text{Rendimento (Kg queijo / 100Kg de leite)} = \frac{\text{massa de queijo obtida}}{\text{massa de leite utilizada}} \quad (3.3)$$

3.5 Análises microbiológicas

Para a análise microbiológica (contagem de bactérias lácticas), os queijos foram aleatoriamente escolhidos, retirando-se três fatias (com aproximadamente 1 cm de espessura) representativas do queijo. As fatias foram trituradas em pequenos cubos e homogeneizadas.

3.5.1 Bactérias lácticas

Pesou-se 25 g da amostra em embalagem plástica para *Stomacher* (Sward – Laboratory Blender - Stomacher 400) e adicionou-se 225 mL de água peptonada 0,1 %. Homogeneizou-se a mistura durante 60 segundos, obtendo-se assim a

diluição na 10^1 . A partir desta diluição foram preparadas as diluições subseqüentes necessárias para a análise. A inoculação foi realizada em meio Agar De Man, Rogosa & Sharpe (MRS) pelo método de plaqueamento em profundidade, onde foi adicionada 1 mL da diluição da amostra, e uma sobre camada com meio Agar- Agar. As placas foram incubadas durante 72 horas, a temperatura de 29 °C (FRANCO e LANDGRAF, 2005).

3.6 Análise Sensorial

Nas avaliações sensoriais, os queijos foram cortados em cubos de aproximadamente 2 cm de aresta e servidos em pratos plásticos codificados com números aleatórios de 3 dígitos e com distribuição balanceada.

Foi realizado um teste de aceitação do consumidor, com escala hedônica estruturada de 9 pontos (1 - desgostei muitíssimo e 9 - gostei muitíssimo), onde foram avaliados, separadamente, os seguintes atributos: sabor, textura e aceitação geral, segundo metodologia descrita por FARIA e YOTSUYANAGI (2002). As amostras foram avaliadas após 30 e 60 dias de armazenamento refrigerado a 15 °C.

A análise sensorial foi realizada em escala laboratorial, com 30 a 40 provadores não treinados de ambos os sexos, de diferentes faixas etárias (20 a 50 anos), que apresentaram interesse e hábito de consumo regular variável do produto. As amostras (~ 2 cm de arestas) foram distribuídas em pratos plásticos codificados com números aleatórios de 3 dígitos, distribuição balanceada, juntamente com amostra do branco (água potável e biscoito salgado) (Figura A.1, Apêndice A). Os avaliadores preencheram uma ficha de avaliação (Figura A.2 Apêndice A.) dos atributos durante o desenvolvimento do teste. As avaliações foram realizadas em cabines individuais, empregando luz natural e fluorescente.

3.7 Análise estatística dos dados

Os efeitos das variáveis independentes investigadas (fibra de trigo, gelatina e probiótico) nas características físico-químicas, bactérias lácticas e sensoriais foram avaliados estatisticamente mediante análise do planejamento

fatorial 2^3 , utilizando *software* STATISTICA versão 5.0 (Statsoft Inc, USA), estabelecendo valores dos coeficientes de regressão, desvios padrão e valores de p e t, e/ou representados por gráfico de Pareto. Os resultados, também foram avaliados estatisticamente pela análise de variância e os parâmetros que não foram significativos foram adicionados à falta de ajuste para a análise a nível de 5 e/ou 1 %. Os resultados no 2^o dia de armazenamento para a fibra de trigo foram analisados estatisticamente pela análise de variância a nível de 5 %, seguida de Teste de Tukey para verificar diferenças entre as médias.

A análise de variância (ANOVA) seguida de Teste de Tukey foi usada no ponto central do planejamento para verificar diferenças entre os tempos de armazenamento.

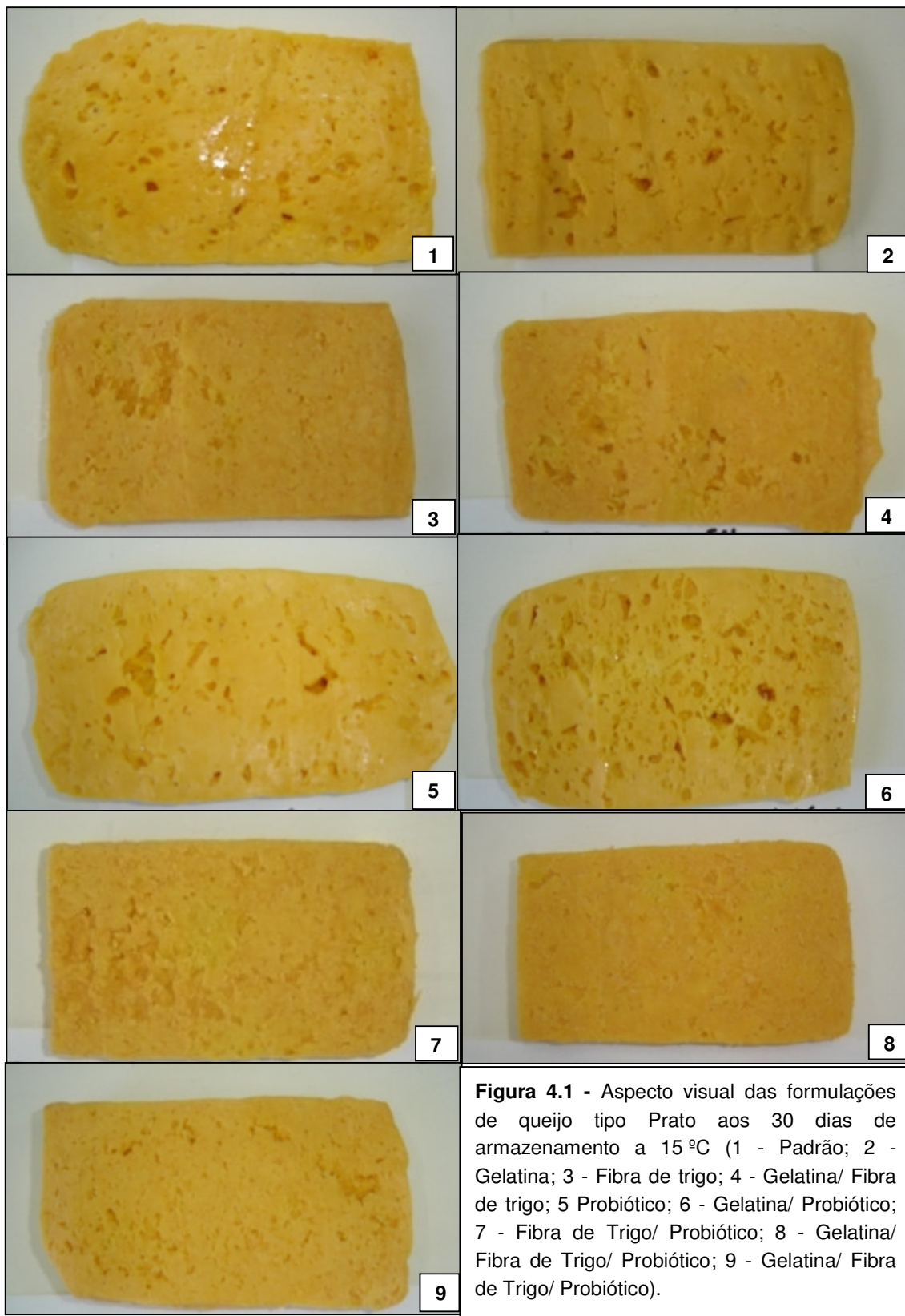
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

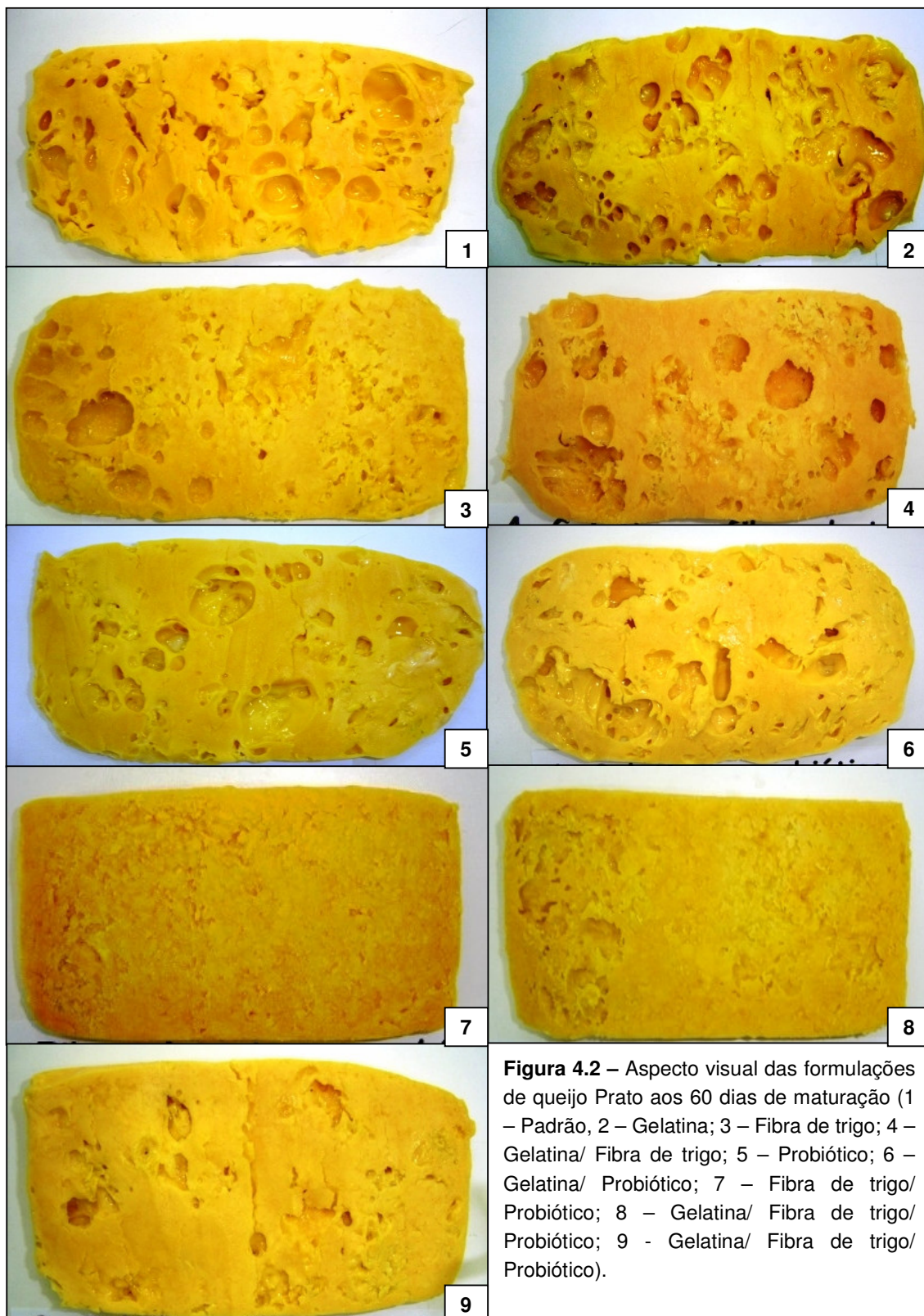
Neste item serão apresentados os resultados e discussões referentes aos efeitos da adição de fibra de trigo, gelatina e probiótico, na evolução de parâmetros físicos, físico-químicos, contagem de bactérias lácticas e análises sensoriais dos queijos tipo Prato, durante período de armazenamento.

4.1. Aspectos físicos dos queijos

O queijo tipo Prato apresentou formato retangular (11,5 cm de comprimento, 6,8 cm de largura e 7,5 cm de altura) e peso médio de 250 g. Em relação ao aspecto visual os queijos ao 30^º dia de armazenamento (Figura 4.1), apresentaram consistência elástica, textura macia e compacta e com algumas olhaduras bem distribuídas de tamanhos variados. As formulações com a adição de fibra de trigo (Ensaio 3, 4, 7, 8 e 9) apresentaram consistência mais firme e compacta e esfarelenta ao corte. No entanto, os queijos que possuíam em sua composição gelatina e probiótico (Ensaio 2, 5 e 6) as olhaduras foram mais pronunciadas e as características visuais foram semelhantes ao Ensaio 1 (padrão). A cor amarela predominante deve-se a adição do corante natural de urucum.

Os queijos aos 60 dias de armazenamento apresentaram textura macia e compacta e olhaduras bem distribuídas e de tamanhos variados (Figura 4.2). Em relação aos ensaios 7 e 8 observou-se uma consistência mais firme e compacta, e esfarelenta ao corte. Já os ensaios 2, 3, 4, 5 e 6 se apresentaram semelhantes ao ensaio 1 (padrão) onde foi adicionada gelatina, fibra de trigo e probiótico. Aos 60 dias de armazenamento o ensaio 9 (ponto central), ficou semelhante ao ensaio 1 (padrão), em relação a presença de olhaduras, mas o ensaio 1 (padrão) apresentou maior número de olhaduras, porém em relação à textura, apresentou-se um pouco mais firme e compacta.





A Tabela 4.1 apresenta os valores reais e codificados da matriz do planejamento fatorial completo 2^3 com as respostas em rendimento (kg queijo/100 kg de leite).

O rendimento dos queijos pode ser afetado durante as etapas de corte, agitação da massa e retirada de soro, pois estas etapas contribuem para o deslocamento de gordura, finos de caseína, proteína, lactose e sais minerais afetando conseqüentemente o rendimento do queijo (VAN DENDER, 1999; WALSTRA *et al.*, 1999).

Tabela 4.1 - Matriz do planejamento fatorial completo 2^3 (valores reais e codificados) e resposta em rendimento dos queijos tipo Prato.

Ensaio	* Variáveis independentes			Rendimento (kg de queijo/100 kg de leite)
	X ₁	X ₂	X ₃	
1	0 (-1)	0 (-1)	0 (-1)	9,40
2	10 (1)	0 (-1)	0 (-1)	8,70
3	0 (-1)	10 (1)	0 (-1)	8,75
4	10 (1)	10 (1)	0 (-1)	9,40
5	0 (-1)	0 (-1)	0,014 (1)	9,35
6	10 (1)	0 (-1)	0,014 (1)	9,15
7	0 (-1)	10 (1)	0,014 (1)	8,85
8	10 (1)	10 (1)	0,014 (1)	8,90
9	5 (0)	5 (0)	0,007 (0)	9,15
10	5 (0)	5 (0)	0,007 (0)	9,10
11	5 (0)	5 (0)	0,007 (0)	9,05

*X₁ = gelatina (g/L); X₂ = Fibra de trigo (g/L); X₃ = probiótico (g/L).

Os maiores rendimentos foram obtidos nos ensaios 4 e 5 com valores de 9,40 e 9,35 kg de queijo/100 kg de leite, respectivamente. No ensaio 1 (padrão) quando do corte da coalhada foram obtidos grãos maiores, que influenciaram no rendimento, que foi de 9,40 kg de queijo/100 kg de leite. A partir do ensaio 2 os grãos da coalhada foram menores. O ensaio 2 apresentou menor rendimento, mesmo sendo adicionado gelatina, pois foi o primeiro ensaio onde a mesma foi empregada, não

ocorrendo total dissolução da gelatina no leite, associado aos menores grãos de coalhada obtidos. Os demais ensaios estão próximos dos valores esperados para queijo tipo Prato.

Segundo FURTADO e LOURENÇO NETO (1994) um bom rendimento para queijo tipo Prato encontram-se na faixa entre 9,0 a 9,5 L de leite/kg de queijo. Os queijos pertencentes ao ponto central 9, 10 e 11 (Tabela 4.1), apresentaram rendimento de 9,15, 9,10 e 9,05 kg de queijo/100 kg de leite, respectivamente, estando estes valores dentro da faixa de um bom rendimento para queijo, conforme citado na literatura.

A Tabela 4.2, apresenta os coeficientes de regressão, desvio padrão e valores de p e t para o rendimento dos queijos, onde observa-se a interação fibra de trigo e gelatina exerceu influência significativa ($p < 0,05$) positiva e a variável independente fibra de trigo e a interação fibra e probiótico exerceram influência negativa sobre o rendimento.

Tabela 4.2 - Resultados do coeficiente de regressão e desvio padrão provenientes do planejamento fatorial completo para o rendimento dos queijos tipo Prato.

	Coef. de regressão	Desvio padrão	t (2)	p
Média*	9,07	0,015	601,82	0,000003
(1)Gelatina(L)	-0,025	0,017	-1,41	0,292893
(2)Fibra de trigo(L)*	-0,087	0,017	-4,95	0,038476
(3)Probiótico(L)	0,00	0,017	0,00	1,000000
1L x 2L*	0,20	0,017	11,31	0,007722
1L x 3L	-0,012	0,017	-0,71	0,552786
2L x 3L*	-0,10	0,017	-5,66	0,029857

*fatores estatisticamente significativos ($p < 0,05$).

O conhecimento do rendimento das formulações é de extrema importância, pois segundo AUGUSTO (2003) e SPADOTI *et al.* (2003), nas indústrias queijeiras, as principais preocupações são a qualidade e o rendimento, tendo em vista a maximização de seus lucros, sendo o rendimento um fator chave para garantir a sobrevivência de uma indústria no mercado. O rendimento poderá ser definido em termos de rendimento econômico, que se refere à quantidade de massa de queijo produzida em relação ao volume de leite utilizado na produção, e/ou rendimento

técnico, que se refere ao aproveitamento dos constituintes do leite que são transferidos ao queijo, ou seja, o aproveitamento de elementos como gordura, proteínas totais (ou somente caseína), extrato seco total desengordurado, entre outros (ALEGRO, 2003). Neste estudo, utilizou-se o rendimento denominado econômico, segundo a definição acima, para avaliar os queijos estudados.

CUNHA *et al.* (2006), verificaram que os queijos com baixo teor de gordura caracterizam-se por apresentarem rendimento econômico menor, quando comparados aos queijos tradicionais, e FURTADO (2000), afirma que os principais fatores que influenciam no rendimento dos queijos são a composição do leite, principalmente a quantidade de gordura e caseína, a porcentagem de transição dos constituintes do leite para queijo e a quantidade de umidade retida no queijo, além da incorporação de sais insolúveis e concentração de sal (NaCl) adicionado à massa.

Os coeficientes de regressão que não tiveram significância ($p < 0,05$) foram adicionados à falta de ajuste para a análise de variância (ANOVA) apresentada na Tabela 4.3. A Equação 4.1 apresenta o modelo codificado que descreve o rendimento do queijo tipo Prato em função da adição de fibra de trigo e interação entre gelatina e fibra de trigo e fibra de trigo e probiótico.

Tabela 4.3 - Análise de variância para o rendimento dos queijos tipo Prato.

Fontes de Variação	Somas de Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado
Regressão	0,46	3	0,15	6,50
Resíduos*	0,16	7	0,024	
Falta de ajuste	0,16	5		
Erro puro	0,005	2		
Total	0,63	10		

*Resíduos = Falta de Ajuste + Erro puro; $F_{\text{tab}, 95\%} = 4,35$; Coeficiente de correlação: $R = 0,86$.

Verifica-se também a partir da Tabela 4.3 que o coeficiente de correlação obtido (0,86), e o valor de F calculado de 1,49 vezes superior ao F tabelado validaram o modelo e permitiram a construção das curvas de contorno representadas na Figura 4.3.

Equação 4.1:

$$\text{Rendimento} = 9,07 - 0,087 \cdot X_2 + 0,20 \cdot X_1 \cdot X_2 - 0,10 \cdot X_2 \cdot X_3 \quad (4.1)$$

onde:

Rendimento = kg de queijo/100 kg de leite; X_1 = Gelatina; X_2 = Fibra de trigo; X_3 = Probiótico

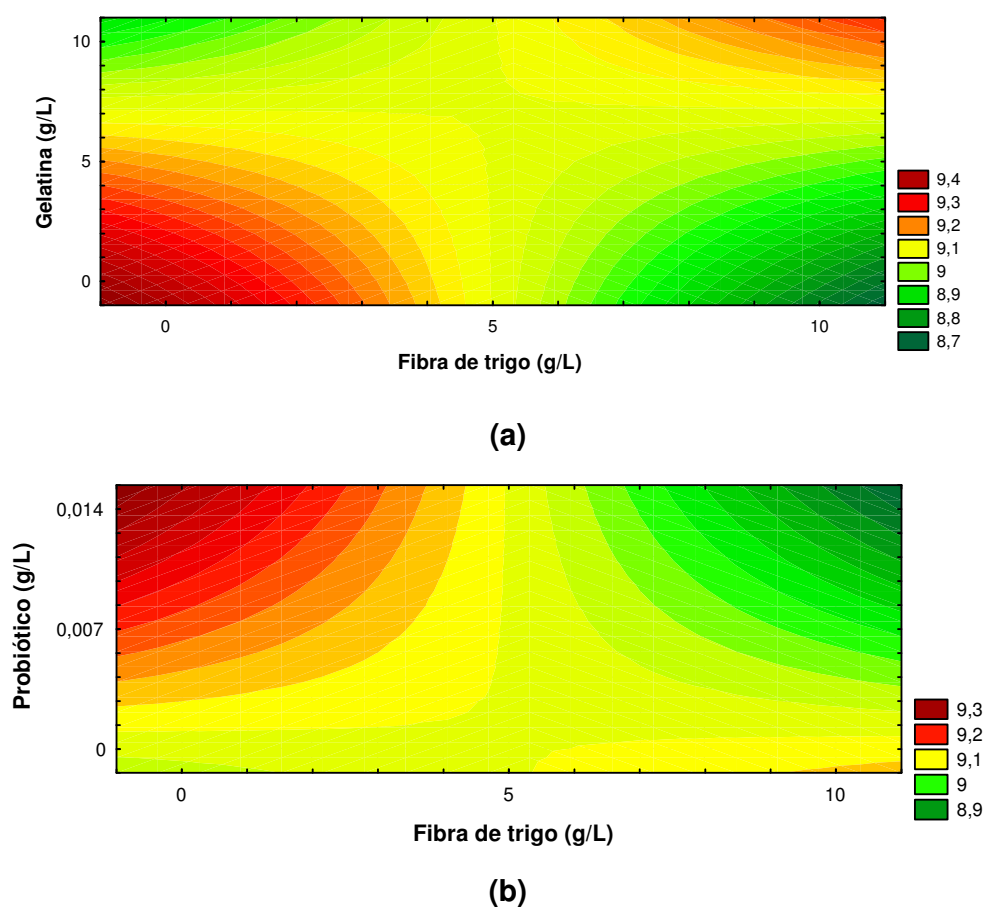


Figura 4.3 - Curvas de contorno para o rendimento (kg de queijo/100 kg de leite) dos queijos tipo Prato, (a) Fibra de trigo e gelatina e (b) Fibra de trigo e probiótico.

De acordo com a Figura 4.3 (a) observa-se que os maiores rendimentos foram obtidos nas faixas de menores concentrações de fibra de trigo e gelatina. E na

Figura 4.3 (b), o maior rendimento está na faixa de concentração máxima de probiótico e mínima de fibra de trigo.

4.2 Características físico-químicas dos queijos

As características físico-químicas (umidade, pH, acidez, lactose, proteína, gordura e fibra) dos queijos no 2^o, 30^o e 60^o dia de armazenamento, foram analisadas estatisticamente a partir do planejamento fatorial completo 2³, sendo que os resultados e as discussões serão descritos a seguir.

4.2.1 Umidade

A Tabela 4.4, apresenta a matriz do planejamento fatorial completo 2³ (valores reais e codificados) e a resposta da umidade para o 2^o, 30^o e 60^o dias de armazenamento a 15 °C dos queijos tipo Prato.

Verifica-se na Tabela 4.4 que ocorreram poucas variações na umidade dos queijos no decorrer do armazenamento (51 a 54 % no ponto central), e conseqüentemente não apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$), em virtude do emprego da embalagem à vácuo. GALLINA *et al.* (2002) também obtiveram teores de umidade em torno de 55 % em queijo tipo Prato *light* com *Lactobacillus* como cultura adjunta. O mesmo foi verificado por VIANNA (2006), em queijo tipo Prato tradicional embalado a vácuo em embalagem termoencolhível e armazenado a 12 °C durante 54 dias, onde a umidade permaneceu constante entre 44 a 47 %.

