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

REQUEIJÃO CREMOSO OBTIDO POR ULTRAFILTRAÇÃO DE LEITE PRÉ-ACIDIFICADO ADICIONADO DE CONCENTRADO PROTÉICO DE SORO

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por Mirna Lúcia Gigante aprovada pela Comissão Julgadora em 11 de setembro de 1998.

Campinas, 11 de setembro de 1998.

Prof. Dr. SALVADOR MASSAGUER ROIG - Presidente da Banca

MIRNA LÚCIA GIGANTE
Engenheira de Alimentos, M.S.

PROF. DR. SALVADOR MASSAGUER ROIG
Orientador

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para a obtenção do Título de Doutor em Tecnologia de Alimentos

Campinas - SP
1998

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Salvador Massaguer Roig
(ORIENTADOR)

Profa. Dra. Eliana Paula Ribeiro
(MEMBRO)

Prof. Dr. José Leonardo Etore do Valle
(MEMBRO)

Profa. Dra. Márcia Rapacci
(MEMBRO)

Profa. Dra. Walkíria Hanada Viotto
(MEMBRO)

Prof. Dr. Aloísio José Antunes
(MEMBRO)

Profa. Dra. Ariene Gimenes F. Van Dender
(MEMBRO)

Campinas (SP), de setembro de 1998.

Ao Marcos, com amor e carinho,
pelo que aprendemos juntos nesta jornada.

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. Salvador Massaguer Roig pela amizade e compreensão, pelos valiosos ensinamentos profissionais e de vida e pela orientação durante a realização deste trabalho.
- Aos membros da banca examinadora Professores Doutores Aloísio José Antunes, Ariene G. F. Van Dender, Eliana Paula Ribeiro, José Leonardo Etore do Valle, Márcia Rapacci e Walkíria Hanada Viotto, pelas sugestões na conclusão deste trabalho.
- Aos professores e funcionários do Departamento de Tecnologia de Alimentos pelo apoio constante que possibilitou a realização desde trabalho.
- À Giulianna, Valdeci, Leonardo e Narciso, de todo coração, pela grande ajuda e pela convivência agradável, especialmente nas horas mais difíceis.
- Aos amigos Carlos e Aloísio pelo carinho, solidariedade, conselhos científicos e colaboração.
- Aos amigos do Departamento de Planejamento Alimentar e Nutrição, Chico, Bete, Rose, Liana e Eliana pela ajuda e atenção carinhosa com que sempre receberam-me.
- Aos funcionários Bete, Claudia, Armando, Ana Maria, Alice, Ana Lourdes, Nelson, Adauto, Alaíde e Roseli pelo apoio constante e disponibilidade durante a realização deste trabalho.
- À Tereza pelo auxílio nos testes sensoriais e na análise dos resultados.
- À Profa. Dra. Lúcia Soares e à Luciane pelo apoio nas análises de cálcio.
- À bibliotecária Creusa pela revisão das referências bibliográficas deste trabalho.
- À Norma pela valiosa ajuda na finalização deste trabalho e pela paciência.
- Às empresas Metalgráfica Rojeck, Nadir Figueiredo, New Zealand Milk Products e Hoeschst do Brasil pelo fornecimento de materiais para o desenvolvimento deste trabalho.
- À minha mãe e aos meus irmãos, Eduardo, Renata e Patrícia pelo apoio, e demonstração de amor.
- A todos os amigos que deram o incentivo necessário para que as dificuldades fossem superadas e este trabalho concluído.

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE TABELAS..... iv

ÍNDICE DE FIGURAS..... vi

RESUMO..... x

SUMMARY..... xii

1. INTRODUÇÃO..... 1

2. OBJETIVO..... 2

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... 3

3.1. QUEIJOS FUNDIDOS..... 3
3.1.1. Introdução..... 3
3.1.2. Matéria-prima para fabricação de queijos fundidos..... 5