De acordo com o conteúdo de umidade (%), os queijos são classificados pelo regulamento técnico de identidade e qualidade, Portaria n^o 146, de 07 de março de 1996 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2007a) em: queijos de baixa umidade (até 35,9 %), média umidade (36 a 45,9 %), alta umidade (46 a 54,9 %) e muita alta umidade (superior a 55 %). No 2^o dia de armazenamento, os ensaios 1, 2, 4, 5 e 6 apresentaram teores de umidade superiores a 55 %, se enquadrando nos tipos de queijo de muita alta umidade. Os queijos contendo fibra de trigo (ensaios 3, 4, 7, 8, 9, 10 e 11) aos 30 dias de armazenamento, apresentaram conteúdo de umidade entre 49,3 a 54,8 %, classificando-os como

queijos de alta umidade. Aos 60 dias de armazenamento, nos ensaios 1, 2, 5 e 6, os queijos se classificaram na faixa de muita alta umidade.

Tabela 4.4 – Matriz do planejamento fatorial completo 2^3 (valores reais e codificados) e os resultados de umidade para o 2º, 30º e 60º dia de armazenamento a 15 °C em queijo tipo Prato.

Ensaio	* Variáveis independentes			Umidade (g/100g)		
	X ₁	X ₂	X ₃	2º dia	30º dia	60º dia
1	0 (-1)	0 (-1)	0 (-1)	57,9	56,7	55,1
2	10 (1)	0 (-1)	0 (-1)	58,1	57,0	55,8
3	0 (-1)	10 (1)	0 (-1)	50,1	49,3	52,7
4	10 (1)	10 (1)	0 (-1)	55,1	53,1	52,8
5	0 (-1)	0 (-1)	0,014 (1)	58,0	56,2	56,1
6	10 (1)	0 (-1)	0,014 (1)	58,2	58,8	56,8
7	0 (-1)	10 (1)	0,014 (1)	51,1	51,6	50,1
8	10 (1)	10 (1)	0,014 (1)	51,9	51,9	50,0
Y **9,10,11	5 (0)	5 (0)	0,007 (0)	54,1 ^a (± 1,4)	54,8 ^a (± 1,9)	51,5 ^a (± 1,6)

*X₁ = gelatina (g/L); X₂ = Fibra de trigo (g/L); X₃ = probiótico (g/L), Y = ponto central (3 pontos);

** letras iguais nas linhas (2, 30 e 60 dias de armazenamento) não diferem à nível de 5% (Teste Tukey).

SILVEIRA e ABREU (2003) obtiveram em queijo tipo prato com um dia de armazenamento, valores de 45,8 a 47,38 % de umidade, e ressaltam que um maior teor de umidade provoca maior maciez da massa do queijo, entretanto, deve-se considerar que este fator leva à diminuição do período de validade do produto. Valores semelhantes de umidade (47,11 %) foram encontrados por SPADOTI *et al.* (2005) em queijo tipo Prato com 10 dias de armazenamento. Em queijo do tipo Prato adicionado de *Bifidobacterium lactis*, os teores de umidade encontrados estavam acima do recomendado pela legislação, porém os autores atribuíram o maior teor de umidade dos queijos a possíveis falhas durante o processo de fabricação tais como tempo de semicozimento, temperatura final atingida pela massa e grau de dessoragem (DELLA VECHIA *et al.*, 2005).

A Tabela 4.5 mostra que a fibra de trigo foi a variável independente que exerceu influência significativa ($p < 0,05$) negativa sobre a umidade no 2º dia de armazenamento, uma vez que nos ensaios onde foi adicionada a maior concentração de fibra de trigo na formulação, obteve-se os menores teores de umidade. No entanto, os queijos contendo probiótico e gelatina, neste período de armazenamento, apresentaram teor de umidade entre 55,8 a 58,8 %, e podem ser classificados como queijos de muita alta umidade. Possivelmente, este maior valor de umidade esteja atribuído à gelatina que apresenta a capacidade de reter água, e está atuando como substituto de gordura, nesse trabalho foi adicionado com este objetivo, uma vez que o leite empregado foi previamente desnatado. Segundo MALLETT *et al.* (2007). Os substitutos de gorduras atuam aumentando a porcentagem de água retida no queijo e com isto tornam os queijos mais macios.

Tabela 4.5 - Resultados do coeficiente de regressão e desvio padrão provenientes do planejamento fatorial completo 2^3 , para umidade no 2º dia de armazenamento a 15 °C.

	Coef. de regressão	Desvio padrão	t (2)	p
Média*	54,77	0,41	133,40	0,00006
(1)Gelatina(L)	0,77	0,48	1,59	0,25086
(2)Fibra de trigo(L)*	-2,98*	0,48	-6,19	0,02508
(3)Probiótico(L)	-0,25	0,48	-0,53	0,64927
1L x 2L	0,68	0,48	1,41	0,29334
1L x 3L	-0,52	0,48	-1,08	0,39119
2L x 3L	-0,29	0,48	-0,61	0,60244

*fatores estatisticamente significativos ($p < 0,05$).

A Equação 4.2 apresenta o modelo codificado, que descreve o teor de umidade no 2º dia de armazenamento em função da variável independente fibra de trigo, dentro da faixa estudada.

O modelo foi validado pela análise de variância apresentada na Tabela 4.6, onde verifica-se que o coeficiente de correlação obtido de 0,95 e o F calculado que foi de 5,3 vezes maior que o valor de F tabelado.

Equação 4.2:

$$\text{Umidade} = 54,77 - 2,98 \cdot X_2 \quad (4.2)$$

onde: Umidade = g/ 100g; X_2 = Fibra de trigo.

Tabela 4.6 - Análise de variância para o teor de umidade no 2^o dia de armazenamento a 15 °C.

Fontes de Variação	Somas de Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado
Regressão	71,16	1	71,16	32,42
Resíduos*	19,76	9	2,19	
Falta de ajuste	16,05	7		
Erro puro	3,71	2		
Total	90,92	10		

*Resíduos = Falta de Ajuste + Erro puro; $F_{\text{tab},95\%} = 6,16$; Coeficiente de correlação: $R = 0,95$.

A umidade é necessária para as atividades metabólicas dos microrganismos. Diminuindo o teor de umidade do queijo diminui também a fermentação da lactose (FEREIRA, 2004). Segundo FURTADO (2002), o teor de umidade é um fator que afeta a fermentação aromática. O teor de umidade do queijo, além de afetar sua consistência, tem grande influência sobre as modificações físico-químicas que ocorrem ao longo do período de armazenamento e conseqüentemente a maturação (SBAMPATO *et al.*, 2000). O emprego de aditivos alimentícios que venham a aumentar o conteúdo de umidade nos queijos com baixo teor de gordura é importante, uma vez que melhoram a textura e o rendimento (SILVA e VAN DENDER, 2005).

Alguns estudos da literatura ressaltam a influência da redução de gordura e da adição de probióticos no conteúdo de umidade dos queijos. HYDAMAKA *et al.* (2001) verificaram que queijos com conteúdo de umidade residual relativamente mais alta eram considerados mais macios, segundo análise de um júri formado por 6 provadores experientes. O mesmo foi verificado por DORNELLAS *et al.* (2006), onde o queijo tipo Prato com teor de umidade de 46 a 51 %, apresentou textura macia quando analisada instrumentalmente. BARROS *et al.* (2006) verificaram em queijo

tipo Prato *light* elaborado com leite contendo 0,4 % de gordura e adicionado de *L. helveticus* um maior teor de umidade (55,3 %) do que o queijo tipo Prato *light* sem a adição da cultura adjunta (52,47 %). Os autores concluíram que o maior teor de umidade apresentado pelos queijos *light*, seria decorrente da retirada de gordura que altera o balanço de componentes no queijo, modificação que poderia resultar em alterações nas características tecnológicas, funcionais e sensoriais dos queijos. Este fato também foi verificado por RENSIS *et al.* (2007), que também constataram maior teor de umidade em queijo tipo Prato *light* (51,4 a 52,6 %), do que em queijo elaborado com leite integral (~ 43 %). Outro estudo analisando a umidade foi de BURITI *et al.* (2005b), que incorporaram *L. acidophilus* ao queijo Minas frescal e encontraram valores de umidade considerados altos (67,2 %) em 1 dia de armazenamento.

As Tabelas B.1 e B.2 (APÊNDICE B) apresentam os coeficientes de regressão e desvio padrão com os efeitos estimados para o teor de umidade aos 30 (a) e 60 (a) dias de armazenamento, respectivamente. Verifica-se que nenhuma das variáveis estudadas apresentou efeito significativo no intervalo de confiança de 95 % no teor de umidade. ONG *et al.* (2007) produziram queijo probiótico tipo Cheddar com adição de *L. acidophilus* e obtiveram uma umidade de 43,3 % aos 6 meses de armazenamento, valor este menor ao encontrado no presente estudo, justificado pelo tipo diferente de queijo fabricado.

Segundo FERREIRA (2004) o formato dos queijos é outro fator que poderá direcionar perdas de umidade, normalmente queijos com forma de disco ou retangulares perdem mais água do que os esféricos devido a menor superfície específica destes últimos.

4.2.2 pH

A Tabela 4.7 apresenta os valores reais e codificados da matriz do planejamento fatorial completo 2³ e a resposta em pH para o 2^o, 30^o e 60^o dia de armazenamento.

Verifica-se a partir da Tabela 4.7, que o pH do 2^o para o 30^o dia de armazenamento reduziu seus valores em todos os ensaios. Isto se deve ao fato de

ter ocorrido degradação da lactose pelas bactérias lácticas e o probiótico adicionado, e a obtenção de produtos finais, como CO₂ e ácido láctico (NARIMATSU *et al.*, 2003). O ácido produzido ocasionou um aumento no teor de acidez e conseqüentemente uma redução do pH. No entanto, no 60^o dia de armazenamento ocorreu aumento em relação ao valor de pH, porém não diferiu do 2^o dia de armazenamento (Ensaio 9, 10 e 11). Este aumento de pH é característico de ocorrer durante o período de armazenamento (após 30 dias), em virtude de diminuir o conteúdo de lactose presente no queijo, e principalmente por ocorrer proteólise, pela ação das enzimas presentes, vindas pela adição do coalho e as produzidas pelas bactérias (bactérias lácticas nativas e do probiótico).

Tabela 4.7 – Matriz do planejamento fatorial completo 2³ (valores reais e codificados) e os resultados de pH para o 2^o, 30^o e 60^o dia de armazenamento a 15 °C em queijos tipo Prato.

Ensaio	* Variáveis independentes			pH		
	X ₁	X ₂	X ₃	2 ^o dia	30 ^o dia	60 ^o dia
1	0 (-1)	0 (-1)	0 (-1)	6,7	5,8	6,4
2	10 (1)	0 (-1)	0 (-1)	6,4	5,6	6,2
3	0 (-1)	10 (1)	0 (-1)	6,9	5,9	6,6
4	10 (1)	10 (1)	0 (-1)	6,8	5,9	6,3
5	0 (-1)	0 (-1)	0,014 (1)	6,9	5,7	6,5
6	10 (1)	0 (-1)	0,014 (1)	6,8	5,9	6,6
7	0 (-1)	10 (1)	0,014 (1)	6,9	6,0	6,8
8	10 (1)	10 (1)	0,014 (1)	6,8	6,0	7,1
Y **9,10,11	5 (0)	5 (0)	0,007 (0)	6,9 ^a (± 0,04)	5,8 ^b (± 0,12)	6,9 ^a (± 0,15)

*X₁ = gelatina (g/L); X₂ = Fibra de trigo (g/L); X₃ = probiótico (g/L), Y = ponto central (3 pontos);

** letras iguais nas linhas (2, 30 e 60 dias de armazenamento) não diferem à nível de 5% (Teste Tukey).

Na Figura 4.4, observa-se que no 2^o dia de armazenamento o pH foi influenciado significativamente pela variável independente gelatina e pela interação fibra e probiótico com efeito negativo. Esse efeito negativo poderia ser explicado

pelo valor de pH da gelatina pura (5,75) e pela ação da cultura probiótica adicionada sobre a lactose. Contudo, a fibra exerceu efeito isolado positivo, podendo esse efeito estar relacionado com o pH apresentado pela fibra pura que foi de 7,6, o qual promoveu aumento do pH nas formulações contendo fibra, mas é importante destacar que no 30^o dia de armazenamento nenhuma variável influenciou nos valores de pH (Tabela 4.7).

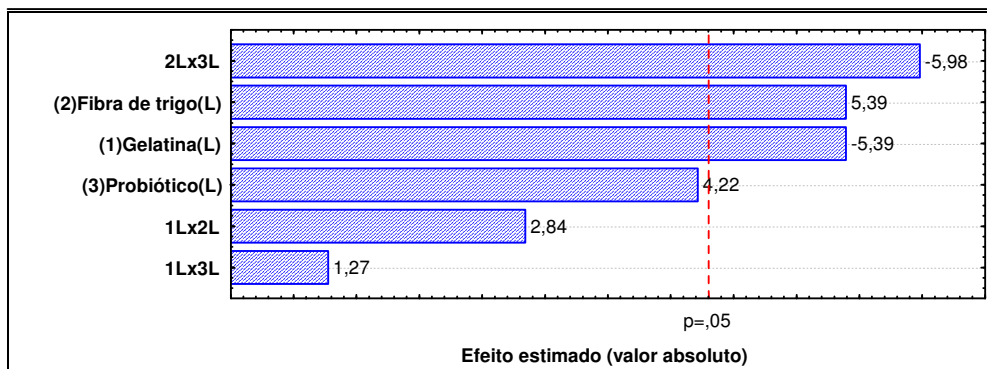


Figura 4.4 - Gráfico de Pareto com os efeitos estimados para o teor de pH no 2^o dia de armazenamento a 15 °C.

BERGAMINI *et al.* (2006) analisaram a influência de bactérias probióticas (*L. acidophilus*) em queijo semi duro, o pH, no 2^o dia de armazenamento foi de 6,42 e diminuiu até 6,00 em 20 dias de armazenamento valores estes próximos aos encontrados ao queijo tipo Prato deste estudo no 30^o e 60^o dia de armazenamento.

O pH controla no queijo o tipo de fermentação e as atividades das enzimas, diminui o seu valor no início do armazenamento, e como consequência aumenta a atividade das enzimas proteases bacterianas e as naturais do leite (CICHOSKI *et al.*, 2007).

GUTIERREZ *et al.* (2004), verificaram que o queijo tipo Prato tradicional no final do período de armazenamento (60 dias) apresentou valores de pH entre 5,8 e 5,9. Sendo que os queijos adicionados de fibra de trigo, gelatina e probiótico deste trabalho apresentaram pH médio de 6,5 após 60 dias de armazenamento a 15 °C, estando este valor acima do pH considerado típico para este tipo de queijo. Porém, esse valor de pH encontrado nos queijos é favorável ao desenvolvimento do probiótico adicionado (CUNICO, 2006).

Tabela 4.8 - Resultados do coeficiente de regressão e desvio padrão provenientes do planejamento fatorial completo 2^3 , para o pH no 30^o dia de armazenamento a 15 °C.

	Coef. de regressão	Desvio padrão	t (2)	p
Média*	5,83	0,037	155,74	0,00004
(1)Gelatina(L)	-0,025	0,044	-0,57	0,62663
(2)Fibra de trigo(L)	0,11	0,044	2,50	0,12924
(3)Probiótico(L)	0,052	0,044	1,19	0,35448
1L X 2L	-0,012	0,044	-0,28	0,80272
1L X 3L	0,050	0,044	1,14	0,37296
2L X 3L	0,000	0,044	0,000	1,00000

*fatores estatisticamente significativos ($p < 0,05$).

No 60^o dia de armazenamento apenas a variável probiótico exerceu efeito positivo sobre os valores de pH, como pode ser observado na Figura 4.5.

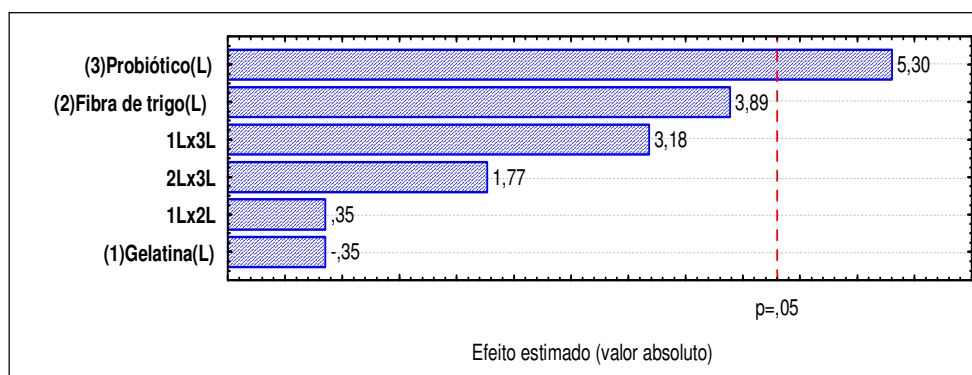


Figura 4.5 – Gráfico de Pareto com os efeitos estimados para os valores de pH no 60^o dia de armazenamento a 15 °C.

CICHOSKI *et al.* (2002) analisaram as características físico-químicas de 18 queijos tipo Prato produzidos na Região do Alto Uruguai do Rio Grande do Sul com leite não pasteurizado após 30 dias de armazenamento, encontraram valores de pH em torno de 5,33, e não mostraram variações significativas ao longo dos 60 dias de armazenamento. Este valor foi menor quando comparado com os valores encontrados neste trabalho após 30 e 60 dias de armazenamento. Esses maiores valores estariam relacionados ao emprego de leite pasteurizado, associado à adição de gelatina, fibra de trigo e do probiótico, e também não apresentaram variações

significativas ao longo dos 60 dias de armazenamento, conforme mostrado pelo teste de Tukey realizado no ponto central (Tabela 4.7).

Os valores de pH nos queijos geralmente resultam da proporção entre a lactose presente no queijo e as substâncias tamponantes do coágulo protéico, demonstrando essa uma boa capacidade proteolítica, com liberação de compostos aminados, que tendem a neutralizar a acidez natural da massa (AUGUSTO, 2003 e GUTIERREZ *et al.*, 2004), fato este que provavelmente ocorreu nos queijos desse estudo associado à proteólise promovida pela cultura probiótica adicionada e as bactérias lácticas presentes.

SPADOTI *et al.* (2005) e COSTA *et al.* (2005) encontraram valores menores de pH (5,2 a 5,7) em queijo Prato após 45 dias de estocagem a 12 °C e constataram que nesta faixa de pH, a proteólise é mais lenta, devido a esses valores de pH não serem ideais para a ação das proteases bacterianas e também para a quimosina do coalho.

4.2.3 Acidez

A Tabela 4.9 apresenta os valores reais e codificados da matriz do planejamento fatorial completo 2³ e a resposta em acidez no 2^o, 30^o e 60^o dia de armazenamento.

Houve um aumento significativo ($p < 0,05$) e acentuado da acidez do 2^o ao 30^o dia de armazenamento de 0,02 para 0,42 g ácido láctico/100 g (Ensaio 9, 10 e 11) e tendo uma redução aos 60 dias, indicando a ocorrência de proteólise.

A Tabela 4.10 apresenta os coeficientes de regressão e desvios padrão provenientes do planejamento fatorial completo 2³, para acidez no 2^o e no 30^o dia de armazenamento a 15 °C. Observou-se que nenhuma das variáveis exerceram efeito significativo ($p < 0,05$) no teor de acidez no 2^o e no 30^o dia de armazenamento.

Tabela 4.9 – Matriz do planejamento fatorial completo 2^3 (valores reais e codificados) e os resultados de acidez encontrados no 2^º, 30^º e 60^º dia de armazenamento a 15 °C em queijos tipo Prato.

Ensaio	* Variáveis independentes			Acidez (g ac. Láctico/100g)		
	X ₁	X ₂	X ₃	2 ^º dia	30 ^º dia	60 ^º dia
1	0 (-1)	0 (-1)	0 (-1)	0,02	0,50	0,55
2	10 (1)	0 (-1)	0 (-1)	0,02	0,50	0,52
3	0 (-1)	10 (1)	0 (-1)	0,02	0,48	0,46
4	10 (1)	10 (1)	0 (-1)	0,02	0,39	0,52
5	0 (-1)	0 (-1)	0,014 (1)	0,02	0,39	0,56
6	10 (1)	0 (-1)	0,014 (1)	0,02	0,52	0,52
7	0 (-1)	10 (1)	0,014 (1)	0,02	0,38	0,42
8	10 (1)	10 (1)	0,014 (1)	0,02	0,39	0,27
Y **9,10,11	5 (0)	5 (0)	0,007 (0)	0,02 ^c (±0,00006)	0,42 ^a (±0,05)	0,34 ^b (±0,01)

*X₁ = gelatina (g/L); X₂ = Fibra de trigo (g/L); X₃ = probiótico (g/L), Y = ponto central (3 pontos);

** letras iguais nas linhas (2, 30 e 60 dias de armazenamento) não diferem à nível de 5% (Teste de Tukey).

No 60^º dia de armazenamento os valores de pH variaram de 6,2 a 7,1 (Tabela 4.7) e verificou-se pela Figura 4.6, que as três variáveis estudadas e as interações gelatina e probiótico, fibra de trigo e probiótico, apresentaram efeito significativo negativo ($p < 0,05$) para a acidez, indicando que o aumento da concentração das variáveis independentes (fibra de trigo, probiótico e gelatina) favoreceu a diminuição da acidez e conseqüentemente um aumento do pH (Tabelas 4.7 e 4.9). Isto ocorreu porque os queijos apresentaram teor de lactose residual baixo (0,1 g/100 g) (Tabela 4.11), neste período de armazenamento, associado ao efeito da proteólise realizada pelo probiótico e pelas bactérias lácticas.

Tabela 4.10 - Coeficientes de regressão e desvios padrão provenientes do planejamento fatorial completo 2³, para acidez no 2^o e 30^o dias de armazenamento a 15 °C.

	Coef. de regressão		Desvio padrão		t (2)		p	
	2 dia	30 dia	2 dia	30 dia	2 dia	30 dia	2 dia	30 dia
Média*	0,019	0,44	0,000015	0,015	1287,30	28,54	0,000001	0,001
(1)Gelatina(L)	0,00001	0,006	0,000035	0,018	0,43	0,34	0,71	0,77
(2)F. de trigo(L)	-0,00005	-0,03	0,000035	0,018	-1,42	-1,80	0,29	0,21
(3)Probiótico(L)	-0,00001	-0,02	0,000035	0,018	-0,41	-1,39	0,72	0,29
1L x 2L	0,00001	-0,03	0,000035	0,018	0,27	-1,53	0,81	0,26
1L x 3L	0,000002	0,03	0,000035	0,018	0,06	1,53	0,96	0,26
2L x 3L	0,00005	-0,001	0,000035	0,018	1,34	-0,07	0,31	0,95

*fatores estatisticamente significativos (p<0,05).

Ao comparar a acidez do queijo tipo Prato durante o período de armazenamento (30 e 60 dias, Tabela 4.9) observa-se que os valores foram inferiores (0,42 e 0,34 % respectivamente) aos relatados pelos autores DELLA VECHIA *et al.* (2005), PENNA (2002) e CICHOSKI *et al.* (2002). Sendo que DELLA VECHIA *et al.* (2005), obtiveram valores de acidez que variaram de 0,64 % (queijo controle) e 0,66 % (queijo acrescido de cultura) após 30 dias de maturação em queijo tipo Prato adicionado de *Bifidobacterium Lactis*. Para PENNA (2002), os valores de acidez após 33 e 90 dias de armazenamento foram de 0,69 % e 1,62 %, respectivamente. Enquanto que CICHOSKI *et al.* (2002) encontraram 1,66 % de acidez em queijo tipo Prato colonial elaborado de maneira tradicional aos 60 dias de armazenamento.

SPADOTI *et al.* (2003), encontraram valores na faixa de 0,64 a 1,28 % ao modificarem o processo tradicional de fabricação do queijo tipo Prato e que foi armazenado durante (45 dias a 7 ± 1 °C). A acidez nos onze experimentos no 30^o dia de maturação variou de 0,38 a 0,52 %, enquanto que no 60^o dia a variação foi de 0,27 a 0,56 % (Tabela 4.9) sendo estes valores menores aos encontrados pelos referidos autores.

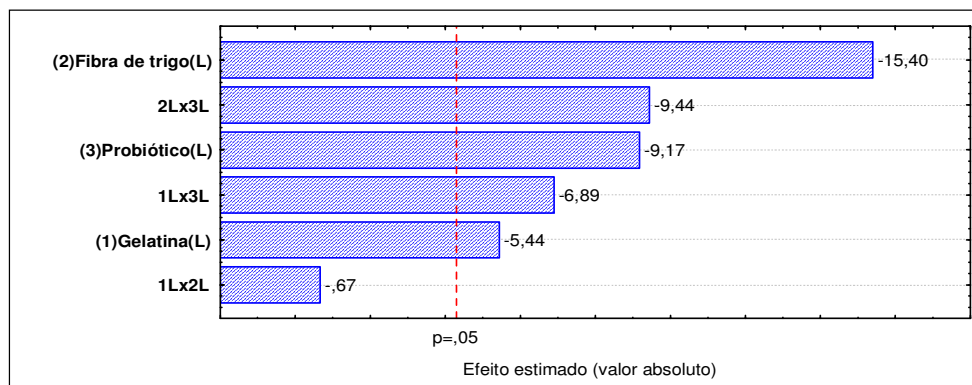


Figura 4.6 – Gráfico de Pareto com os efeitos estimados para o teor de acidez no 60 º dia de armazenamento a 15 ºC.

RENSIS *et al.* (2007) determinaram a acidez em queijo tipo Prato com reduzido teor de gordura (leite desnatado com 0,5 % de gordura) e adição de cultura adjunta *Lactobacillus casei* e *L. helveticus*, os valores encontrados oscilaram de 0,47 % após 65 dias de armazenamento, valor este superior ao encontrado nos ensaios 9, 10 e 11 (ponto central, Tabela 4.9), no 60 º dia de armazenamento.

Os teores de acidez obtidos durante o período de armazenamento de 30 e 60 dias (Tabela 4.9) dos queijos tipo Prato, possivelmente estejam relacionados a características específicas do probiótico (*L. rhamnosus*). Pois segundo NARAYANAN *et al.* (2004), o *L. rhamnosus* é um microrganismo que produz ácido láctico e etanol em condições de anaerobiose. Em estudo realizado com cepas mutantes de *L. rhamnosus*, observou-se a produção de ácido láctico como único produto da fermentação em meios de cultura com quantidade otimizada e definida de glicose. Além disso, os *Lactobacilos* requerem meio rico e complexo, necessitando de aminoácidos pré-formados, vitaminas do complexo B e bases púricas e pirimídicas (JAY, 1994).

4.2.4 Lactose

A Tabela 4.11 apresenta os valores reais e codificados da matriz do planejamento fatorial completo 2^3 e a resposta em teor de lactose determinado no 2 º, 30 º e 60 º dia de armazenamento a 15 ºC.

Pela Tabela 4.11, observa-se que os queijos pertencentes aos ensaios 9, 10 e 11 (ponto central) apresentaram reduções significativas ($p < 0,05$) e sucessivas no teor de lactose entre o 2^º e o 60^º dia de armazenamento indicando um maior consumo de lactose neste período. Comportamento semelhante foi observado nos demais ensaios.

Tabela 4.11 – Matriz do planejamento fatorial completo 2^3 (valores reais e codificados) e os teores de lactose para o 2^º, 30^º e 60^º dia de armazenamento a 15 °C.

Ensaio	* Variáveis independentes			Lactose (g /100g)		
	X ₁	X ₂	X ₃	2 ^º dia	30 ^º dia	60 ^º dia
1	0 (-1)	0 (-1)	0 (-1)	2,1	0,8	0,1
2	10 (1)	0 (-1)	0 (-1)	2,4	1,2	0,1
3	0 (-1)	10 (1)	0 (-1)	2,0	0,8	0,2
4	10 (1)	10 (1)	0 (-1)	2,4	0,3	0,2
5	0 (-1)	0 (-1)	0,014 (1)	2,0	0,2	0,1
6	10 (1)	0 (-1)	0,014 (1)	2,7	0,2	0,2
7	0 (-1)	10 (1)	0,014 (1)	2,4	0,2	0,2
8	10 (1)	10 (1)	0,014 (1)	1,8	0,6	0,02
Y **9,10,11	5 (0)	5 (0)	0,007 (0)	0,8 ^a (± 0,05)	0,3 ^b (± 0,01)	0,1 ^c (± 0,04)

*X₁ = gelatina (g/L); X₂ = Fibra de trigo (g/L); X₃ = probiótico (g/L), Y = ponto central (3 pontos);

** letras iguais nas linhas (2, 30 e 60 dias de armazenamento) não diferem à nível de 5% (Teste Tukey).

A interação das variáveis gelatina e fibra, apresentada na Figura 4.7, exerceu influência negativa e significativa ($p < 0,05$), sobre o teor de lactose no 2^º dia de armazenamento, enquanto que as demais variáveis não apresentaram influência significativa ($p < 0,05$).

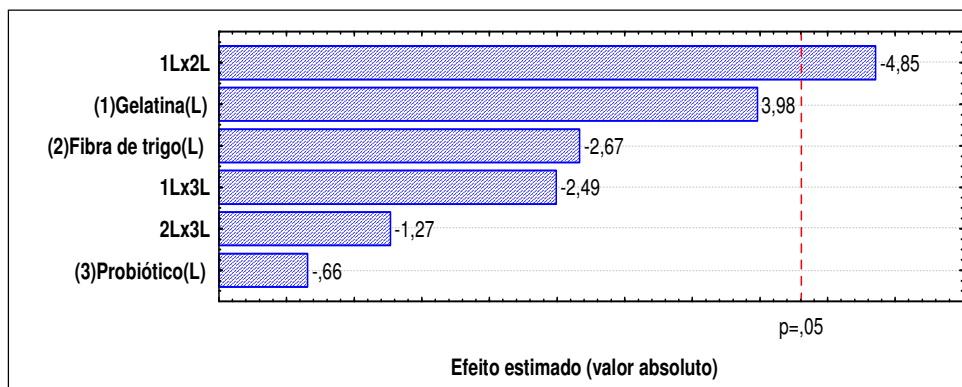


Figura 4.7 – Gráfico de Pareto com os efeitos estimados para o teor de lactose ao 2º dia de armazenamento a 15 °C.

Conforme demonstrado no Gráfico de Pareto da Figura 4.8, no 30º dia de armazenamento, as três variáveis estudadas apresentaram efeitos significativos ($p < 0,05$) sobre a lactose, sendo que o probiótico, a fibra e a interação fibra e gelatina apresentaram efeito negativo, a gelatina e as interações, fibra de trigo e probiótico, gelatina e probiótico apresentaram efeito positivo. O efeito isolado negativo do probiótico (*L. rhamnosus*) se deve ao fato do mesmo utilizar a lactose em seu desenvolvimento.

O efeito positivo da gelatina deve-se ao fato que a mesma promoveu maior retenção de soro (Figura 4.8) e com isso mais lactose favorecida também por não realizar-se a lavagem da massa, enquanto que o efeito negativo da fibra deve-se ao fato de que a mesma exerceu ação contrária a da gelatina, com isso diminui o teor de umidade e atividade de água (a_w) a valores não favoráveis da utilização da lactose pelo probiótico e pelas bactérias naturais do leite.

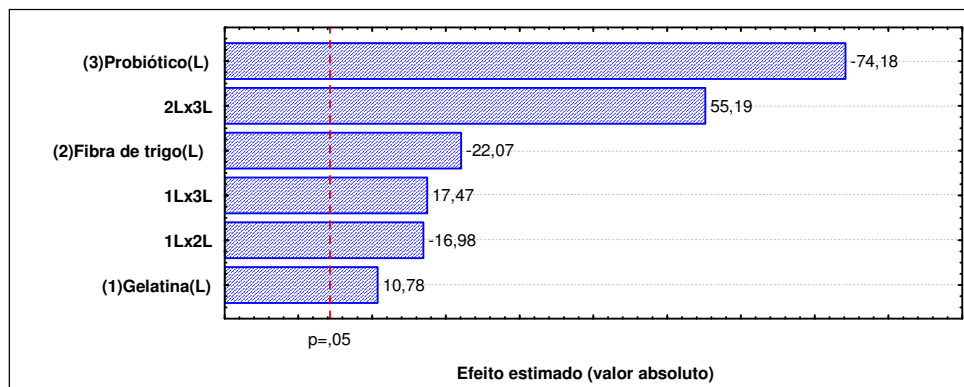


Figura 4.8 – Gráfico de Pareto com os efeitos estimados para o teor de lactose no 30º dia de armazenamento a 15 ºC.

A Tabela 4.12 mostra os coeficientes de regressão e desvios padrão provenientes do planejamento fatorial completo 2^3 , para lactose no 60º dia de armazenamento a 15 ºC. Pode-se observar que no 60º dia de armazenamento as variáveis independentes (gelatina, fibra de trigo e probiótico) não apresentaram efeitos significativos ($p < 0,05$) sobre a lactose.

Tabela 4.12 - Coeficientes de regressão e desvios padrão provenientes do planejamento fatorial completo 2^3 , para lactose no 60º dia de armazenamento a 15 ºC.

	Coef. de regressão	Desvio padrão	t (2)	p
Média*	0,14	0,015	9,47	0,011
(1)Gelatina(L)	-0,001	0,017	-0,082	0,94
(2)Fibra de trigo(L)	-0,004	0,017	-0,25	0,83
(3)Probiótico(L)	-0,022	0,017	-1,25	0,34
1L x 2L	-0,022	0,017	-1,26	0,33
1L x 3L	-0,010	0,017	-0,59	0,61
2L x 3L	-0,025	0,017	-1,44	0,29

*fatores estatisticamente significativos ($p < 0,05$).

Neste período (60 dias de maturação) foram detectados apenas pequenos traços de lactose (0,02 a 0,2 %), sendo que a mesma foi desdobrada em ácido láctico, CO_2 e lactato de cálcio, nos primeiros estágios da maturação. CUNHA *et al.* (2002) ressaltam que a melhoria da qualidade do queijo ocorre fundamentalmente

em função do decréscimo do teor de lactose, o que resulta em um maior controle da taxa de acidificação e conseqüentemente melhora o sabor. Vários trabalhos são encontrados na literatura, que descrevem esse comportamento da lactose durante a maturação. CICHOSKI *et al.* (2002) estudaram queijo tipo Prato colonial elaborado com leite integral pelo processo tradicional, e também observaram que o teor de lactose diminuiu de 0,10 % aos 30 dias e, aos 60 dias de armazenamento não foram mais detectados traços de lactose. Na avaliação de queijo tipo Prato artesanal aos 30 e 60 dias de armazenamento refrigerado, também não foram detectados mais traços de lactose (CICHOSKI *et al.*, 1998).

Em queijo tipo Prato elaborado com leite de cabra integral adicionado de *B. lactis* e *L. acidophilus*, foi observado que a conversão da lactose em ácido láctico pelas bactérias lácticas foi facilmente visualizada durante a elaboração e nos primeiros dias de maturação, dos queijos, sendo que após 70 dias de armazenamento, somente pequenos traços de lactose foram detectados (GOMES e MALCATA, 1998).

4.2.5 Proteína

A Tabela 4.13 apresenta os valores reais e codificados da matriz do planejamento fatorial completo 2³ e os resultados para a proteína no 2^o, 30^o e 60^o dia de armazenamento a 15 °C. Observa-se que os valores de proteína nos ensaios 9, 10 e 11 (Ponto central do planejamento) não diferiram significativamente a nível de 5 %, nos dias analisados (2^o, 30^o e 60^o dia) durante o período de armazenamento dos queijos.

No 2^o dia de armazenamento do queijo tipo Prato o valor de proteína no ponto central (ensaios 9, 10 e 11) foi de 26,7 % (Tabela 4.13) sendo este valor menor ao encontrado por SILVA *et al.* (2005), em queijo tipo Prato adicionado de culturas adjuntas (*L. casei* e *L. helveticus*) com leite desnatado e padronizado a 0,5 % de gordura, analisados após 5 dias de fabricação e armazenados em temperatura de 12 °C, com valores de 34,57 % (adição *L. casei*) e 33,77 % (*L. helveticus*) respectivamente. Aos 30 dias de maturação RENSIS *et al.* (2007) encontraram valor de 25,61 % de proteína, em queijo tipo Prato produzido com leite

pasteurizado e padronizado com teor de gordura médio de 1,9 %, adicionado de 2 % de cultura mesófila (*L. lactis ssp lactis* e *L. lactis ssp cremosis*), valor este inferior ao encontrado nos ensaios 9, 10 e 11 (ponto central), aos 30 dias de armazenamento.

Tabela 4.13 – Matriz do planejamento fatorial completo 2^3 (valores reais e codificados) e os resultados de proteína para o 2^º, 30^º e 60^º dia de armazenamento a 15 °C.

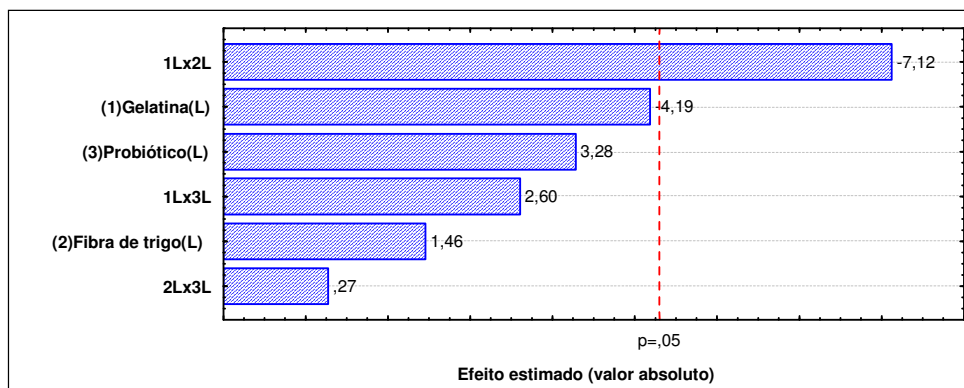
Ensaio	* Variáveis independentes			Proteína (g/100g)		
	X ₁	X ₂	X ₃	2 ^º dia	30 ^º dia	60 ^º dia
1	0 (-1)	0 (-1)	0 (-1)	26,7	24,6	27,8
2	10 (1)	0 (-1)	0 (-1)	26,2	29,2	27,8
3	0 (-1)	10 (1)	0 (-1)	28,3	26,2	29,3
4	10 (1)	10 (1)	0 (-1)	25,2	23,9	26,8
5	0 (-1)	0 (-1)	0,014 (1)	26,2	23,9	26,9
6	10 (1)	0 (-1)	0,014 (1)	28,3	20,6	27,1
7	0 (-1)	10 (1)	0,014 (1)	29,1	22,9	28,5
8	10 (1)	10 (1)	0,014 (1)	26,3	22,3	27,8
Y**(9,10,11)	5 (0)	5 (0)	0,007 (0)	26,7 ^a (±0,37)	26,1 ^a (± 0,81)	28,4 ^a (±1,52)

*X₁ = gelatina (g/L); X₂ = Fibra de trigo (g/L); X₃ = probiótico (g/L), Y = ponto central (média ± desvio padrão); ** letras iguais nas linhas (2, 30 e 60 dias de armazenamento) não diferem a nível de 5% (Teste de Tukey).

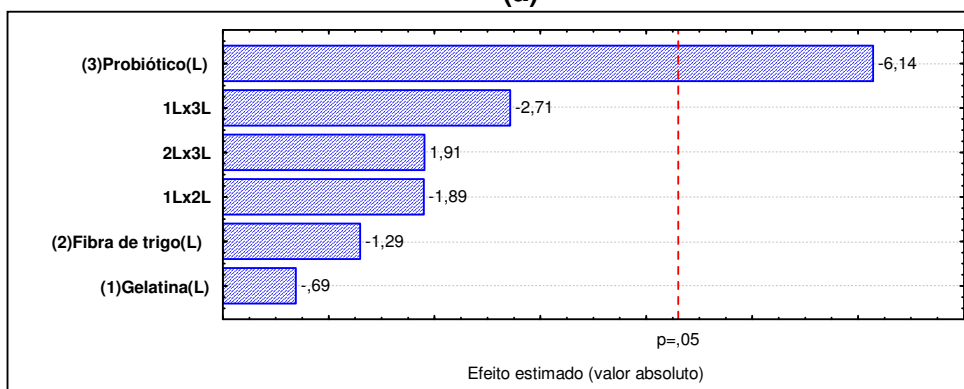
Na avaliação de queijo tipo Prato artesanal elaborado com leite integral, após 60 dias de armazenamento, apresentou valor de proteína de 42,82 % (CICHOSKI *et al.*, 1998), nos ensaios 9, 10 e 11 (ponto central) no 60^º dia de armazenamento o valor encontrado para proteína foi bem menor (28,4 %) (Tabela 4.13), isto deve-se possivelmente a adição de outros ingredientes na formulação (gelatina, fibra de trigo e probiótico).

A Figura 4.9 apresenta os Gráficos de Pareto para o 2^º (a) e 30^º dia (b) de armazenamento, respectivamente. Observou-se na Figura 4.9 (a), que a interação entre gelatina e fibra de trigo foi a única variável que exerceu influência significativa

($p < 0,05$) negativa, dentro da faixa estudada no teor de proteína, demonstrando que a gelatina quando usada na concentração de 10 g/L e associada à fibra de trigo não facilitaram a retenção de proteína na massa e conseqüentemente produziram perdas de proteína na etapa de dessoragem. A variável fibra de trigo influenciou negativamente ($p < 0,05$) no índice de profundidade da proteólise dos queijos (Item 4.2.8.1)



(a)



(b)

Figura 4.9 – Gráficos de Pareto com os efeitos estimados para o teor de proteína no 2º (a) e no 30º dia (b) de armazenamento a 15 °C.

No 30º dia de armazenamento (Figura 4.9 - b), somente a variável probiótico apresentou o efeito negativo sobre o teor de proteína ($p < 0,05$). Possivelmente, deve-se ao fato das bactérias lácticas possuírem a presença de enzimas proteolíticas (proteinases e peptidases) capazes de hidrolisarem os oligopeptídeos resultantes da

proteólise primária (FOX *et al.*, 2000). Durante o período de armazenamento dos queijos ocorre a quebra das proteínas (caseínas) em peptídeos maiores, os quais serão posteriormente degradados em peptídeos menores, na quebra destes há uma liberação de aminoácidos que resultam em compostos de sabor e odor desejáveis (CHR Hansen, 2006). Isto também foi evidenciado pela influência desta variável independente no aumento do índice de profundidade da proteólise (Item 4.2.8.2).

Para os 60 dias de armazenamento, os coeficientes de regressão e desvio padrão estão apresentados na Tabela 4.14. Neste período de armazenamento, nenhuma das variáveis independentes exerceu influência significativa ($p < 0,05$), dentro da faixa estudada.

Tabela 4.14 - Resultados do coeficiente de regressão e desvio padrão provenientes do planejamento fatorial completo 2^3 , para proteína nos 60 dias de armazenamento a 15 °C.

	Coef. de regressão	Desvio padrão	t (2)	p
Média*	27,91	0,45	60,68	0,0002
(1)Gelatina(L)	-0,38	0,53	-0,70	0,5541
(2)Fibra de trigo(L)	0,34	0,53	0,64	0,5854
(3)Probiótico(L)	-0,17	0,53	-0,32	0,7763
1L x 2L	-0,42	0,53	-0,78	0,5154
1L x 3L	0,25	0,53	0,47	0,6829
2L x 3L	0,21	0,53	0,39	0,7316

*fatores estatisticamente significativos ($p < 0,05$).

Ao comparar os resultados obtidos (Tabela 4.13) com informações da literatura, constatamos que GARCIA *et al.* (2005) obtiveram em queijo tipo Prato valor semelhante em relação ao teor de proteína aos encontrados nos Ensaio 7, 9, 10 e 11, no 60^o dia de armazenamento que foi de 28,4%.

DORNELLAS *et al.* (2006) em queijo tipo Prato elaborado com leite cru integral concentrado submetido à ultrafiltração a 10 %, após 10 dias de armazenamento em temperatura de 7 °C, encontraram valor de proteína de 21,42 %, também SPADOTI *et al.* (2003) elaboraram queijos tipo Prato empregando leite cru tipo B, modificando o processo tradicional de fabricação, com o uso de leite concentrado por ultrafiltração com pré-fermentação de 10% do leite concentrado por

ultrafiltração, e obtiveram valor de proteína de 22,51 %, as amostras foram analisadas após 10 dias de armazenamento refrigerado (7 ± 1 °C), os autores relatam que a ultrafiltração tende a aumentar a concentração de proteína no queijo, possivelmente devido a desnaturação das soroproteínas.

Nos ensaios 9, 10 e 11 (ponto central) no 2º, 30º e 60º dia de armazenamento os valores encontrados para o teor de proteína foram superiores (Tabela 4.13), aos citados pelos referidos autores, que utilizaram a ultrafiltração, com a finalidade de aumentar a concentração de proteína no queijo.

4.2.6 Gordura

A Tabela 4.15 apresenta os valores reais e codificados da matriz do planejamento fatorial completo 2^3 e os resultados para a gordura no 2º, 30º e 60º dia de armazenamento a 15 °C.

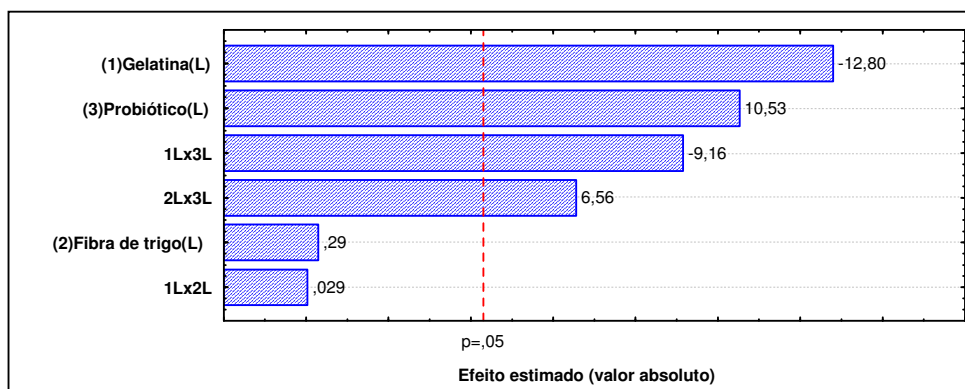
Tabela 4.15 – Matriz do planejamento fatorial completo 2^3 (valores reais e codificados) e os resultados em gordura para o 2º, 30º e 60º dia de armazenamento a 15 °C.

Ensaio	* Variáveis independentes			Gordura (g/100g)		
	X ₁	X ₂	X ₃	2º dia	30º dia	60º dia
1	0 (-1)	0 (-1)	0 (-1)	9,9	10,2	10,0
2	10 (1)	0 (-1)	0 (-1)	11,3	11,2	10,7
3	0 (-1)	10 (1)	0 (-1)	10,8	11,3	9,5
4	10 (1)	10 (1)	0 (-1)	8,2	11,5	8,2
5	0 (-1)	0 (-1)	0,014 (1)	14,2	11,9	10,5
6	10 (1)	0 (-1)	0,014 (1)	8,4	9,8	8,2
7	0 (-1)	10 (1)	0,014 (1)	13,3	11,1	10,6
8	10 (1)	10 (1)	0,014 (1)	11,6	10,3	10,3
Y **9,10,11	5 (0)	5 (0)	0,007 (0)	8,4 ^b ($\pm 0,29$)	9,6 ^a ($\pm 0,53$)	8,1 ^b ($\pm 0,12$)

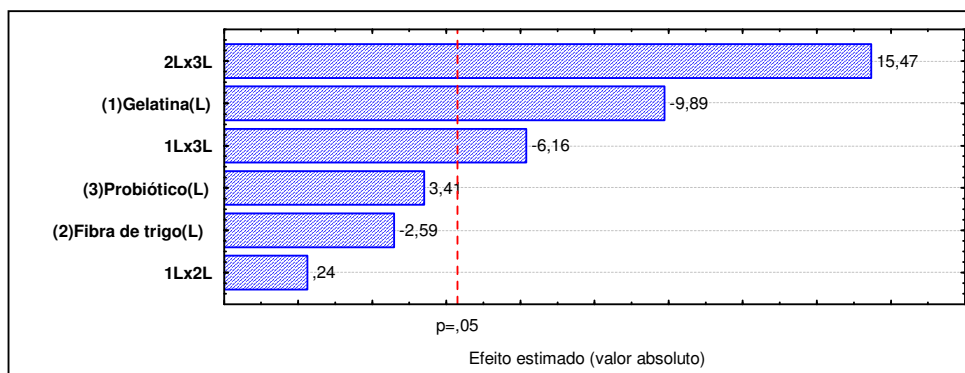
*X₁ = gelatina (g/L); X₂ = Fibra de trigo (g/L); X₃ = probiótico (g/L), Y = ponto central (média $\pm$ desvio padrão);

** letras iguais nas linhas (2, 30 e 60 dias de armazenamento) não diferem a nível de 5% (Teste Tukey).

A Figura 4.10 apresenta os Gráficos de Pareto para o teor de gordura no 2^o (a) e no 60^o (b) dia de armazenamento, respectivamente. No 2^o dia de armazenamento, a variável gelatina e a interação desta com o probiótico influenciaram negativamente ($p < 0,05$) sobre o teor de gordura, demonstrando perdas de gordura na etapa de retirada do soro. No entanto, o probiótico e a interação com a fibra de trigo produziram efeito significativo ($p < 0,05$) e positivo. O mesmo comportamento foi verificado no 60^o dia de armazenamento.



(a)



(b)

Figura 4.10 – Gráfico de Pareto com os efeitos estimados para o teor de gordura no 2^o (a) e 60^o (b) dia de armazenamento a 15 °C.

Para os 30 dias de armazenamento, estão apresentados na Tabela 4.16 os coeficientes de regressão e os desvios padrão referentes à gordura. Entretanto,

nenhuma das variáveis independentes exerceu efeito significativo ($p < 0,05$) dentro da faixa estudada.

Tabela 4.16 – Resultados do coeficiente de regressão e desvio padrão provenientes do planejamento fatorial completo 2^3 , para gordura aos 30 dias de armazenamento a 15 °C.

	Coef. De regressão	Desvio padrão	t (2)	p
Média*	10,54	0,17	61,29	0,0002
(1)Gelatina(L)	-0,40	0,40	-0,99	0,4260
(2)Fibra de trigo(L)	0,29	0,40	0,73	0,5408
(3)Probiótico(L)	-0,24	0,40	-0,60	0,6055
1L x 2L	0,16	0,40	0,40	0,7222
1L x 3L	-1,05	0,40	-2,61	0,1204
2L x 3L	-0,44	0,40	-1,09	0,3894

*fatores estatisticamente significativos ($p < 0,05$).

Na Tabela 4.16 observa-se que o 30^º dia de armazenamento apresentou maior teor de gordura (ponto central) quando comparado com o 2^º e com o 60^º dia de armazenamento. Entretanto, as diferenças observadas entre 2^º e 30^º dia de armazenamento, possivelmente estejam relacionadas à falta de homogeneização da gordura na massa e às perdas que ocorreram durante o corte da massa e a retirada do soro. VAN DENDER (1999) e WALSTRA *et al.* (1999) relatam que pode ocorrer perda de gordura e outros constituintes do leite, durante as etapas de corte e agitação da massa, pois contribuem para o deslocamento destes constituintes para o soro, o qual é retirado, afetando conseqüentemente o seu conteúdo no queijo.

Os teores de gorduras obtidos nos onze ensaios (Tabela 4.15) apresentam valores de aproximadamente 50 a 70 % inferiores aos queijos tipo Prato tradicionais relatados na literatura, caracterizando-os como *light*, cujos valores variaram de 5,5 % a 18,17 % (SILVA *et al.*, 2005; RENSIS *et al.*, 2007).

De acordo com a Portaria n^º 27 da ANVISA, de 13 de janeiro de 1998 (BRASIL, 2008), os queijos tipo Prato enquadram-se na classificação “*light*”, quando apresentam redução de no mínimo 25 % do teor de gordura total.

SPADOTI *et al.* (2003) elaboraram queijos tipo Prato empregando leite cru tipo B concentrado por ultrafiltração, modificando o processo tradicional de fabricação, e obtiveram teores de gordura entre 20,84 % (ultrafiltração sem pré-fermentação) e 25,21 % (em queijo padrão), analisados após 10 dias de armazenamento refrigerado (7 ± 1 °C), também DORNELLAS *et al.* (2006) em queijo tipo Prato elaborado com leite cru submetido a ultrafiltração, após 10 dias de armazenamento em temperatura de 7 °C, apresentou teor de gordura variando entre 20,44 a 25,83 %. Os valores acima são semelhantes aos citados por FURTADO e LOURENÇO NETO (1994), onde estabelecem que queijos tipo Prato elaborados com leite integral apresentam em média teor de gordura entre 26 a 29 %.

Em queijo tipo Prato com reduzido teor de gordura, os valores encontrados para o conteúdo de gordura no ponto central, ensaios 9, 10 e 11, foram de 8,4 %, no 2º dia de armazenamento (Tabela 4.15), estes valores mostram-se bem inferiores comparando-se aos queijos padrão estudados por SPADOTI *et al.* (2003) e DORNELLAS *et al.* (2006).

COSTA *et al.* (2005) classificaram o queijo tipo Prato como queijo gordo, com valores de gordura variando de 53,0 a 54,1 %. De acordo com o conteúdo de gordura (%), os queijos são classificados pelo regulamento técnico de identidade e qualidade, Portaria nº 146, de 07 de março de 1996 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2007a) em: queijo extra gordo quando contenham o mínimo de 60% de gordura, gordos (entre 45,0 e 59,9%), semigordos (entre 25,0 e 44,9%), magros (entre 10,0 e 24,9%) e desnatados (menos de 10,0%) no conteúdo de gordura. No 2º dia de armazenamento, os ensaios 5 e 7 (Tabela 4.15) apresentaram os maiores valores de gordura de todos os ensaios e em todos os dias analisados 14,2 e 13,3 %, respectivamente, se enquadrando nos tipos de queijos magros. Observa-se que nos ensaios 9, 10 e 11 (ponto central) ao 2º, 30º e 60º dias de armazenamento, os queijos apresentaram um teor de gordura menor que 10,0 %, assim os queijos obtidos podem ser classificados como queijos desnatados com reduzido teor de gordura (BRASIL, 2007a).

4.2.7 Fibra-bruta

A Tabela 4.17 apresenta os resultados do teor de fibra-bruta (g/100 g) ao 2º dia de armazenamento a 15 °C, dos ensaios (3, 4, 7, 8, 9, 10 e 11) do planejamento experimental nos quais a fibra de trigo foi adicionada.

Tabela 4.17 – Teor de fibra (g/100 g) dos queijos tipo Prato no 2º dia de armazenamento a 15 °C.

ENSAIOS	Fibra-bruta* (g/100 g)
3 (10 g/L Fibra de trigo)	4,51 ± 0,44 ^c
4 (10 g/L Gelatina + 10 g/L Fibra de trigo)	6,31 ± 0,73 ^b
7 (10 g/L Fibra + 0,014 g/L probiótico)	6,79 ± 0,84 ^{ab}
8 (10 g/L gelatina + 10 g/L fibra + 0,014 g/L probiótico)	7,85 ± 0,12 ^a
9, 10 e 11 (5 g/L fibra + 5 g/L de gelatina + 0,007 g probiótico)	3,40 ± 0,49 ^c

* Média (± desvio padrão) seguidas letras iguais não diferem estatisticamente, a nível de 5% (Teste de Tukey).

Os maiores teores de fibra-bruta nos queijos tipo Prato foram observados nos ensaios 7 e 8 (Tabela 4.17), de 6,8 e 7,85 %, respectivamente. Os ensaios 7 e 8 não diferiram estatisticamente ($p < 0,05$), o mesmo ocorreu para o ensaio 4 em relação ao ensaio 7. Nos ensaios onde adicionou-se gelatina e probiótico, (Ensaio 4, 7, 8, 9, 10 e 11), favoreceram a retenção da fibra na massa, apresentando perdas de aproximadamente 37, 32, 21,5 e 32 %, respectivamente. No entanto, a maior perda de fibra de trigo foi verificada no Ensaio 3, que foi de 55 %. Uma maior retenção de fibra de trigo na massa possivelmente esteja relacionado a mesma polaridade e estrutura da gelatina e da fibra de trigo.

A literatura não relata a aplicação de fibra de trigo em queijos, contudo, a grande maioria referencia os benefícios fisiológicos de sua ingestão.

4.2.8 Proteólise

Dos processos bioquímicos envolvidos durante o armazenamento dos queijos, a proteólise é a mais complexa e, possivelmente a mais importante para o

desenvolvimento das características sensoriais dos queijos. A proteólise é a responsável direta pelas modificações de textura no queijo e contribui significativamente no desenvolvimento do sabor (SOUZA *et al.*, 2001; FOX, 1998).

4.2.8.1 Índice de Extensão (IEM)

O índice de extensão (IEM) está relacionado com a ação das enzimas proteinases naturais do leite e do agente coagulante adicionado sobre as proteínas resultando peptídeos de alto peso molecular, estando relacionado com a proteólise primária (NARIMATSU *et al.*, 2003; MORENO *et al.*, 2005; SPADOTI *et al.*, 2005; BARROS *et al.*, 2006).

Os fatores que influenciam na proteólise são qualidade do leite utilizado, composição do queijo (umidade, sal), pH do queijo e temperatura de maturação.

A Tabela 4.18 apresenta os valores reais e codificados da matriz do planejamento fatorial completo 2^3 e os resultados em índice de extensão da proteólise para o 2^º, 30^º e 60^º dia de armazenamento a 15 °C. Verifica-se que houve um aumento significativo ($p < 0,05$) na extensão de proteólise no decorrer do período de armazenamento. Uma melhor visualização da evolução do índice de extensão da proteólise durante o armazenamento pode ser observada na Figura 4.11.

De acordo com a Figura 4.11, observa-se que ao 30^º dia de armazenamento, os queijos dos Ensaios 7 e 9 apresentaram menores índices de extensão da proteólise, 1,49 e 1,46 %, respectivamente. No 60^º dia de armazenamento, o maior aumento na extensão da proteólise ocorreu no queijo proveniente do Ensaio 5, onde foi adicionado probiótico em sua composição.

Tabela 4.18 – Matriz do planejamento fatorial completo 2^3 (valores reais e codificados) e os resultados para índice de extensão da proteólise ao 2^º, 30^º e 60^º dia de armazenamento a 15 °C.

Ensaio	* Variáveis independentes			Índice de Extensão (g NST/100 g de NT)		
	X ₁	X ₂	X ₃	2 ^º dia	30 ^º dia	60 ^º dia
1	0 (-1)	0 (-1)	0 (-1)	1,97 ^c (±0,00001)	13,54 ^b (±0,004)	23,45 ^a (±0,10)
2	10 (1)	0 (-1)	0 (-1)	0,62 ^c (±0,007)	12,13 ^b (±0,092)	20,22 ^a (±0,012)
3	0 (-1)	10 (1)	0 (-1)	0,49 ^c (±0,007)	11,57 ^b (±0,119)	20,21 ^a (±0,132)
4	10 (1)	10 (1)	0 (-1)	1,49 ^c (±0,119)	13,47 ^b (±0,023)	22,89 ^a (±0,026)
5	0 (-1)	0 (-1)	0,014 (1)	1,67 ^c (±0,133)	14,22 ^b (±0,032)	23,89 ^a (±0,046)
6	10 (1)	0 (-1)	0,014 (1)	0,82 ^c (±0,051)	12,38 ^b (±0,012)	19,30 ^a (±0,011)
7	0 (-1)	10 (1)	0,014 (1)	0,62 ^c (±0,007)	1,39 ^b (±0,014)	14,28 ^a (±0,017)
8	10 (1)	10 (1)	0,014 (1)	0,82 ^c (±0,022)	11,42 ^b (±0,029)	19,52 ^a (±0,045)
Y**9,10,11	5 (0)	5 (0)	0,007 (0)	1,06 ^c (±0,007)	5,74 ^b (±0,047)	9,77 ^a (±0,037)

*X₁ = gelatina (g/L); X₂ = Fibra de trigo (g/L); X₃ = probiótico (g/L), Y = ponto central (média ± desvio padrão); ** médias seguidas de letras iguais nas linhas (2, 30 e 60 dias de armazenamento) não diferem à nível de 5% (Teste Tukey).

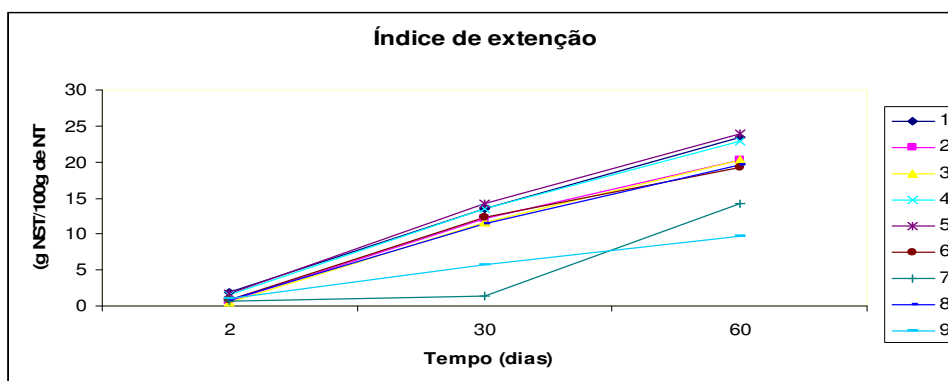
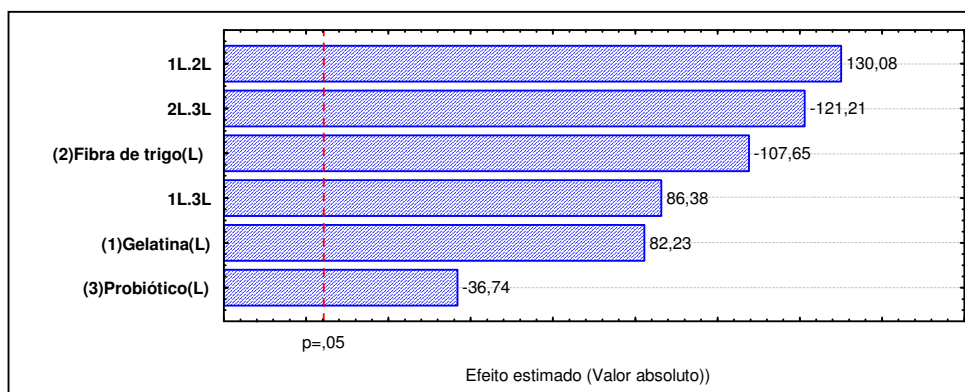


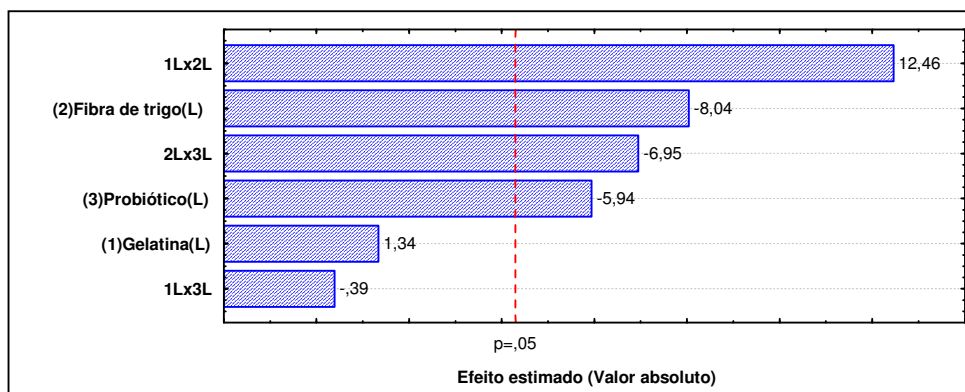
Figura 4.11 - Evolução da extensão da proteólise nos queijos tipo Prato durante o armazenamento a 15 °C.

Os resultados da análise estatística para o índice de extensão no 2^º dia de armazenamento encontram-se no Apêndice B (Tabelas B.3 e B.4 e Figura B.2).

A Figura 4.12 (a) e (b) apresenta os Gráficos de Pareto, para os efeitos estimados do índice de extensão aos 30 e 60 dias de armazenamento, respectivamente. No 30^º e no 60^º dia de armazenamento, as três variáveis estudadas apresentaram efeitos significativos sobre o índice de extensão, dentro da faixa estudada. A gelatina e as interações desta com a fibra de trigo e probiótico, apresentaram efeito significativo ($p < 0,05$) positivo aos 30 dias de armazenamento. Porém, aos 60 dias somente as interações gelatina e fibra influenciaram positivamente enquanto que o probiótico e a fibra de trigo isolados e a interação dos mesmos apresentaram efeito significativo negativo aos 30 e 60 dias de armazenamento, respectivamente.



(a)



(b)

Figura 4.12 - Gráficos de Pareto com os efeitos estimados para o índice de extensão (g NST/100 g de NT) ao 30^º (a) e 60^º (b) dia de armazenamento a 15^ºC.

Repetiu-se no 30^º e no 60^º dia o efeito positivo da gelatina, em relação ao índice de extensão da proteólise devido a razão anteriormente mencionada. O efeito

negativo da fibra de trigo é decorrente da mesma não conseguir reter água, conseqüentemente diminuindo o conteúdo de umidade nesses queijos (Tabela 4.4), e com isso não favoreceu a ação das enzimas proteolíticas, e o desenvolvimento das bactérias lácticas (Tabela 4.22).

De acordo com AUGUSTO (2003), a velocidade e a extensão da proteólise durante a maturação são determinadas pelo tipo e atividade das enzimas proteolíticas presentes, como atividade residual do coalho, plasmina, sistema proteases/peptidases a partir do fermento e das bactérias não fermentativas. A composição química do queijo em termos de pH, conteúdo de sal e umidade influencia a proteólise. Adicionalmente, a estrutura e o acesso a vários sítios de clivagem da caseína na matriz do queijo determinam a velocidade e a extensão da proteólise. RODRÍGUEZ (1998) complementa e afirma que a proteólise primária, que resulta na formação de compostos nitrogenados solúveis a pH 4,6, é atribuída principalmente à ação do coagulante residual, mas o sistema proteolítico das culturas lácticas também contribui, no decorrer do tempo, para a hidrólise da caseína e o conseqüente aumento da extensão de proteólise, fato este que pôde ser comprovado neste estudo.

Vários autores avaliaram a evolução da extensão da proteólise em queijo tipo Prato durante o período de armazenamento (BARROS *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2005; MORENO *et al.*, 2005; COSTA *et al.*, 2005; SPADOTI *et al.*, 2005; RENSIS *et al.*, 2007). Ao comparar os índices de extensão de proteólise obtidos aos 60 dias de armazenamento (Tabela 4.18), com os obtidos pelos autores anteriormente citados, observou-se que ocorreu semelhança nos resultados obtidos por BARROS *et al.* (2006), que foi de 19,8 % aos 45 dias de armazenamento, em queijo tipo Prato *light* que empregou cultura adjunta de *L. helveticus*. Os demais autores obtiveram índices de extensão de proteólise menores, onde SILVA *et al.* (2005), encontraram valores de 7,7 e 10,9 no 30^º e 48^º dia de armazenamento, respectivamente, em um queijo tipo Prato com 1,9 % de gordura, adicionado de 2 % de cultura mesofílica (*L. lactis ssp lactis* e *L. lactis ssp cremoris*). MORENO *et al.* (2005) em queijo tipo Prato após 45 dias de armazenamento encontraram valor de 17,2. COSTA *et al.* (2005) encontraram valor de 10,1 no 30^º dia de armazenamento em queijo tipo Prato. SPADOTI *et al.* (2005) aos 25 dias de armazenamento encontraram valor de 14 em

queijo tipo Prato elaborado com leite ultrafiltrado, enquanto que RENSIS *et al.* (2007), encontraram valor de 10,5 g NST/100 g após 65 dias de armazenamento em queijo tipo Prato elaborado com leite desnatado e com cultura adjunta de *Lactobacillus casei e helveticus*.

4.2.8.2 Índice de Profundidade (IEP)

O índice de profundidade (IEP) está relacionado principalmente com a atividade das enzimas peptidases da cultura láctica empregada e das bactérias do próprio leite, sobre os peptídeos de alto peso molecular resultando em peptídeos de baixo peso molecular, estando relacionado com a proteólise secundária (NARIMATSU *et al.*, 2003; MORENO *et al.*, 2005; SPADOTI *et al.*, 2005; BARROS *et al.*, 2006).

A Tabela 4.19 apresenta os valores reais e codificados da matriz do planejamento fatorial completo 2^3 e os resultados em índice de profundidade da proteólise para o 2^º, 30^º e 60^º dia de armazenamento a 15 °C. Observa-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) durante os dias de armazenamento para todos os ensaios, com uma evolução no índice de profundidade da proteólise no decorrer dos dias de armazenamento

A Figura 4.13 mostra o perfil da evolução do índice de profundidade da proteólise durante o armazenamento (2, 30 e 60 dias) dos queijos tipo Prato. Verifica-se que os queijos dos ensaios 7, 8 e ponto central se comportaram de maneira diferenciada dos demais ensaios, com índices de profundidade acentuados aos 30 dias de armazenamento, com valores de 13,4, 10,7 e 8,8 %, respectivamente. Este comportamento está relacionado à adição do probiótico e da fibra de trigo, sendo que isto poderá ser melhor visualizado pela Tabela 4.20, onde verificam-se os efeitos significativos isolados e de interação positivos destas variáveis no índice de profundidade da proteólise do queijo tipo Prato com 30 dias de armazenamento.

Tabela 4.19 – Matriz do planejamento fatorial completo 2^3 (valores reais e codificados) e os resultados para índice de profundidade da proteólise ao 2^o, 30^o e 60^o dia de armazenamento a 15 °C.

Ensaio	* Variáveis independentes			Índice de Profundidade (g NNP/100 g de NT)		
	X ₁	X ₂	X ₃	2 ^o dia	30 ^o dia	60 ^o dia
1	0 (-1)	0 (-1)	0 (-1)	0,69 ^b (±0,001)	0,60 ^b (±0,00001)	16,68 ^a (±0,10)
2	10 (1)	0 (-1)	0 (-1)	0,66 ^c (±0,00001)	0,63 ^b (±0,001)	2,25 ^a (±0,016)
3	0 (-1)	10 (1)	0 (-1)	0,69 ^b (±0,004)	0,61 ^c (±0,007)	0,75 ^a (±0,009)
4	10 (1)	10 (1)	0 (-1)	0,69 ^c (±0,001)	1,04 ^b (±0,016)	10,14 ^a (±0,067)
5	0 (-1)	0 (-1)	0,014 (1)	0,72 ^c (±0,002)	1,12 ^b (±0,003)	8,81 ^a (±0,033)
6	10 (1)	0 (-1)	0,014 (1)	0,70 ^c (±0,003)	1,39 ^b (±0,002)	17,64 ^a (±0,043)
7	0 (-1)	10 (1)	0,014 (1)	0,70 ^c (±0,006)	12,58 ^b (±0,089)	12,81 ^a (±0,058)
8	10 (1)	10 (1)	0,014 (1)	0,71 ^c (±0,006)	9,69 ^b (±0,036)	14,24 ^a (±0,005)
Y**9,10,11	5 (0)	5 (0)	0,007 (0)	0,68 ^c (±0,002)	8,79 ^b (±0,238)	12,52 ^a (±0,630)

*X₁ = gelatina (g/L); X₂ = Fibra de trigo (g/L); X₃ = probiótico (g/L), *média seguida de letras iguais nas linhas (2, 30 e 60 dias de armazenamento) não diferem a nível de 5% (Teste Tukey).

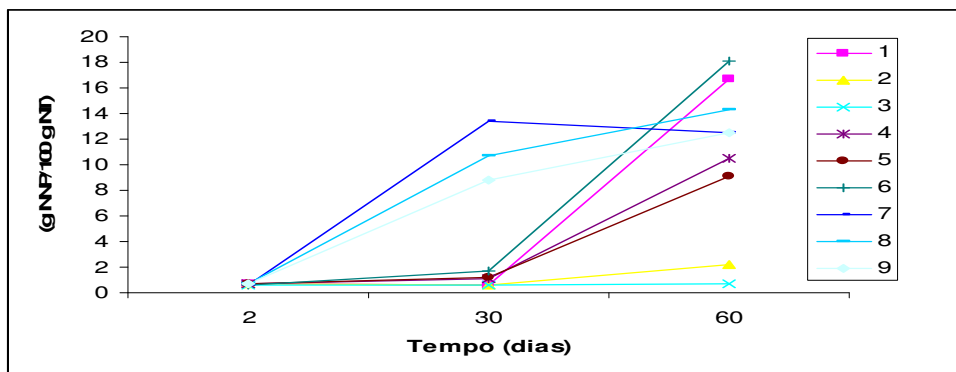


Figura 4.13 – Evolução do índice de profundidade da proteólise nos queijos tipo Prato durante o armazenamento a 15 °C.

Os resultados da análise estatística para o índice de profundidade no 2^o dia de armazenamento encontram-se no Apêndice B (Tabelas B.5 e B.6).

A Tabela 4.20 apresenta os coeficientes de regressão e desvio-padrão para o índice de profundidade aos 30 dias de armazenamento. Nota-se que as variáveis fibra de trigo e probiótico e a interação das mesmas apresentaram efeitos significativos positivos no índice de profundidade da proteólise, com 95 % de confiança.

Tabela 4.20 - Resultados do coeficiente de regressão e desvio padrão provenientes do planejamento fatorial completo 2^3 , para índice de profundidade no 30^o dia de armazenamento a 15 °C.

	Coef. de regressão	Desvio padrão	t (2)	P
Média*	5,10	0,07	71,09	0,0001
(1)Gelatina(L)	-0,20	0,08	-2,46	0,1326
(2)Fibra de trigo(L)*	2,71	0,08	32,22	0,0009
(3)Probiótico(L)*	3,00	0,08	35,67	0,0007
1L x 2L	-0,34	0,08	-4,06	0,0555
1L x 3L	-0,34	0,08	-4,10	0,0544
2L x 3L*	2,60	0,08	30,95	0,0010

*fatores estatisticamente significativos ($p < 0,05$).

O modelo apresentado na Equação 4.5 foi validado pela análise de variância apresentada na Tabela 4.21 onde verifica-se que o coeficiente de correlação obtido foi de 0,87 e o F calculado foi 1,67 vezes maior que o valor de F tabelado, e permitindo assim a construção da curva de contorno apresentada na Figura 4.14 para 30 dias de armazenamento.

Tabela 4.21 - Análise de Variância (ANOVA) para o índice de profundidade no 30^o dia de armazenamento a 15 °C.

Fontes de Variação	Somas de Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado
Regressão	185,673	3	61,89	7,22
Resíduos	60,006	7	8,57	
Falta de ajuste	59,893	5		
Erro puro	0,113	2		
Total	245,677	10		

Resíduos = Falta de Ajuste + Erro puro; $F_{\text{tab}, 95\%} = 4,35$; Coeficiente de correlação: $R = 0,87$.

Equação 4.5:

$$IP = 5,10 + 2,71 \cdot X_2 + 3,00 \cdot X_3 + 2,60 \cdot X_2 \cdot X_3 \quad (4.5)$$

onde: IP = Índice de profundidade da proteólise (g NNP/100 g de NT); X_2 = Fibra de trigo; X_3 = probiótico;

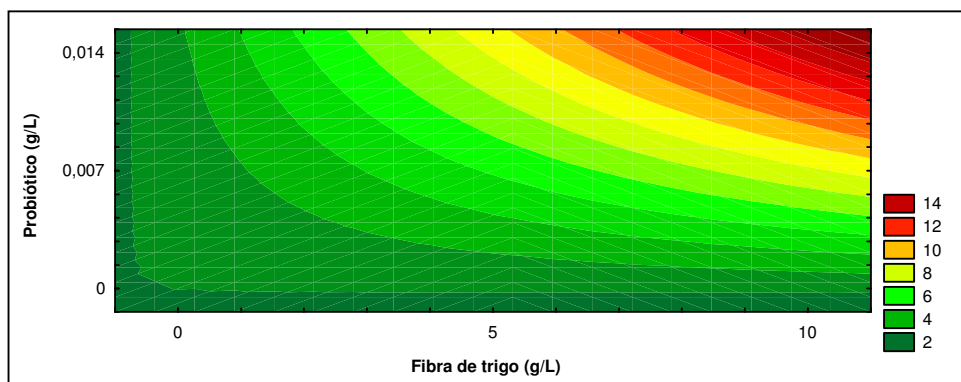


Figura 4.14 - Curva de contorno para o índice de profundidade (g NNP/100 g de NT) ao 30 º dia de armazenamento a 15 °C, em função da concentração de probiótico e fibra de trigo.

Verifica-se na Figura 4.14 que a faixa de maior índice de profundidade da proteólise aos 30 dias de armazenamento encontra-se próxima as concentrações máximas de probiótico e fibra de trigo, respectivamente.

As bactérias lácticas são responsáveis pela transformação de lactose em ácido láctico durante a preparação do queijo; suas enzimas também contribuem na maturação, estando envolvidas na proteólise e na conversão de aminoácidos em substâncias voláteis responsáveis pelas propriedades organolépticas do produto (KÁTIA, 2004).

A Figura 4.15 apresenta o Gráfico de Pareto para o índice de profundidade aos 60 dias de armazenamento. Indicando que a variável independente probiótico e as interações gelatina e fibra de trigo, e gelatina e probiótico apresentaram efeito significativo positivo ($p < 0,05$) sobre o índice de profundidade da proteólise. Porém, a fibra de trigo apresentou isoladamente efeito significativo negativo.

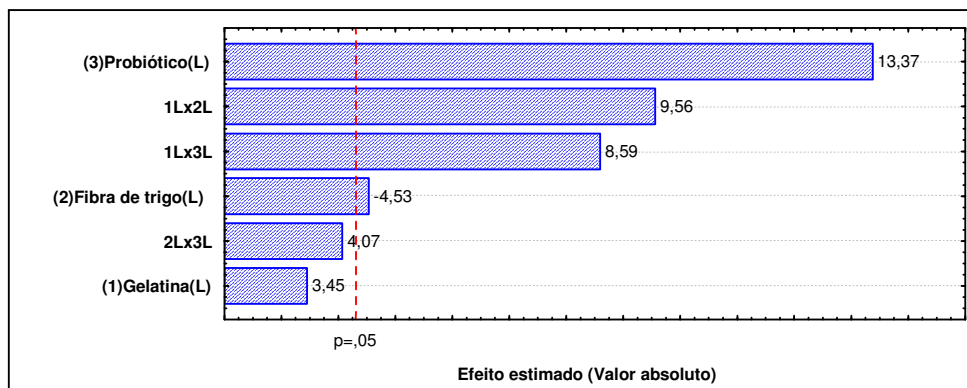


Figura 4.15 - Gráfico de Pareto com os efeitos estimados para o índice de profundidade (g NNP/100 g de NT) no 60^o dia de armazenamento a 15 °C.

Os efeitos positivos da adição de probiótico aos 30 e/ou 60 dias de armazenamento, sobre o índice de profundidade da proteólise estão de acordo com as informações de FOX *et al.* (2000), NARIMATSU *et al.* (2003) e AUGUSTO (2003), que afirmam que o aumento do índice de profundidade de proteólise ao longo do tempo pode ser explicado pela atuação das bactérias lácticas adicionadas e do próprio leite, que possuem as enzimas proteinases e peptidases. Na proteólise primária são formados peptídeos grandes pela ação da enzima presente no coalho e peptídeos pequenos pela ação das enzimas proteases do coalho e da cultura pura adicionada. Esses, por sua vez, são transformados em peptídeos aromáticos, aminoácidos e derivados de aminoácidos, pela ação das peptidases da cultura pura adicionada e das bactérias lácticas naturais do leite, caracterizando essa etapa como proteólise secundária (ONG *et al.*, 2007). Os dois últimos autores citados anteriormente ao realizarem estudo em queijo Cheddar com adição de cultura probiótica mista (*L. acidophilus*, *L. paracasei*, *L. Casei* ou *Bifidobacterium* sp) observaram que o índice de profundidade de proteólise aumentou progressivamente de 1 % para 22 % após 6 meses de armazenamento, sendo mais intenso após 60 dias.

Porém, BERGAMINI *et al.* (2006) produziram queijo semi forte com leite contendo 3,8 de gordura, com e sem adição de bactérias probióticas (*L. acidophilus* e *L. paracasei*) e não encontraram diferenças significativas entre o queijo sem adição de probiótico e os queijos adicionados de bactérias probióticas. Os autores

sugeriram que as bactérias probióticas estudadas não influenciaram na produção de peptídeos pequenos e médios.

Comparando os valores do índice de profundidade de proteólise obtidos nos ensaios 4, 5, 7 e Y (ponto central, Tabela 4.19) no 60^º dia de armazenamento, verifica-se que estes valores estão próximos aos encontrados por BARROS (2005), em queijo tipo Prato elaborado com leite desnatado e adicionado de cultura adjunta de *Lactobacillus helveticus*, que apresentou no índice de profundidade da proteólise no 65^º dia de armazenamento a 12 °C o valor de 10 g de NNP/100 g de NT. No entanto, os valores obtidos nesses ensaios foram superiores aos obtidos por SILVA *et al.* (2005) em queijo tipo Prato elaborado com leite contendo 1,9 % de gordura, e adicionado de 2 % de cultura mesofílica (*L. lactis ssp lactis* e *L. lactis ssp cremoris*), que obteve no 48^º dia de armazenamento índice de profundidade de proteólise de 6,4 g de NNP/ 100 g de NT.

4.3 Bactérias lácticas

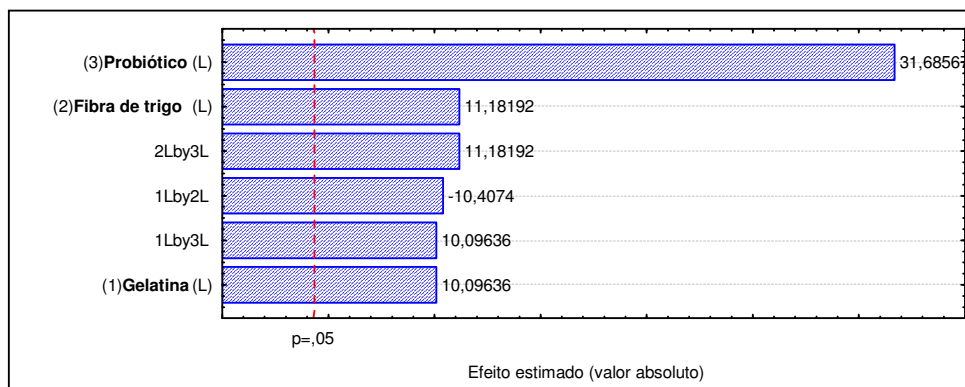
A Tabela 4.22 apresenta os valores reais e codificados da matriz do planejamento fatorial completo 2³ e os resultados do número de colônias de bactérias lácticas (log UFC/g) para o 2^º, 30^º e 60^º dia de armazenamento a 15 °C. Observa-se que o número de colônias de bactérias lácticas aumentou significativamente entre o 2^º e 30^º dia de armazenamento, no ponto central (9, 10 e 11), e que nos demais ensaios também houve aumento. No Ensaio Y (ponto central), ocorreu um aumento significativo ($p < 0,05$) de colônias bactérias lácticas até os 30 dias de armazenamento e o 60^º dia de armazenamento manteve-se constante em torno de 8,4 log UFC/g. Sendo que nos ensaios 1, 2 e 6 no 60^º dia que apresentavam maior teor de umidade (Tabela 4.4), possivelmente tenha favorecido o crescimento das bactérias lácticas.

Tabela 4.22 – Matriz do planejamento fatorial completo 2^3 (valores reais e codificados) e os resultados em bactérias lácticas para o 2º, 30º e 60º dia de armazenamento a 15 °C.

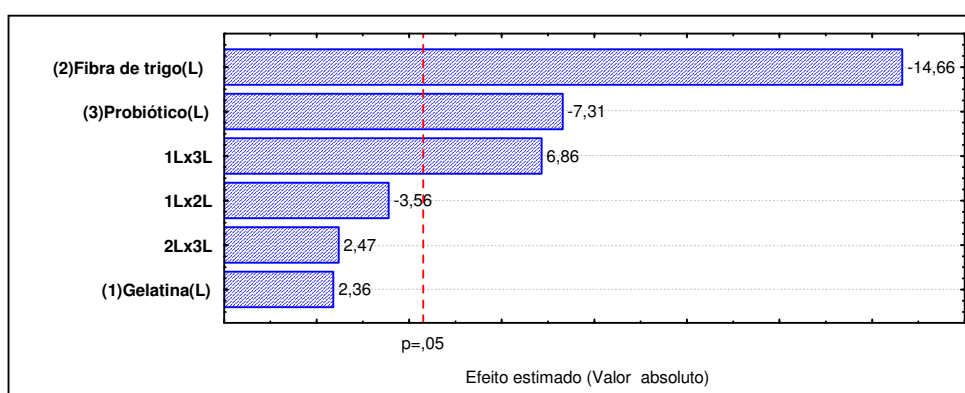
Ensaio	* Variáveis independentes			Bactéria Láctica (log UFC/g)		
	X ₁	X ₂	X ₃	2º dia	30º dia	60º dia
1	0 (-1)	0 (-1)	0 (-1)	1,0	7,5	10,7
2	10 (1)	0 (-1)	0 (-1)	1,0	8,6	10,1
3	0 (-1)	10 (1)	0 (-1)	1,0	8,5	8,9
4	10 (1)	10 (1)	0 (-1)	1,0	8,6	8,8
5	0 (-1)	0 (-1)	0,014 (1)	6,5	8,5	8,7
6	10 (1)	0 (-1)	0,014 (1)	6,6	8,5	10,4
7	0 (-1)	10 (1)	0,014 (1)	6,9	8,2	8,5
8	10 (1)	10 (1)	0,014 (1)	6,8	8,7	8,4
Y **9,10,11	5 (0)	5 (0)	0,007 (0)	6,6 ^b (±0,19)	8,3 ^a (±0,21)	8,4 ^a (±0,12)

*X₁ = gelatina (g/L); X₂ = Fibra de trigo (g/L); X₃ = probiótico (g/L), Y = ponto central (média ± desvio padrão); **letras iguais nas linhas (2, 30 e 60 dias de armazenamento) não diferem à nível de 5% (Teste Tukey).

No 2º dia de armazenamento, o Gráfico de Pareto apresentado na Figura 4.16 (a) mostra que somente a interação gelatina x fibra apresentou efeito significativo ($p < 0,05$) negativo, as demais interações e variáveis apresentaram efeito positivo. Demonstrando que logo após a elaboração das formulações de queijo tipo Prato a adição de gelatina e fibra de trigo não dificultaram o crescimento das bactérias lácticas, o mesmo foi verificado aos 30 dias de armazenamento, onde nenhuma das variáveis independentes estudadas apresentaram efeito significativo ($p < 0,05$), sobre a contagem do número de colônias de bactérias lácticas (Tabela 4.22). Contudo, aos 60 dias de armazenamento a fibra de trigo e o probiótico tiveram efeito significativo ($p < 0,05$) e negativo e a interação gelatina x probiótico tiveram efeito positivo no crescimento de bactérias lácticas, como observado na Figura 4.16 (b).



(a)



(b)

Figura 4.16 - Gráficos de Pareto com os efeitos estimados para a o número de colônias de bactérias lácticas no 2^o (a) e 60^o (b) dia de armazenamento a 15 °C, respectivamente.

O efeito negativo apresentado pela fibra de trigo no número de colônias de bactérias lácticas, deve-se ao fato que a mesma também exerceu efeito negativo no teor de umidade (Tabela 4.4), uma vez que essa é essencial para o desenvolvimento das bactérias. Em relação ao efeito negativo do probiótico no número de colônias de bactérias lácticas, explica-se pelo fato que a cultura probiótica utilizada (*Lactobacillus rhamnosus*) faz parte desse grupo de bactérias.

O efeito positivo apresentado pela gelatina no número de colônias de bactérias lácticas, esta relacionado com o aumento de umidade que ocorreu nos queijos com a sua adição (Tabela 4.4).

Tabela 4.23 - Resultados do coeficiente de regressão e desvio padrão provenientes do planejamento fatorial completo 2^3 , para o número de colônias de bactérias lácticas aos 30 dias de armazenamento a 15 °C.

	Coef. de regressão	Desvio padrão	t (2)	p
Média*	8,34	0,06	130,48	0,00005
(1)Gelatina(L)	0,24	0,07	3,24	0,08312
(2)Fibra de trigo(L)	0,12	0,07	1,61	0,24750
(3)Probiótico(L)	0,09	0,07	1,24	0,33792
1L x 2L	-0,07	0,07	-1,04	0,40407
1L x 3L	-0,11	0,07	-1,48	0,27640
2L x 3L	-0,13	0,07	-1,84	0,20568

*fatores estatisticamente significativos ($p < 0,05$).

Um alimento é considerado adicionado com probiótico quando a contagem do mesmo for maior ou igual a $\log 7,0$ UFC/g e a dose mínima terapêutica proposta é $\log 5,0$ UFC/g (STANTON *et al.*, 2001 e SONGISEPP *et al.*, 2004). Observa-se no 2º dia de armazenamento que nos ensaios onde foi adicionada a cultura probiótica, o número de colônias de bactérias lácticas não atingiu o número recomendado para alimento ser considerado adicionado de probiótico, conseqüentemente nem a cultura pura probiótica atingiu esse número. BURITI (2005) menciona que as bactérias probióticas multiplicam-se melhor em queijos frescos do que em queijos maturados, em decorrência do teor de umidade e atividade de água serem menores do que o encontrado neste tipo de queijo.

Um dado interessante é que a adição de 0,007 g/L de cultura probiótica apresentou o mesmo número de colônias de bactérias lácticas do que a adição de 0,014 g/L, no 2º dia de armazenamento (Tabela 4.22).

Embora os queijos com teor reduzido de gordura sejam classificados por alguns autores como queijos de qualidade inferior (MICHAELIDOU *et al.*, 2003), meios com baixas concentrações de gordura são favoráveis à multiplicação e sobrevivência de bactérias lácticas.

4.4 Características sensoriais

A Tabela 4.24 apresenta os valores reais e codificados da matriz do planejamento fatorial completo 2^3 e os resultados das características sensoriais (aceitação geral, sabor e textura) dos queijos no 30^o e 60^o dia de armazenamento a 15 °C.

Para o atributo aceitação geral (Tabela 4.24), verifica-se que o Ensaio 9 (Ensaio A - histograma) avaliado aos 30 e 60 dias de armazenamento, obteve médias de 7,47 e 5,63, que correspondem na escala hedônica ao gostei moderadamente e nem gostei/nem desgostei, respectivamente. De acordo com o histograma de frequência (Figura 4.17 - a e b), observa-se que o Ensaio 9, apresentou comportamento semelhante ao Ensaio 1 (Ensaio A), correspondendo a aceitabilidade de 42 e 40 %, respectivamente. Contudo, para todos os ensaios analisados aos 60 dias a aceitação geral apresentou um decréscimo, sendo que pelo histograma de frequência (Figura 4.17 - b) a máxima aceitação geral foi de 30 % para o Ensaio I (Ensaio 9 - ponto central de concentrações).

O histograma de frequência referente ao atributo sabor (Figura 4.18), aos 30 (a) e 60 dias (b) dias de armazenamento, mostra as notas atribuídas entre 5, 6, 7 e 8, correspondendo assim à faixa de aceitação obtida para o sabor.

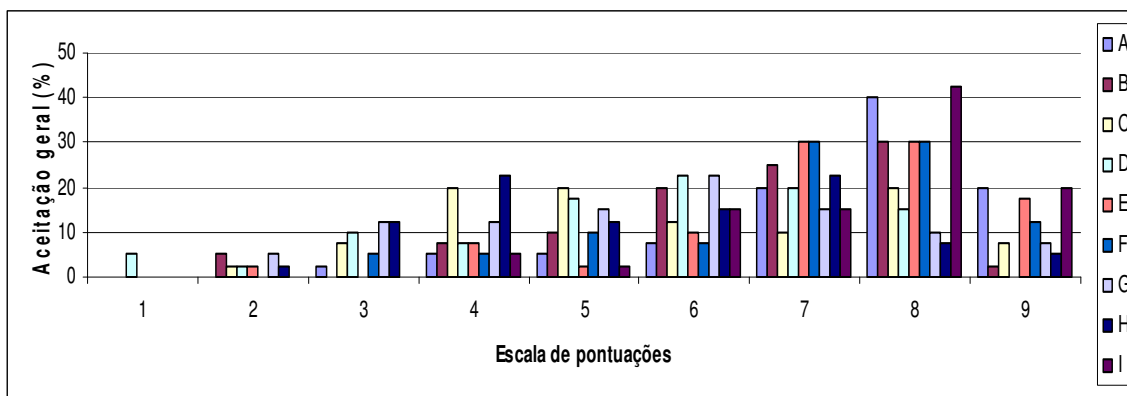
Os valores médios obtidos para o atributo sabor (Tabela 4.24) e Figura 4.18 (a) mostram que para os Ensaios 1 e 9, os queijos aos 30^o dia de armazenamento, apresentaram como característica "gostei muito", correspondendo a aceitação geral, do sabor de 43 e 37 %, respectivamente. Contudo, para todos os ensaios analisados aos 60 dias, houve um decréscimo da aceitação do sabor e a máxima pontuação (gostei ligeiramente) foi atribuída ao Ensaio 1 (Queijo tradicional), com 30 % aceitação geral para o sabor. O decréscimo deve-se ao fato de que a maioria dos provadores detectaram sabor residual amargo pronunciado aos 60 dias de maturação. O sabor amargo está relacionado com o aparecimento de peptídeos menores, que são formados pela ação das enzimas proteinases do coalho e de algumas bactérias lácticas sobre peptídeos maiores (SOUZA *et al.*, 2001).

Tabela 4.24 – Matriz do planejamento fatorial completo 2^3 (valores reais e codificados) e resposta em aceitação geral, sabor e textura dos queijos aos 30 e 60 dias de armazenamento a 15 °C.

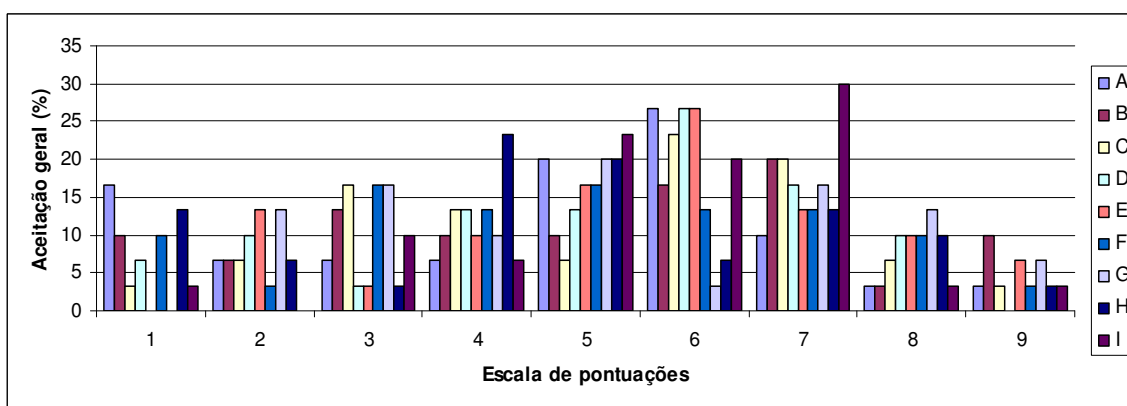
Ensaio	* Variáveis independentes			Respostas					
	X ₁	X ₂	X ₃	Aceitação		Sabor		Textura	
				30 dias	60 dias	30 dias	60 dias	30 dias	60 dias
1	0 (-1)	0 (-1)	0 (-1)	7,38 ^a (±1,49)	4,63 ^b (±2,27)	7,20 ^a (±1,86)	4,67 ^b (±2,36)	7,55 ^a (±1,55)	6,30 ^b (±1,57)
2	10 (1)	0 (-1)	0 (-1)	6,47 ^a (±1,65)	5,10 ^b (±2,42)	6,33 ^a (±1,79)	4,77 ^b (±2,50)	7,30 ^a (±1,57)	6,50 ^b (±1,65)
3	0 (-1)	10 (1)	0 (-1)	5,80 ^a (±1,92)	5,17 ^a (±2,05)	5,55 ^a (±2,16)	4,60 ^a (±2,14)	5,78 ^a (±2,12)	6,20 ^a (±1,83)
4	10 (1)	10 (1)	0 (-1)	5,53 ^a (±1,92)	5,13 ^a (±2,05)	5,40 ^a (±1,98)	4,60 ^a (±2,28)	5,90 ^a (±1,67)	6,63 ^a (±1,83)
5	0 (-1)	0 (-1)	0,014(1)	7,15 ^a (±1,59)	5,53 ^b (±2,01)	7,10 ^a (±1,64)	4,57 ^b (±2,19)	7,22 ^a (±1,75)	6,80 ^b (±1,60)
6	10 (1)	0 (-1)	0,014(1)	6,92 ^a (±1,60)	4,87 ^b (±2,22)	6,63 ^a (±1,83)	4,53 ^b (±2,40)	7,45 ^a (±1,62)	6,30 ^b (±1,76)
7	0 (-1)	10 (1)	0,014(1)	5,60 ^a (±1,93)	5,20 ^a (±2,45)	5,53 ^a (±2,12)	4,93 ^a (±2,43)	5,22 ^a (±2,12)	6,20 ^a (±1,95)
8	10 (1)	10 (1)	0,014(1)	5,47 ^a (±1,82)	4,73 ^a (±2,28)	5,30 ^a (±1,97)	4,20 ^b (±2,24)	5,17 ^a (±1,97)	5,77 ^a (±1,88)
9	5 (0)	5 (0)	0,007(0)	7,47 ^a (±1,32)	5,63 ^b (±1,71)	7,25 ^a (±1,43)	4,70 ^b (±1,86)	7,51 ^a (±1,36)	6,80 ^b (±1,39)

*X₁ = gelatina (g/L); X₂ = Fibra de trigo (g/L); X₃ = probiótico (g/L) ** letras iguais nas linhas para cada atributo (30 e 60 dias de armazenamento) não diferem à nível de 5% (Teste de Tukey).

O desenvolvimento de gosto amargo em queijos durante o armazenamento é mais propenso de ocorrer naqueles produzidos com baixo teor de gordura, e principalmente devido ao alto teor de umidade e baixo teor de sal (COSTA e ABREU, 2005).



(a)



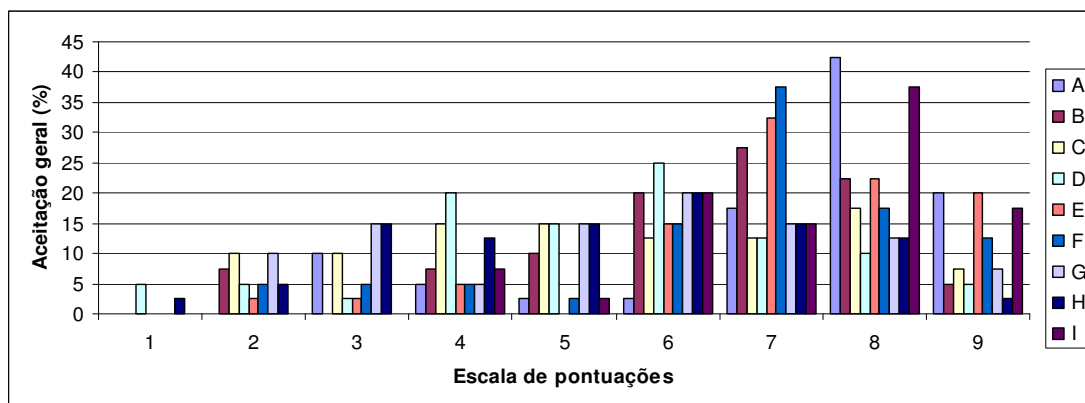
(b)

Figura 4.17 – Histograma de freqüência para Aceitação geral aos 30 (a) e 60 dias (b), respectivamente (9 - gostei muitíssimo, 8 - gostei muito, 7 - gostei moderadamente, 6 - gostei ligeiramente, 5 - nem gostei / nem desgostei, 4 - desgostei ligeiramente, 3 - desgostei moderadamente, 2 - desgostei muito, 1 - desgostei muitíssimo).

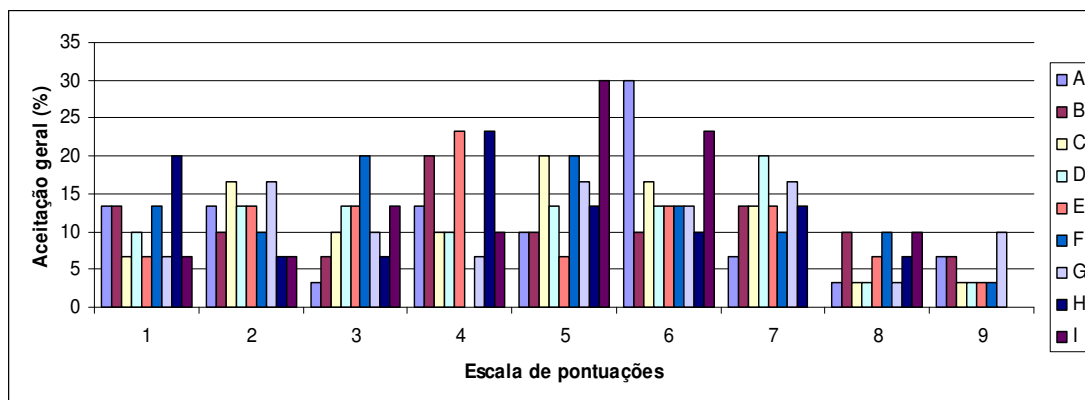
Quanto maior a quantidade de gordura removida, mais difícil se torna à manutenção das características sensoriais e funcionais. Com reduções menores no teor de gordura, as mudanças nas características funcionais dos produtos são menos dramáticas, porém grandes o suficiente para serem detectadas pelos consumidores (MISTRY, 2002).

SPADOTI *et al.* (2005) avaliaram sensorialmente queijo tipo Prato obtido por modificações do processo tradicional de fabricação do queijo com o uso de leite concentrado por ultrafiltração e pré-fermentação de 10% do mesmo, e observaram a

presença de um leve gosto amargo nas formulações dos queijos com 45 dias de estocagem a temperatura de 7 ± 1 °C, prejudicando seu sabor.



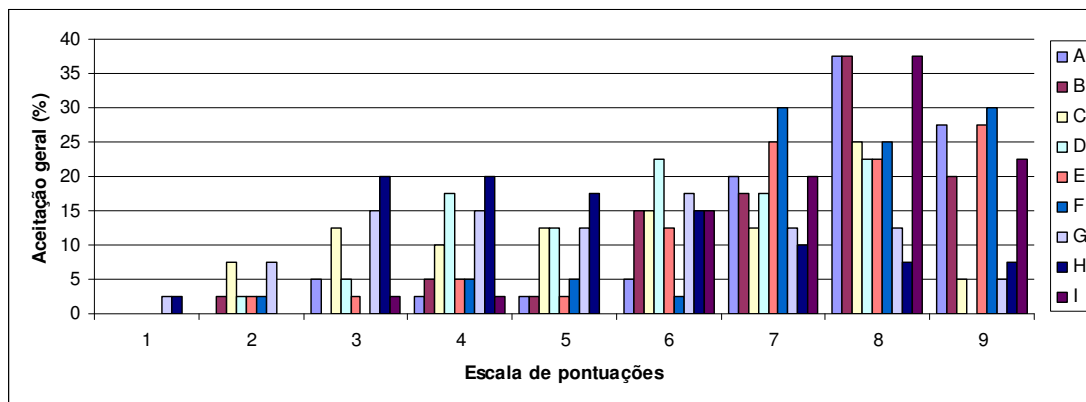
(a)



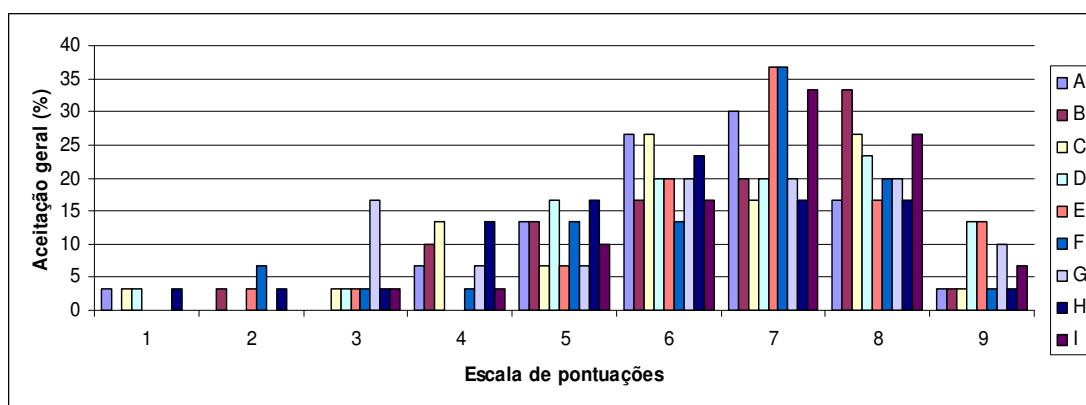
(b)

Figura 4.18 – Histograma de frequência para o Sabor aos 30 (a) e 60 dias (b), respectivamente.

A Figura 4.19 mostra o histograma de frequência referente ao atributo textura, aos 30 (a) e 60 dias (b) dias de maturação. Para os ensaios 1, 2 e 9 aos 30 dias de armazenamento (Figura 4.19 - a), foram atribuídos as maiores pontuações para a textura (8 - gostei muito), com aceitação de 37 %, respectivamente. Aos 60 dias de armazenamento, os queijos dos Ensaios 5, 6 e 7 foram os que se sobressaíram no atributo textura ("gostei moderadamente").



(a)

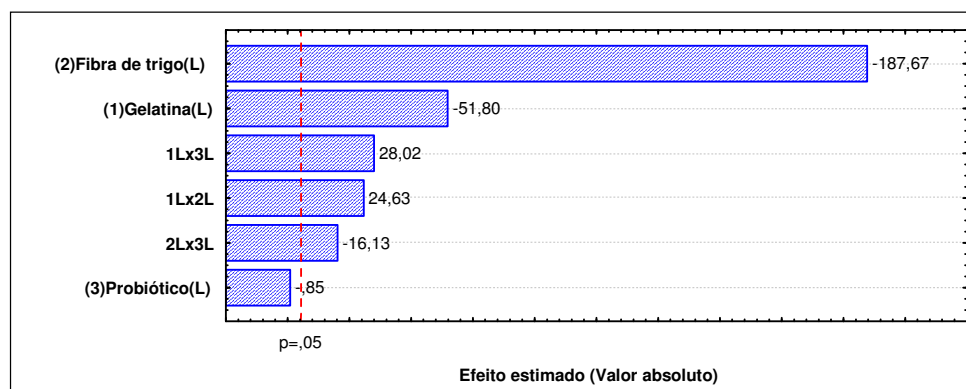


(b)

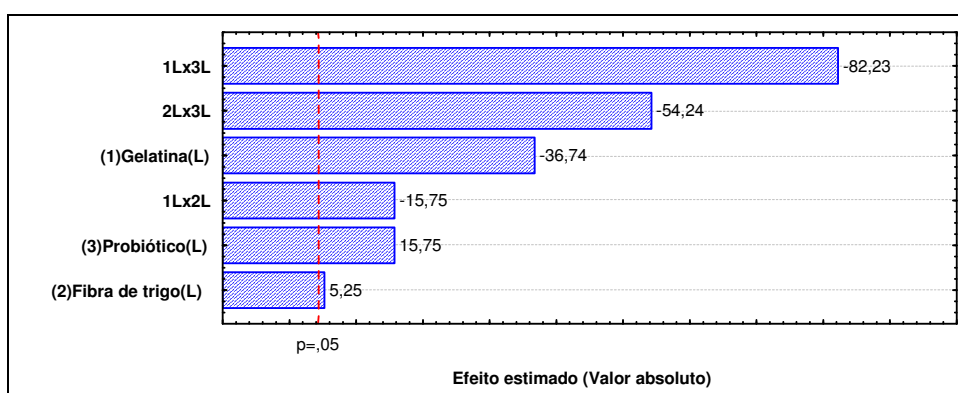
Figura 4.19 – Histograma de frequência para Textura aos 30 (a) e 60 dias (b), respectivamente.

As Figura 4.20, 4.21 e 4.22 apresentam os gráficos de Pareto com os efeitos estimados para aceitação geral, sabor e textura aos 30 (a) e 60 (b) dias de armazenamento, a 15 °C, respectivamente.

Conforme demonstrado no Gráfico de Pareto da Figura 4.20, aos 30 (a) dias de armazenamento as variáveis estudadas gelatina e fibra de trigo, e a interação fibra de trigo x probiótico apresentaram efeito significativo ($p < 0,05$) negativo sobre a aceitação geral, sendo que as interações gelatina x probiótico, e a gelatina x fibra de trigo apresentaram efeito positivo. Verifica-se que aos 60 (b) dias de armazenamento a concentração de probiótico e a fibra de trigo apresentaram efeito positivo significativo no intervalo de confiança de 95 % para aceitação geral, sendo que a gelatina e as demais interações apresentaram efeito negativo significativo no intervalo de confiança estudado.



(a)



(b)

Figura 4.20 - Gráfico de Pareto com os efeitos estimados para aceitação geral aos 30 (a) e 60 (b) dias de armazenamento a 15 °C, respectivamente.

Na Figura 4.21 – (a), observa-se que no 30^o (a) dia de armazenamento o sabor foi influenciado negativamente pelas variáveis independentes fibra de trigo e gelatina e pela interação fibra de trigo x probiótico. Contudo, as interações gelatina x fibra de trigo, e gelatina x probiótico exerceram efeito significativo ($p < 0,05$) positivo. No entanto, aos 60^o dia de armazenamento, a Figura 4.21 – (b) mostra que somente a interação fibra de trigo x probiótico apresentou efeito positivo, e as demais interações e variáveis apresentaram efeito negativo.

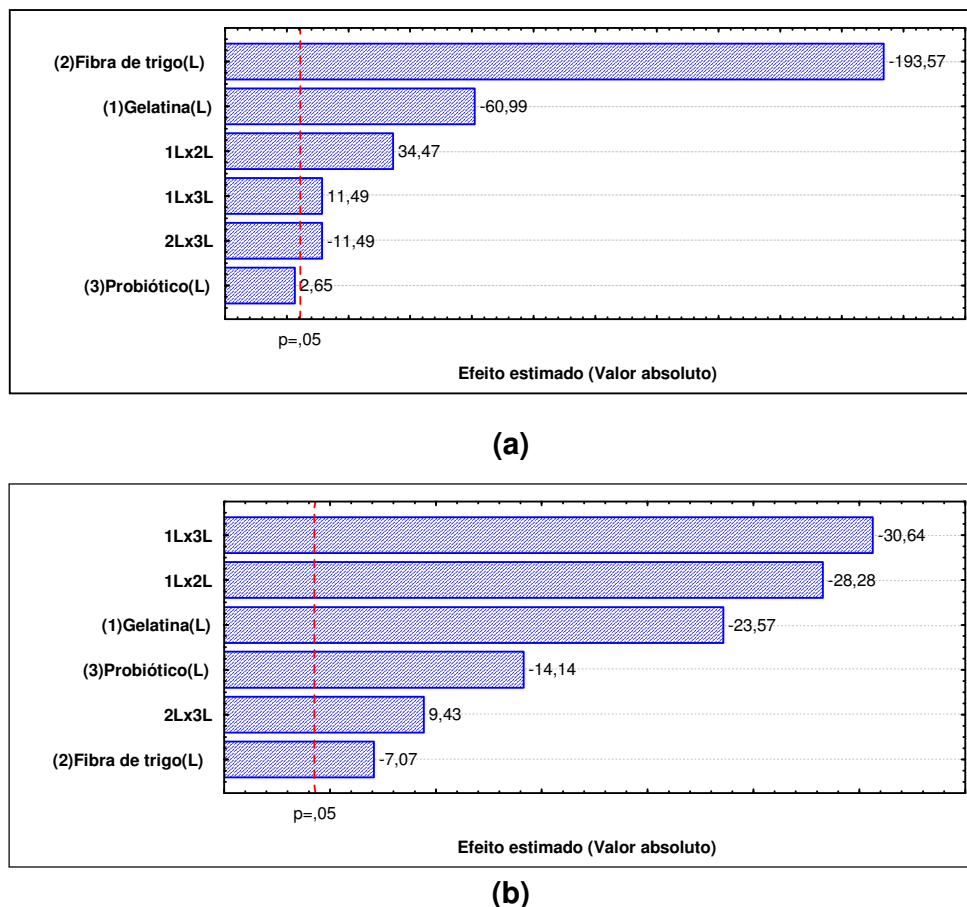
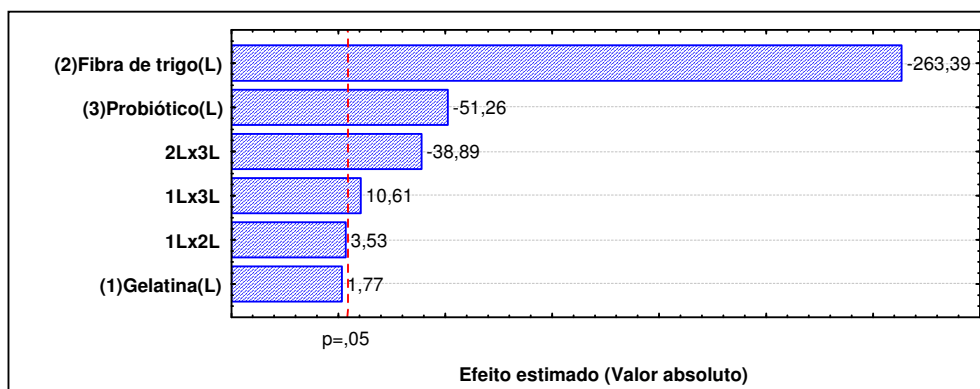


Figura 4.21 - Gráfico de Pareto com os efeitos estimados para sabor aos 30 (a) e 60 (b) dias de armazenamento a 15 °C, respectivamente.

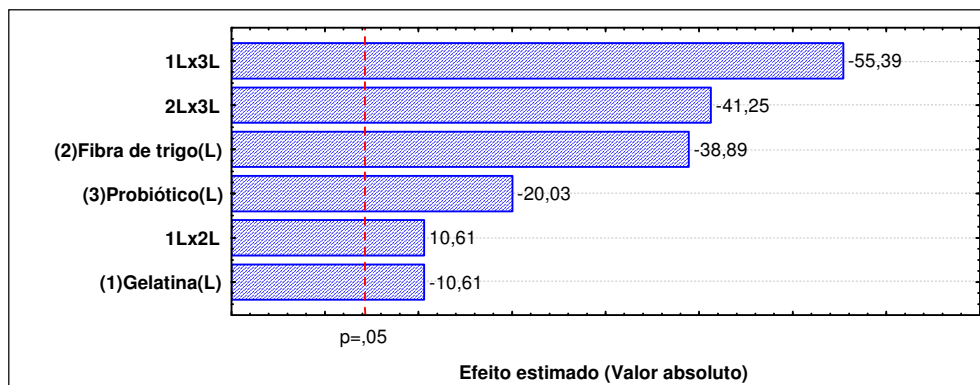
A Figura 4.22 apresenta o Gráfico de Pareto para o atributo textura no 30 °(a) dia de armazenamento. Somente a interação gelatina e probiótico tiveram efeito positivo significativo ($p < 0,05$), enquanto que a concentração de probiótico e fibra de trigo e a interação fibra de trigo x probiótico tiveram efeito negativo. No entanto, aos 60 dias de armazenamento somente a interação gelatina e fibra de trigo tiveram efeito positivo ($p < 0,05$), para as demais interações e variáveis o efeito apresentado foi negativo.

Alguns autores relatam que a redução no teor de gordura de queijos influencia em sua textura. Queijo tipo Prato obtido por modificações no processo tradicional de fabricação, foram considerados mais duros em relação ao queijo

padrão (SPADOTI *et al.*, 2005). KAVAS *et al.* (2004) observaram que a diminuição nas percentagens de gordura nos queijos revelou produtos com maior umidade e aumento na dureza ao longo do armazenamento, além de apresentarem-se mais duros que os queijos tradicionais. Estudos com queijo cheddar comprovaram que, reduzindo a gordura, sem qualquer alteração no processo tecnológico de fabricação, promove o aparecimento de textura mais dura e borrachenta, diminuindo a adesividade e a coesidade (COSTA e ABREU, 2005).



(a)



(b)

Figura 4.22 - Gráfico de Pareto com os efeitos estimados para textura aos 30 (a) e 60 (b) dias de armazenamento a 15 °C, respectivamente.

A associação da gelatina com o probiótico (*L. rhamnosus*) aos 30 dias de armazenamento demonstrou efeito significativo ($p < 0,05$) positivo sobre as características sensoriais (aceitação geral, sabor e textura). Alguns autores relatam

a utilização de cultura adjunta no sentido de melhorar e/ou acelerar o desenvolvimento do sabor dos queijos com reduzido teor de gordura. RENSIS *et al.* (2007) elaboraram queijo tipo Prato com reduzido teor de gordura e adição de *L. casei* e *L. helveticus*, verificaram que a cultura pura adicionada acelerou o desenvolvimento do sabor do queijo através do aumento da proteólise, especificamente da atividade da enzima aminopeptidase. Em estudo com queijo Cheddar, LAW *et al.* (1993) observaram o aumento da proteólise ao longo do armazenamento, atribuído a presença da cultura starter de *L. lactis*. Os autores consideraram que as enzimas proteinases do *starter* presente, juntamente com o coalho, possivelmente seriam os responsáveis pelo aumento dos peptídeos no queijo. Desta forma, o substrato para a ação das enzimas peptidases da bactéria *starter* torna-se mais abundante, facilitando a produção de peptídeos menores e aminoácidos que contribuem para o *flavor* dos queijos.

O queijo é um sistema químico, microbiológico e enzimaticamente complexo e dinâmico, e as características de sabor e textura dos queijos são desenvolvidas durante um período de armazenamento (maturação), através das atividades das enzimas lipolíticas e proteolíticas das bactérias neles presentes (BOYLSTON *et al.*, 2004).

A proteólise que ocorre durante o armazenamento dos queijos é a responsável direta pelas modificações de textura dos queijos, devido à quebra na sua matriz protéica, que contribui significativamente no desenvolvimento do sabor (FOX, 1998; FOX *et al.*, 2000; BURITI *et al.*, 2005b) este comportamento reflete o desenvolvimento esperado da maturação dos queijos. Após a fabricação, o queijo é insípido e de textura borrachenta. A hidrólise da caseína pelo coalho residual retido na massa e pela plasmina promove a mudança da textura na matriz protéica, proporcionando o amaciamento do queijo. Os produtos desta hidrólise são grandes e pequenos peptídeos e aminoácidos, precursores dos compostos que contribuirão para o sabor do produto (FOX *et al.*, 2000; MCSWEENEY, 2004).

A textura é uma característica importante usada para diferenciar e classificar variedades de queijos (KEALY, 2006; ANTONIOU *et al.*, 2000) e é considerada pelos consumidores como uma referência na qualidade e preferência global, defeitos

na textura incluem aumento da firmeza, dureza e elasticidade (BANKS, 2004; SOARES *et al.*, 2007).

O desenvolvimento de textura do queijo ocorre devido à quebra da fração caseínica durante a maturação. Quando a gordura é removida, como no queijo com baixo teor de gordura, as caseínas tornam-se as principais responsáveis pela textura, quando ocorre uma hidrólise inadequada destas caseínas o queijo apresenta textura relativamente firme (COSTA e ABREU, 2005).

A contribuição da proteólise ao sabor é causada pelo aumento nos peptídeos, aminoácidos livres, aminas, ácidos, tiois e tiorésteres, formados durante o processo de degradação (HELLER *et al.*, 2003; PRIETO *et al.*, 2004).

4.5 Considerações finais

As indústrias de laticínios têm efetuado algumas mudanças na tecnologia de fabricação de alguns produtos, buscando atribuir efeitos benéficos à saúde de quem os consome. Desta forma, neste estudo, o queijo tipo Prato fabricado foi considerado um alimento funcional, sendo um produto diferenciado por apresentar probiótico e agregado de gelatina e fibra de trigo, além disso, apresentou uma boa aceitação entre os provadores. O queijo tipo Prato apresentou uma redução de gordura de aproximadamente 50 a 70% em relação ao queijo tipo Prato tradicional, caracterizando-o como queijo tipo *light*, atendendo às necessidades atuais dos consumidores com relação a novos produtos que apresentam características benéficas à saúde, tanto do ponto de vista nutricional, como do ponto de vista inovador.

5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

5.1 Conclusões

- Os queijos pertencentes ao ponto central (ensaios 9, 10 e 11), apresentaram valores de rendimento dentro da faixa de um bom rendimento para queijo, as variáveis independentes fibra de trigo e as interações fibra de trigo e gelatina, fibra de trigo e probiótico, exerceram influência significativa ($p < 0,05$) e negativa sobre o rendimento.

- Ocorreram poucas variações no teor de umidade dos queijos, em todas as formulações estudadas no decorrer do armazenamento (51 a 54 % no ponto central), e conseqüentemente não apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$), em virtude do emprego da embalagem á vácuo. Estes valores de umidade classificam os como queijos de alta umidade.

- Os queijos contendo fibra, fibra e probiótico e fibra e gelatina apresentaram umidade entre 49,3 a 54,8 %, sendo classificados como queijos de alta umidade, enquanto que os queijos contendo probiótico e gelatina apresentaram umidade entre 55,8 a 58,8 % sendo classificados como queijos com muita alta umidade.

- O pH do 2º para o 30º dia de armazenamento reduziu seus valores nos ensaios do ponto central. Já no 60º dia de armazenamento ocorreu aumento do pH indicando a ocorrência de proteólise pela ação das enzimas presentes, favorecendo o desenvolvimento do probiótico adicionado.

- No 2º e 30º dia de armazenamento nenhuma variável estudada exerceu influência significativa no teor de acidez nos queijos.

- Para a lactose a interação das variáveis gelatina e fibra exerceu influência significativa negativa no 2º dia de armazenamento.

- Entre o 2º e o 60º dia de armazenamento ocorreram reduções significativas ($p < 0,05$) e sucessivas no teor de lactose, ocorrendo um maior consumo neste período, ocasionado pela degradação das bactérias lácticas e o probiótico adicionado, e a obtenção de produtos finais, como CO_2 e ácido láctico.

- Durante todo o período de armazenamento dos queijos (2º, 30º e 60º dias), os valores de proteína nos ensaios 9, 10 e 11 (Ponto central do planejamento) não

diferiram significativamente a nível de 5 %. No 2^o dia a interação entre gelatina e fibra de trigo foi a única variável que exerceu influência significativa ($p < 0,05$) negativa, no 30^o dia somente a variável probiótico apresentou efeito negativo, e aos 60 dias nenhuma das variáveis independentes exerceu influência significativa ($p < 0,05$), dentro da faixa estudada.

- Na gordura as três variáveis estudadas apresentaram influência significativa sobre o 2^o dia de armazenamento.

- Os teores de gorduras obtidos nos onze ensaios apresentam valores de aproximadamente 50 a 70 % inferiores aos queijos tipo Prato tradicionais relatados na literatura, caracterizando-o como queijo tipo *light*.

- Os maiores teores de fibra-bruta nos queijos tipo Prato foram observados nos ensaios 7 e 8 respectivamente, no 2^o dia de armazenamento, nos ensaios onde adicionou-se gelatina e probiótico favoreceram a retenção da fibra na massa.

- Verifica-se que houve um aumento significativo ($p < 0,05$) na extensão de proteólise no decorrer do período de armazenamento. No 30^o dia a gelatina e o probiótico obtiveram um maior aumento do índice de extensão da proteólise. No 2^o e 60^o dia de armazenamento, o maior aumento na extensão da proteólise ocorreu no queijo onde foi adicionado probiótico em sua composição.

- Observa-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) no decorrer dos dias de armazenamento para todos os ensaios, com uma evolução no índice de profundidade da proteólise. Aos 30 dias de armazenamento as variáveis fibra de trigo e probiótico e a interação das mesmas apresentaram efeitos significativos positivos no índice de profundidade da proteólise, e aos 60 dias a variável independente probiótico e as interações gelatina e fibra de trigo, e gelatina e probiótico apresentaram efeito significativo positivo ($p < 0,05$) sobre o índice de profundidade da proteólise.

- O número de colônias de bactérias lácticas aumentou significativamente entre o 2^o e 30^o dia de armazenamento, no ponto central (9, 10 e 11), no 60^o dia de armazenamento manteve-se constante em torno de 8,4 log UFC/g.

- Para o atributo aceitação geral os queijos avaliados aos 30 e 60 dias de armazenamento, obtiveram médias de 7,47 e 5,63, que correspondem na escala hedônica ao gostei moderadamente e nem gostei/nem desgostei, respectivamente.

- Em relação ao sabor, para todos os ensaios analisados, houve um decréscimo da aceitação do sabor, variando de 7,25 aos 30 dias a 4,70 nos 60 dias.
- A adição de *L. rhamnosus* como cultura adjunta não resultou em diferenças nos índices de extensão de proteólise. Entretanto o maior índice de profundidade de proteólise e a avaliação sensorial mostraram que o queijo produzido com *L. rhamnosus* foi bem mais aceito em relação ao sabor e textura. O uso do probiótico também aumentou a aceitação dos queijos para o atributo aceitação geral.

5.1 Sugestões para trabalhos futuros

- Estudo mais aprofundado para avaliar a maneira de preparo e adição da gelatina na massa do queijo;
- Redefinir níveis de probiótico nas mesmas condições do estudo e avaliar a contagem de *Lactobacillus rhamnosus* por um período maior de maturação;
- Avaliar mais profundamente a proteólise e outras frações nitrogenadas;
- Treinamento dos provadores.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIQ. Associação Brasileira das Indústrias de Queijo. Queijo. Queijos no Brasil. Disponível em <http://www.abiq.com.br> Acesso em 05 de setembro de 2007.

ALANDER, M.; SATORAKI, R.; KORPELLA, R.; SAXELIN, M.; VILPPONEN-SALMELLA, T.; MATTILA-SANDHOLM, T.; WRIGHT, A. V. Persistence of colonization of human colonic mucosa by a probiotic strain, *Lactobacillus rhamnosus* GG, after oral consumption. **Applied and Environmental Microbiology**, v.65, n. 1, p. 351-354, 1999.

ALEGRO, J. H. A. Desenvolvimento de queijo minas frescal probiótico com *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis* isolados e em co-cultura. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, São Paulo, p. 84, 2003.

ANDERSON, J. W.; HANNA, T. J. Impact of nondigestible carbohydrates on serum lipoproteins and risk for cardiovascular disease. **Journal of Nutrition**, Kentucky, v. 129, p. 1475S-1466s, 1999.

ANTONIOU, K. D.; PETRIDIS, D.; RAPHAELIDES, S.; OMAR, Z. B. E KESTELOOT, R. Texture assessment of French cheeses. **Journal Food Science**, v. 65, p. 68–172, 2000.

ANVISA A. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Comissões Tecnocientíficas de Assessoramento em Alimentos funcionais e novos alimentos. Recomendações da comissão já aprovadas pela Diretoria de Alimentos em Toxicologia. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/alimentos/comissoes/tecno.htm>. Acesso em 05 de setembro de 2007.

ANVISA B. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Alimentos. Legislação. Legislação especificada área por assunto. **Substâncias bioativas e**

probióticos, isolados com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde. Resolução RDC nº 2, de 07 de janeiro de 2002. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br> Acesso em 05 de setembro de 2007.

ARDÖ, Y. Characterizing ripening in low fat and semi-hard round-eyed cheese made with underfined mesophilic DL-starter. **International Dairy Journal**, Huntington, v. 3, n. 4-6, p. 343-357, 1993.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). Official Methods of Analysis of AOAC International. 17.ed. USA, 2000.

AUGUSTO, M. M. M. Influência do tipo de coagulante e do aquecimento no cozimento da massa na composição, rendimento, proteólise e características sensoriais do queijo prato. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas, p. 190, 2003.

AUGUSTO, M. M. M. Seleção e treinamento de julgadores para avaliação do gosto amargo em queijo prato **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 25, n. 4, p. 849-853, 2005.

BALDASSO, C.; MARTINS, S.; SANGIOVANNI.; Espessantes, Porto Alegre, 2004. Disponível em: <<http://www.urgs.br/alimentus>>. Acessado em 11 de novembro de 2007.

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

BARROS, C. M. V.; Uso de culturas adjuntas e ultrafiltração para melhoria de sabor e textura de queijo com reduzido teor de gordura. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas, 2005.

BARROS, C. M. V.; CUNHA, C. R.; GALLINA, D. A.; VIOTTO, L. A.; VIOTTO, W. H. Efeito do uso de cultura adjunta (*Lactobacillus helveticus*) na proteólise, propriedades viscoelásticas e aceitação sensorial de queijo prato light. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 11-18, Campinas, 2006.

BERESFORD, T. P.; FITZSIMONS, N. A.; BRENNAN, N. L.; COGAN, T. M. Recent advances in cheese microbiology. **International Dairy Journal**, v. 11, n. 4-7, p. 259-274, 2001.

BERGAMINI, C. V.; HYNES, E. R.; QUIBERONI, A.; SUÁREZ, V. B.; ZALAZAR, C. A. Probiotics bacteria as adjunct starters: influence of the addition methodology on their survival in a semi-hard Argentinean cheese. **Food Research International**, v. 38, p. 597-604, 2005.

BERGAMINI, C. V.; HYNES, E. R.; ZALAZAR, C. A. Influence of probiotic bacteria on the proteolysis profile of a semi-hard cheese. **International Dairy Journal**, v. 16, p. 856-866, 2006.

BERNAL, O. L. M. **Desenvolvimento de uma bebida fermentada a partir de extrato hidrossolúvel de soja, contendo agentes probióticos e prebióticos**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas, p. 102, 2004.

BIER, O. **Microbiologia e Imunologia**, São Paulo: Melhoramentos, 24^a ed. p.1234,1994.

BISTRÖM, M.; NORDSTRÖM, K. Identification of key success factors of functional dairy foods product development. **Trends in Food Science and Technology**, v. 13, p. 372 – 379, 2002.

BOYLSTON, T. D.; VINDEROLA, C. G.; GHODDUSI, H. B.; REINHEIMER, J. A. Incorporation of bifidobacteria into cheeses: challenges and rewards. **International Dairy Journal**, v. 14, p. 375-387, 2004.

BOURROUL, G. Ingredientes criam lácteos funcionais a serviço da saúde humana. **Revista Leite e Derivados**, n. 93, p.36-48, mar-abr. 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde – Secretaria de vigilância Sanitária. Regulamento técnico referente à informação nutricional complementar, **Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998**. Acesso em 07 de janeiro de 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Resolução n. 18*, de 30 de abril de 1999. Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rotulagem de Alimentos. Brasília, Acesso em 07 de janeiro de 2008, 1999a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Resolução n. 19*, de 30 de abril de 1999. Regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimento com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde em sua Rotulagem. Brasília, Acesso em 07 de janeiro de 2008. 1999b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Métodos Físico-químicos para Análise de Alimentos. 4. ed. Brasília, DF, p. 1018, 2005.

BRASIL. Portaria nº 146, de 07 de março de 1996. Regulamento técnico de identidade e qualidade dos produtos lácteos. O Ministério de Estado da Agricultura e Abastecimento e da Reforma Agrária institui: **Regulamento técnico de identidade e qualidade de queijos**. Diário Oficial da União, Brasília, 11 março, 1996. Seção 1. Disponível em <http://www.agricultura.gov.br> Acesso em 05 de setembro de 2007a.

BRASIL. Portaria n^o 358, de 04 de setembro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Queijo Ralado. Ministério de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Legislação. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, jun. 1997. Disponível em <http://www.agricultura.gov.br> Acesso em 05 de setembro de 2007b.

BURITI, F. C. A; ROCHA, J. S.; ASSIS, E .G.; SAAD, S. M. I. Probiotic potential of Minas fresh cheese prepared with the addition of *Lactobacillus paracasei*. *Lebensm.-Wiss. U.-Technology*. v. 38, p.173-80, 2005a.

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**, v. 15, p. 1279-1288, 2005b.

BURITI, F. C. A. Desenvolvimento de queijo fresco cremoso simbiótico. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, Área de Tecnologia de Alimentos. Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, p. 86, 2005.

CALLEGARO, M. G. K.; DUTRA, C. B.; HUBER, L. S.; BECKER, L. V.; ROSA, C. S.; KUBOTA, E. H., HECKTHEUR, L. H. Determinação da fibra alimentar insolúvel, solúvel e total de produtos derivados de milho. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 25, p. 271-274, 2005.

CICHOSKI, A. J.; CUNICO, C.; LUCCIO, M. D. L.; ZITKOSKI, J. L.; CARVALHO, R. T. Efeito da adição de probióticos sobre as características do queijo prato com reduzido teor de gordura, fabricado com fibras e lactato de potássio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, no prelo, 2008.

CICHOSKI, A. J.; VALDUGA, E.; VALDUGA, A. T; FRESNO, J. M. Caracterización y estudio bioquímico del queso prato artesanal a lo largo de su maduración. In: **XVI**

Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Rio de Janeiro-RJ, 1998.

CICHOSKI, A. J.; VALDUGA, E.; VALDUGA, A.; TORNADIJO, M. E.; FRESNO, J. M. Characterization of Prato cheese, a Brazilian semi-hard cow variety: evolution of physico-chemical parameters and mineral composition during ripening. **Food Control**. v. 13, p. 329-336, 2002.

CICHOSKI, A. J.; STEFFENS, C. BERTOLDI, C. Bactérias lácticas e mesófilas, lactose, acidez, pH, atividade de água, umidade e cloretos em queijo prato elaborado com leite semidesnatado concentrado. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 62, n. 355, p. 12-19, 2007.

CHR-Hansen, Maturação de Queijos. **Revista Ha-La Biotec**, v. 92, ano XV, Março/Abril, 2006.

CORRÊA, A. D. **Farinha de folhas de mandioca**: efeitos de processamentos sobre alguns nutrientes e antinutrientes. Tese (Doutorado Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, p. 108, 2000.

CORRÊA, A. D. - **Fibras na prevenção de doenças**. UFLA - Universidade Federal de Lavras - Lavras-MG, p. 43, 2002.

COSTA, G. E. A. C. Correlação entre valor nutritivo e teores de fibra alimentar e amido resistente de dietas contendo grãos de ervilha (*pisum sativum* L.), feijão-comum (*phaseolus vulgaris* L.), grão-de-bico (*cicer arietinum* L.) e lentilha (*lens culinaris* méd.). Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para obtenção de título de Mestre em Alimentos e Nutrição – Área de Nutrição Experimental e Aplicada à Tecnologia de Alimentos, Campinas –SP, p. 63, 2005.

COSTA, R. G. B. e ABREU, L. R. Queijos com baixos teores de gordura. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 60, n 344, p. 17-24, 2005.

COSTA, R. G. B.; LOBATO, V.; ABREU, L. R. Aspectos físico-químicos do queijo prato submetido a salga em salmoura estática e com agitação. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 60, n. 344, p. 03-16, 2005 b.

CUNICO, C. **Caracterização do queijo prato adicionado de probióticos fibras vegetais e lactato de potássio**. Monografia apresentada ao Curso de Especialização em Engenharia de Alimentos. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Uri Campus de Erechim, RS, p. 74, 2006.

CUNHA, C. R. D. A.; SPADOTI, L. M.; ZACARCHENCO, P. B.; VIOTTO, W. H. Efeito do fator de concentração do retentado o rendimento de queijo minas frescal de baixo teor de gordura fabricado por ultrafiltração **Revista Ciência e tecnologia de alimentos**. Campinas, v.22. jan-abr., p. 76-78, 2002.

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**, v.16. p. 215-224, 2006.

DELLA VECHIA, C.; ZAGO, D.; SCHOFFEN, V.; KATSUDA, M. S. Avaliação química e físico-química do queijo tipo prato adicionado de bifidobacterim lactis durante a maturação. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Anais do XXII Congresso Nacional de Laticínios, v. 60, n. 345, p. 268-271, 2005.

DI LENA, G.; PATRONI, E.; QUAGLIA, G. B. Improving the nutritional value of wheat bran by a whiterot fungi. **International Journal of food science and technology**, Oxford, v. 32, p. 513-519, 1997.

DORNELLAS, J. R. F.; SPADOTI, L. M.; ROIG, S. M. efeito da pré-fermentação de diferentes porções de leite concentrado por ultrafiltração na estrutura instrumental do queijo prato. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 61, n. 351, p. 423-426, 2006.

DRAKE, M. A.; SWANSON, B. G. Reduced and Low-fat Cheese Technology: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 6, p. 366-369, 1995.

DRUNKLER, D. A., SENE, L.; OLIVEIRA, L. Probióticos, prebióticos e simbióticos: Alimentos funcionais em ascensão. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 60, n 343, p. 29-37, 2005.

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

FEDERATION INTERNACIONALE LE LAITIERE. FIL – IDF 5B: determinacion de la gordura, 1986.

FARIA, E. V.; YOTSUYANAGI, K. **Técnicas de análise sensorial**. Campinas: ITAL/LAFISE, p.116, 2002.

FEREIRA, C. L. L. F. Fatores que afetam o crescimento de microrganismos em queijo. **Revista leite e derivados**, n. 76, p. 90-96, 2004.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos** São Paulo; Editora Atheneu, p.187, 2005.

FOOKS, L. J.; FULLER, R.; GIBSON, G. R. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. **International Dairy Journal**. v. 9, n. 1, p. 53-61, 1999.

FOX, P. F. Developments in the biochemistry of cheese ripening. **Proceedings of 25th International Dairy Federation**. p.11-38. 1998.

FOX, P. F. Exogenous enzymes in dairy technology: A review. **Journal Food Biochemistry**, v.17, p. 173 - 199, 1993.

FOX, P. F., GUINEE, T. P., COGAN, T. M., MCSWEENEY, P. L. H. **Fundamentals of Cheese Science**. Gaithersburg Maryland: An Aspen Publication, Inc. 587p. 2000.

FOX, P. F. Proteolysis during cheese manufacture and ripening. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 6, p. 1379 – 1400, 1989.

FURTADO, M. M.; LOURENÇO NETO, J. P. M. **Tecnologia de Queijos – Manual técnico para a produção industrial de queijos**. Dipemar, São Paulo, p. 118, 1994.

FURTADO, M. M. O rendimento da fabricação de queijos: métodos para avaliação e comparação. VIII Catálogo Brasileiro de produtos e serviços, **Revista Leite e Derivados**, v. 9, n. 50, p. 88-105, 2000.

FURTADO, M. M. A formação de olhaduras em queijos semiduros através da fermentação de citratos. **Revista indústria de laticínios**. p. 32-39, 2002.

GALLINA, D. A.; BARROS, C. M. V.; VIOTTO, W. H. Aceitação sensorial do queijo prato light com *lactobacillus* como cultura adjunta. **Anais XVIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de alimentos**, p. 3006-3010, Porto Alegre – RS e CD-Rom com ISBN: 85-89123-01-4, 2002.

GARCIA, G. A. C.; SILVA, C. R. B.; NABUCO, A. C.; MORETTI, B. R.; PENNA, A. L. B. Avaliação das características físico-químicas e dos índices de maturação de diferentes tipos de queijos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 60, n 345, p. 231-234, 2005.

GARCIA, T. Gelatina em cremes vegetais. **Revista Leite e Derivados**, n. 88 p. 45-48, 2005.

GARDINER, G.; ROSS, R. P.; COLLINS, J. K.; FITZGERALD, G.; STANTON, C. Development of a probiotic cheddar cheese containing human-derived *Lactobacillus paracasei* strains. **Applied and Environmental Microbiology**, v.64, n. 6, p. 2192-2199, 1998.

GARDINER, G.; STANTON, C; LYNCH, P. B.; COLLINS, J. K.; FITZGERALD, G.; ROSS, R. P. Evaluation of cheddar cheese as a food carrier for delivery of a probiotic strain to the gastrointestinal tract. **Journal of Dairy Science**, v.82, p. 1379-1387, 1999.

GIBSON, G. R. Fibre and effects on probiotics (the prebiotic concept). **Clinical Nutrition Supplements**, v. 1, p. 25-31, 2004.

GOMES, A, M, P; MALCATA, F, X. Development of probiótico cheese manufactured from goat milk: response surface analysis via technological manipulation. **Journal of Dairy Science**, v.81, p. 1492-1507, 1998.

GORBACH, S. L. Probiotics in the third Millenium. **Digest liver disease**, v. 34, p. 52-57, 2002.

GORDON, D. T. Intestinal health through dietary fiber, prebiotics, and probiotics. **Food Technology**, v. 56, n. 4, p. 23, 2002.

GUTIERREZ, E. M. R.; DOMARCO, R. E.; SPOTO, M. H. F.; BLUMER, L.; MATRAIA, C. Efeito da radiação gama nas características físico-químicas e microbiológicas do queijo prato durante a maturação. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 4, p. 596-601, 2004.

GUTKOSKI, L. C.; PEDÓ, I. **Aveia**: composição química, valor nutricional e processamento. São Paulo: Varela, p. 191, 2000.

HELLER, K. J.; BOCKELMANN, W.; SCHREZENMEIR, J.; DEVRESE, M. Cheese and its potencial as a probiotic food. In: FARNWORTH, E. R., ed. **Handbook of fermented functional foods**, Boca Raton: CRC Press, p. 203-225, 2003.

HYDAMAKA, A. W.; WILBEY, R. A.; LEWIS, M. J.; KUO, A. W. Manufacture of heat and acid coagulated cheese from ultrafiltered milk retentates. **Food Research International**, n. 34, p. 197-205, 2001.

HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STALEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. Bergey's **Manual of Determinative Bacteriology**. 9 ed. Baltimore: Lippincott Williams e Wilkins, p. 787, 1994.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (FIL – IDF) Standart 28^a. Determination of the lactose content of cheese and processed cheese products. Brussels, 1974.

ISOLAURI, E; SUTAS, Y; KANKAANPAA, ARVILOMMI, H; SALMINEN, S. Probiotics: effects on immunity. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, p. 444s-50s, 2001.

JAY, J. M. **Modern food microbiology**. 4 ed.: Zaragoza, Espana, Acribia, p. 804, 1994.

KÁTIA, S. P. Queijos; aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**. São Paulo, v. 27, n. 2, mar-abr. 2004.

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**. v. 88, p. 381-388, 2004.

KASIMOGLU, A.; GONCUOGLU, M.; AKGUN, S. Probiotic white cheese with *Lactobacillus acidophilus*. **International Dairy Journal**, v. 14, p.1067-1073, 2004.

KATSUDA, M. S; MIGLIORANZA, L. H. S.; PRUDÊNCIO-FERREIRA, S. H.; FONSECA, I. C. B. Caracterização química, sensorial e de textura, de queijo tipo prato com teor reduzido de gordura. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 54, n 309, p. 128-133, 1999.

KEALY, T. Application of liquid and solid rheological technologies to the textural characterization of semi-solid foods. **Food Research International**, v. 39, p. 265–276, 2006.

KLAENHAMMER, T. R. Functional activities of *Lactobacillus* probiotics: Genetics mandate. **International Dairy Journal**, v. 8, p. 497-505, 1998.

LAW, B. A. **Microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk**. 2 ed. London: Blackie Academic & Professional, p. 365, 1997.

LAW, J.; FITZGERALD, G. F.; UNIACKE-LOWE, T.; DALY, C.; FOX, P. F. The contribution of *Lactococcal* starter proteinases to proteolysis in Cheddar cheese. **Journal of Dairy Science**, v.76, p. 2455-2467, 1993.

LANDERSJO, C.; YANG, Z; HUTTUNEN, E.; WIDMALM, G. Structural studies of the exopolisaccharide produced by *Lactobacillus rhamnosus* strain GG (ATCC 53103). **Biomacromolecules**, v. 3, p. 880-884, 2002.

LINCHSTEIN, H. C. Y.; OGINSKY, E.L. Experimental microbial physiology. W.H. Freeman and Company, San Francisco and London, v. 142, p. 2, 1965.

LOURENS-HATTINGH, A.; VILJOEN, B. C. Yogurt as probiotic carrier food. **International Dairy Journal**. v. 11, p. 1-17, 2000.

MACEDO, R. E. F. Utilização de culturas lácticas potencialmente probióticas no processamento de produto cárneo fermentado. Tese apresentada ao programa de Pós –Graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, p. 192, 2005

MALLET, F. S.; CARVALHO, E. M.; MORAES, L. F. Produção de queijos com teores reduzidos de gordura. Disponível em: < <http://www.laticínio.net>>. Acessado em 18 de dezembro de 2007.

MAHAN, L. K.; SCOTT-STUMP, S. M. A. Krause **Alimentos, nutrição e dietoterapia**. 11. ed. São Paulo, São Paulo, Roca, p. 1242, 2005.

MATTILA-SANDHOLM T.; MYLLARINEN P.; CRITTENDEN R.; MOGENSEN G.; FONDEN R.; SAARELA M. Technological challenges for future probiotic foods. **International Dairy Journal**, v. 12, n. 2-3, p. 173-182, 2002.

MATSUBARA, S. Alimentos funcionais: uma tendência que abre perspectivas aos laticínios. **Revista Indústria de Laticínios**, São Paulo, v. 6, n. 34, p. 10-18, 2001.

MCSWEENEY, P L. H. Biochemistry of cheese ripening. **International Journal of Dairy technology**, v. 57, n. 2 3, p. 127-144, 2004.

MICHAELIDOU, A.; KATSIARI, M. C.; KONDYLI, E.; VOUTSINAS, L. P.; ALICHANIDIS, E. Effect of a commercial adjunct culture on proteolysis in low-fat Feta-type cheese. **International Dairy Journal**, v. 13, p. 179-189, 2003.

MICHIDA, H.; TAMALAMPUDI, S.; PANDIELLA, S. S.; WEBB, C.; FUKUDA, H.; KONDO, A. Effect of cereal extracts and cereal fiber on viability of *lactobacillus plantarum* under gastrointestinal tract conditions. **Biochemical Engineering Journal**, v. 28, p. 73-78, 2006.

MILAGRES, M. P.; DAHER, G. C.; PAULA, S. A.; DUARTE, S. R. S.; FURTADO, M. M. Estudo da viabilidade de desenvolvimento de um requeijão light, com adição de fibra. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 60, n 345, p. 140-143, 2005.

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

MISTRY, V. V. Low fat fermented milk products. **Anais**, In: Congresso brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre, 2002.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: Definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3(2), p. 109-122, 2006.

MORENO, I.; DESTRO, M. T.; VAN DENDER, A. G. F.; SILVA, A. T.; VIALTA, A.; MARASCA, E. T. G.; COSTA, G. A. N.; TRENTA, F. K. H. S. Estudo comparativo da atividade enzimática e da proteólise em queijo prato de diferentes origens. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Anais do XXII Congresso Nacional de Laticínios, v. 60, n 345, p. 409-413, 2005.

NARAYANAN, N.; ROYCHOUDHURY, P. K.; SRIVASTAVA, A. Isolation of adh mutant of *Lactobacillus rhamnosus* for production of L (+) lactic acid. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 7, n. 1, p. 72-84, 2004.

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. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, p. 177-182, Campinas, SP, 2003.

NICOLI, J. R. e VIEIRA, L. Q. Probióticos, prebióticos e simbióticos: moduladores de ecossistema digestivo. **Ciência Hoje**, v.28, n. 163, p. 34-38, ago, 2002.

NORONHA, N.; O'RIORDAN, E. D, O'SULLIVAN, M. Replacement of fat with functional fibre in imitation cheese. **International Dairy Journal**, v. 17, p. 1073-1082, 2007.

OHR, L. M. Improving the gut feeling. **Food Technology**, v.56, n. 10, p. 67-70, 2002.

OLIVEIRA, J. E. D. de; MARCHINI, S. J. **Ciências nutricionais**. São Paulo: Sarvier, p. 403, 2000.

OLIVEIRA, J. S. **Queijos fundamentos tecnológicos**. 2 ed. São Paulo: Editora da UNICAMP, 146p, 1986.

OLIVEIRA, M. N e DAMIN, R. M. Efeito do teor de sólidos e da concentração de sacarose na acidificação, firmeza e viabilidade de bactérias do iogurte e probióticas em leite fermentado. **Ciência e Tecnologia de alimentos**, v.23, p. 172-176, Campinas, 2003.

OLIVEIRA, M. N.; SIVIERI, K.; ALEGRO, J.H.A.; SAAD, S.M.I. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v.38, n.1, p.1-21, 2002.

ONG, L.; HENRIKSSON, A.; SHAH, N.P. Chemical analysis and sensory evaluation of Cheddar cheese produced with *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei* or *Bifidobacterium sp.* **International Dairy Journal**. v. 17, p 937-945, 2006.

ONG, L.; HENRIKSSON, A.; SHAH, N.P. Proteolytic pattern and organic acid profiles of probiotic Cheddar cheese as influenced by probiotic strains of *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. paracasei*, *Lb. casei* or *Bifidobacterium sp.*. **International Dairy Journal**. v. 17, p. 67-78, 2007.

PENNA, A. L. B. Avaliação da Maturação do Queijo prato. **Anais do XIX Congresso Nacional de Laticínios**. Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos – UNESP/ São José do Rio Preto – São Paulo. Juiz de Fora – MG, 2002.

PERRY, K. S. P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, v.27, n.2, São Paulo, mar/abr, 2004.

PRIETO, B.; FRANCO, I.; FRESNO, J. M.; PRIETO, J. G.; BERNARDO, A.; CARBALLO, J. Effect of ripening time and type of rennet (farmhouse rennet from kid or commercial calf) on proteolysis during the ripening of León cow milk cheese. **Food Chemistry**, v. 85, p. 389-398, 2004.

RENSIS, C. M. B.; GOMES, C. S.; VIOTTO, W. H. Influência do uso de culturas adjuntas comerciais na composição, proteólise e características sensoriais de queijo prato com teor reduzido de gordura. **Revista do Instituto de Laticínios Candido Tostes**, Anais do XXIV Congresso Nacional de laticínios, v. 62, n. 357, p. 208-214, 2007.

ROBERFROID, M. B. Concepts and strategy of functional food science: the european perspective. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, n. 6 (suppl.), p. 1660-1664, 2000.

RODRÍGUEZ, J. Recent advances in the development of low-fat cheeses. **Trends in Food Sci. and Technol.**, v. 9, p. 249-254, 1998.

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

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 1, p. 1-16. São Paulo, 2006.

SAARELA, M.; MOGENSEN, G.; FONDÉM, R.; MÄTTÖ, J.; MATTILA-SANDHOLM, T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. **Journal of Biotechnology**, v. 84, p. 197-215, 2000.

SALMINEN, S.; OUWEHAND, A. C.; ISOLAURI, E. Clinical applications of probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, v. 8, p. 563-572, 1998.

SÁNCHEZ-ALONSO, I; HAJI-MALEKI, R.; BORDERIAS, A.J. Wheat fiber as a functional ingredient in restructured fish products. **Food Chemistry**, v. 100, p. 1037-1043, 2007.

SBAMPATO, C. G.; ABREU, L. R.; FURTADO, M. M. Queijo gorgonzola fabricado com leite pasteurizado por ejetor de vapor e HTST: parâmetros físico-químicos e sensoriais. **Pesquisa agropecuária Brasileira - PAB**, v. 35, n. 1, p. 191-200, 2000.

SCHRIEBER, R.; GAREIS, H. **Gelatine Handhook: Theory and Industrial Practice**. Wiley-vch Verlag Gmbh & Co. KGaA, Weinheim, p. 347, 2007.

SILVA, M. A. M.; BARCELOS, M. F. P.; SOUSA, R. V.; LIMA, H. M.; FALCO, I. R.; LIMA, A. L. PEREIRA, M. C. A. Efeito das fibras dos farelos de trigo e aveia sobre o perfil lipídico no sangue de ratos (*Rattus norvegicus*) Wistar. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.27, n. 6, p.1321-1329, 2003.

SILVA, C. R. B.; MORETTI, B. R.; NABUCO, A. C.; GARCIA, G. A. C.; PENNA, A. L. B. Maturação de queijo prato: comparação entre o produto integral e o produzido com teor reduzido de gordura. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 60, n. 345, p. 235-237, 2005.

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

SILVEIRA, P. R.; ABREU, L. R. Rendimento e composição físico-química do queijo prato elaborado com leite pasteurizado pelo sistema HTST e injeção direta de vapor. **Ciência e Agrotecnologia**, v.27, n. 6, p.1340-1347, 2003.

SOARES, N. F. F.; PEREIRA, J. M. A. T. K. MELO, N. R.; SILVA, W. A.; BASTOS, M. S. R. Análise do perfil de textura (TPA) de queijos produzidos com leites de cabra e de vaca. **Revista do Instituto de Laticínios Candido Tostes**, Anais do XXIV Congresso Nacional de laticínios, v. 62, n. 357, p. 22-27, 2007.

SONGISEPP, E.; KULLISAAR, T.; HÜTT, P.; ELIAS, P.; BRILENE, T.; ZILMER, M.; MIKELSAAR, M. A new probiotic cheese with antioxidative and antimicrobial activity. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n.7, p.2017-2023, 2004.

SORDI, M. G.; MENONCIN, S.; CICHOSKI, A. J.; ZITIKOSKI, J. L. Presunto cozido com fibras. **Higiene Alimentar**, v. 20, n. 145, p. 54-60, 2006.

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

SPADOTI, L. M., DORNELLAS, J. R. F., PETENATE, A. J; ROIG, S. M., Avaliação do rendimento do queijo tipo prato obtido por modificações no processo tradicional de fabricação. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 3, p. 492-499, Campinas, SP, 2003.

SPADOTI, L. M.; DORNELLAS, J. R. F.; ROIG, S. M. Avaliação sensorial de queijo prato obtido por modificações do processo tradicional de fabricação. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 705-712, Campinas, 2005.

STANTON, C.; GARDINER, G.; LYNCH, P. B.; COLLINS, J. K.; FITZGERALD, G.; ROSS, R. P. Probiotic cheese. **International Dairy Journal**, v.8, p.491-496, 1998.

STANTON, C.; GARDINER, G.; MEEHAN, H.; COLLINS, J. K.; FITZGERALD, G.; LYNCH, P. B.; ROSS, R.P. Market potential for probiotics. **American Journal of Clinical Nutrition**. v. 73, p. 476-83, 2001.

STANTON, C.; ROSS, R. P.; FITZGERALD, G. F.; ROSS, R. P.; VAN SINDEREN, D. Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites. **Current Opinion in Biotechnology**, v.16, p.198-203, 2005.

STEFFENS, J. Concentração de leite e produção de queijo. **Revista Leite e Derivados**, Ano XV, n. 94, p. 65-68, 2006.

THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Efeito do teor de soro, açúcar e de frutooligossacarídeos sobre a população de bactérias lácticas probióticas em bebidas fermentadas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n.3, p. 393-400, São Paulo, 2005.

THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebióticos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 589-595, Campinas, 2006.

TOMELIN, B.; PEPLAU, P. *Lactobacillus*: características, processos de fermentação e seus produtos. **Revista Leite e Derivados**, n. 84, p. 24-30, 2005.

VAKALERIS, D.G. y PRICE, W.V. A rapid spectrophotometric method for measuring cheese ripening. **Journal. Dairy Science**, 42, 264, 1959.

VAN DENDER, A. G. F. Fabricação de queijo tipo frescal por ultrafiltração. **VII Catálogo de produtos e Serviços**, jan/fev, p. 84-99, 1999.

VAN DENDER, A. G. F.; BOSI, M. G.; CONRADO, P. B. Fibra alimentar e a sua utilização na fabricação de produtos lácteos funcionais. **Revista Leite e Derivados**, n 82, p. 107-114, 2005.

VIANNA, P. C. B. Efeito da contagem de células somáticas do leite sobre a microbiota de maturação e características sensoriais do queijo Prato. Campinas-SP 2006. Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da

Universidade Estadual de Campinas para obtenção de título de Mestre em Tecnologia de Alimentos. Campinas –SP, p. 71, 2006.

WALSTRA, P., NOOMEN, A., GEURTS, T. J. Dutch – **Types Varieties**. In: Fox, P. F. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. 2. ed. Aspen Publishers Inc. Maryland. p. 39 – 82, 1999.

WOLFSCHOON-POMBO, A. F. Índices de proteólise em alguns queijos brasileiros. **Boletim do Leite e seus Derivados**, v.51, n.661, p.1-8, nov. Rio de Janeiro, 1983.

ZALAZAR, C. A.; SUÁREZ. V. B.; QUIBERONI, A.; HYNES, E. R.; BERGAMINI, C. V. Probiotic bacteria as adjunct starters: influence of the addition methodology on their survival in a semi-hard Argentinean cheese. **Food Research International**, v. 38, p. 597-604, 2004.

www.sapo.sp.gov.br, acessado dia 05 de setembro de 2007.

<http://wikipedia.org/wiki/Gelatina>. Acessado em 15 de dezembro de 2007.

<http://www.gelita.com.br>. Acessado em 15 de dezembro de 2007.

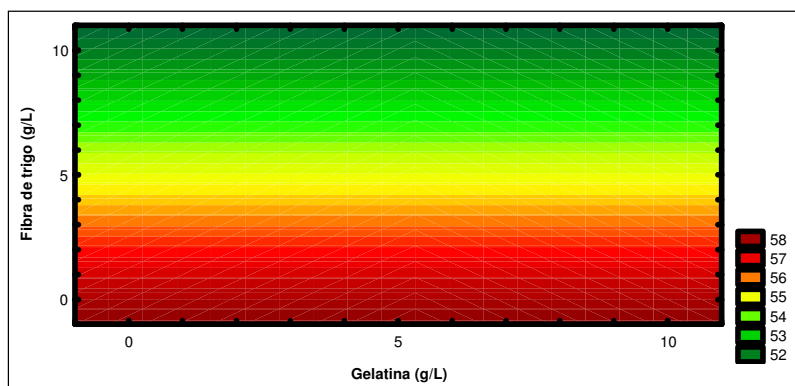
ANEXO

Tabela para determinar a quantidade de lactose (monohidratada e anidra) em miligramas, e a quantidade de cobre e óxido em miligramas

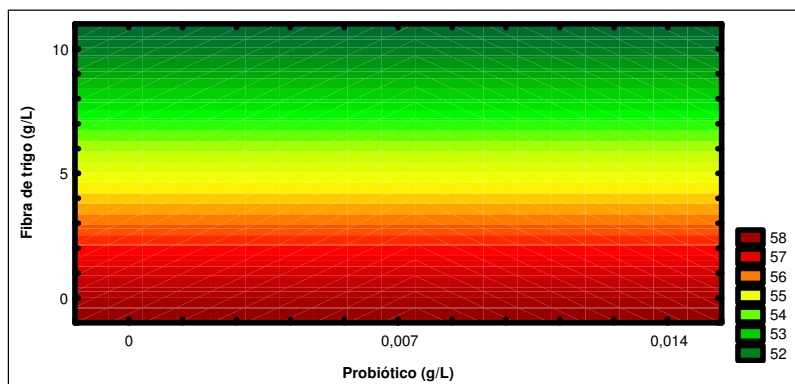
Cobre I Oxido (Cu ₂ O) em mg	Lactose 1 – hidrato (C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ . H ₂ O) em mg	Lactose – anidra (C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁) em mg
10	5,1	4,8
11	5,3	5,5
12	6,4	6,1
13	7,1	6,7
14	7,7	7,3
15	8,4	8,0
16	9,0	8,6
17	9,7	9,2
18	10,3	9,8
19	11,0	10,5
20	11,6	11,0
21	12,3	11,7
22	12,9	12,3
23	13,6	12,9
24	14,2	13,5
25	14,8	14,1
26	15,8	14,7
27	16,2	15,4
28	16,8	16,0
29	17,5	16,6
30	18,1	17,2
31	18,7	17,8
32	19,4	18,4
33	20,0	19,0
34	20,7	19,7
35	21,3	20,2
36	22,0	20,9
37	22,6	21,5
38	23,3	22,1
39	23,9	22,7
40	24,6	23,4
41	25,2	23,9
42	25,9	24,6
43	26,5	25,2
44	27,2	25,8
45	27,8	26,4
46	28,5	27,1
47	29,1	27,6
48	29,8	28,3
49	30,4	28,9
50	31,4	29,5

APÊNDICE B

Neste apêndice serão apresentadas tabelas com coeficientes de regressão, desvios padrão e análise de variância para o planejamento fatorial das variáveis em questão, além de curvas de contorno representando as equações geradas pelos modelos.



(a)



(b)

Figura B.1 - Curvas de contorno para o teor de umidade (g/100g) no 2^o dia de armazenamento a 15 °C, em função da concentração de fibra de trigo e gelatina (a), fibra de trigo e probiótico

Tabela B.1 - Resultados do coeficiente de regressão e desvio padrão provenientes do planejamento fatorial completo 2^3 , para umidade no 30^o dia de armazenamento a 15 °C.

	Coef. de regressão	Desvio padrão	t (2)	p
Média*	54,47	0,572	95,28	0,000110
(1)Gelatina(L)	0,85	0,670	1,27	0,331867
(2)Fibra de trigo(L)	-2,85	0,670	-4,26	0,050907
(3)Probiótico(L)	0,31	0,670	0,46	0,690313
1L x 2L	0,14	0,670	0,20	0,855177
1L x 3L	-0,14	0,670	-0,21	0,852623
2L x 3L	-0,029	0,670	-0,05	0,969686

*fatores estatisticamente significativos ($p < 0,05$).

Tabela B.2 - Resultados do coeficiente de regressão e desvio padrão provenientes do planejamento fatorial completo 2^3 , para umidade no 60^o dia de armazenamento a 15 °C.

	Coef. de regressão	Desvio padrão	t (2)	p
Média*	53,10	0,493	107,66	0,000086
(1)Gelatina(L)	0,17	0,578	0,30	0,792569
(2)Fibra de trigo(L)	-2,28	0,578	-3,95	0,058442
(3)Probiótico(L)	-0,42	0,578	-0,73	0,540875
1L x 2L	-0,18	0,578	-0,31	0,785481
1L x 3L	-0,02	0,578	-0,04	0,971263
2L x 3L	-0,92	0,578	-1,59	0,252859

*fatores estatisticamente significativos ($p < 0,05$).

Tabela B.3 - Resultados do coeficiente de regressão e desvio padrão provenientes do planejamento fatorial completo 2^3 , para índice de extensão no 2^o dia de armazenamento a 15 °C.

	Coef. de regressão	Desvio padrão	t (2)	p
Média*	1,03	0,002	449,79	0,000005
(1)Gelatina(L)*	-0,11	0,002	-40,11	0,000621
(2)Fibra de trigo(L)*	-0,20	0,002	-75,31	0,000176
(3)Probiótico(L)*	-0,11	0,002	-39,49	0,000641
1L x 2L*	0,45	0,002	167,19	0,000036
1L x 3L*	-0,04	0,002	-16,78	0,003534
2L x 3L*	-0,06	0,002	-22,22	0,002019

*fatores estatisticamente significativos ($p < 0,05$).

Tabela B.4 - Análise de variância para o índice de extensão no 2º dia de armazenamento a 15 °C.

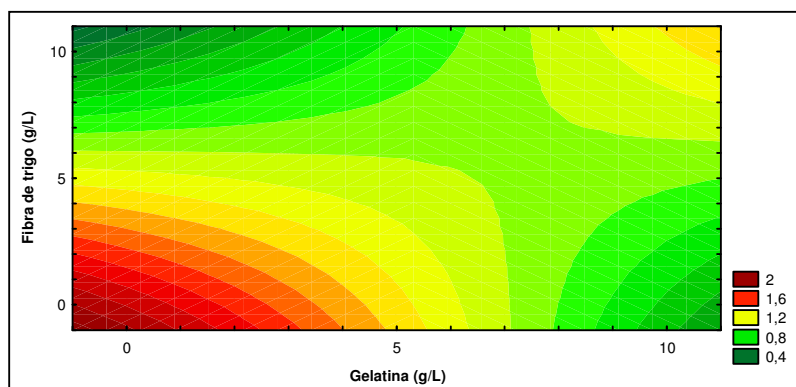
Fontes de Variação	Somas de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrados Médios	F calculado
Regressão	2,17	6	0,36	6,19
Resíduos	0,23	4	0,05	
Falta de ajuste	0,23	2		
Erro puro	0,0001	2		
Total	2,40	10		

Resíduos = Falta de Ajuste + Erro puro; $F_{\text{tab},95\%} = 6,16$; Coeficiente de correlação: $R = 0,95$.

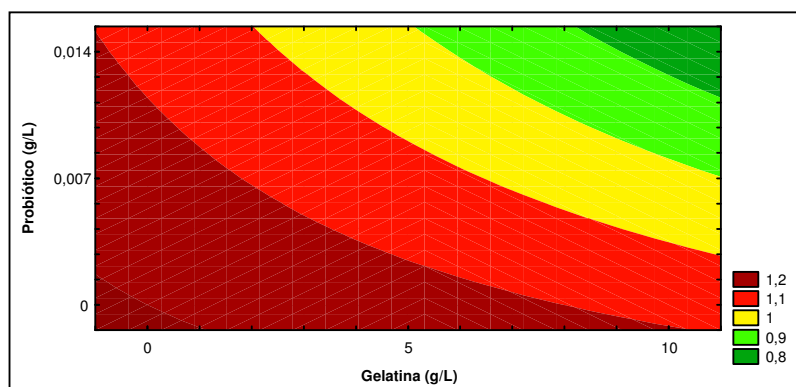
Equação B.1

$$IE = 1,03 - 0,11 \cdot X_1 - 0,20 \cdot X_2 - 0,11 \cdot X_3 + 0,45 \cdot X_1 \cdot X_2 - 0,04 \cdot X_1 \cdot X_3 - 0,06 \cdot X_2 \cdot X_3 \quad (\text{B.1})$$

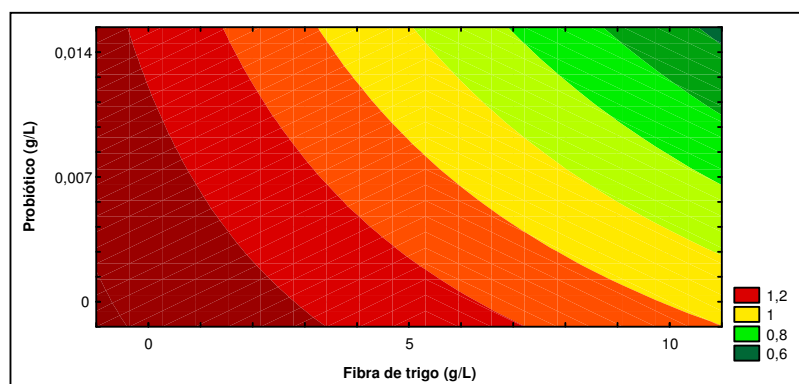
Onde: IE = Índice de extensão da proteólise (g NST/100 g de NT); X_1 = gelatina; X_2 = Fibra de trigo; X_3 = probiótico.



(a)



(b)



(c)

Figura B.2 - Curvas de contorno para o índice de extensão (g NST/100 g de NT) no 2º dia de armazenamento a 15 °C, em função da concentração de fibra de trigo e gelatina (a), probiótico e gelatina (b), e probiótico e fibra de trigo (c).

Tabela B.5 - Resultados do coeficiente de regressão e desvio padrão provenientes do planejamento fatorial completo 2³, para índice de profundidade no 2º dia de armazenamento a 15 °C.

	Coef. de regressão	Desvio padrão	t (2)	p
Média*	0,669	0,0008	814,27	0,000002
(1)Gelatina(L)*	0,007	0,0009	8,24	0,014378
(2)Fibra de trigo(L)*	-0,005	0,0009	-6,20	0,025036
(3)Probiótico(L)	-0,003	0,0009	-3,26	0,082363
1L x 2L*	0,033	0,0009	34,34	0,000847
1L x 3L*	-0,005	0,0009	-6,02	0,026449
2L x 3L	0,001	0,0009	2,04	0,177307

*fatores estatisticamente significativos (p<0,05).

Tabela B.6 - Análise de Variância (ANOVA) para o índice de profundidade no 2º dia de armazenamento a 15 °C.

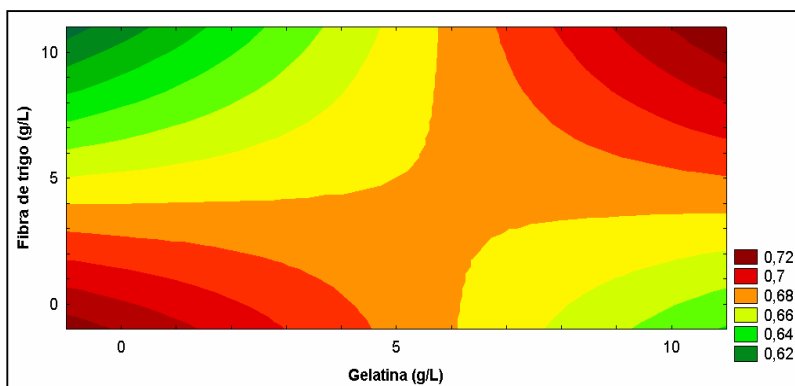
Fontes de Variação	Somas de Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado
Regressão	0,0098	4	0,0024	19,87
Resíduos	0,0007	6	0,0001	
Falta de ajuste	0,0007	4		
Erro puro	0,00001	2		
Total	0,0105	10		

Resíduos = Falta de Ajuste + Erro puro; $F_{\text{tab},95\%} = 4,5$; Coeficiente de correlação: $R = 0,96$.

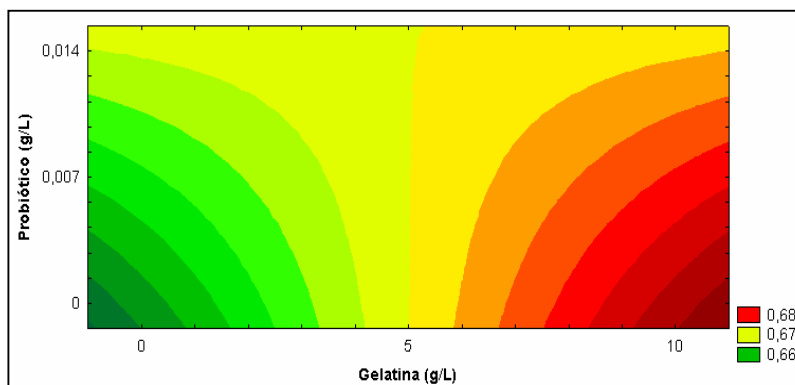
Equação B.2:

$$IP = 0,669 + 0,007 \cdot X_1 - 0,005 \cdot X_2 + 0,033 \cdot X_1 \cdot X_2 - 0,005 \cdot X_1 \cdot X_3 \quad (B.2)$$

onde: IP = Índice de profundidade da proteólise (g NNP/100 g de NT); X_1 = gelatina; X_2 = Fibra de trigo; X_3 = probiótico



(a)



(b)

Figura B.3 - Curvas de contorno para o índice de profundidade (g NNP/100 g de NT) ao 2º dia de armazenamento a 15 °C, em função da concentração de fibra de trigo e gelatina (a) e probiótico e gelatina (b).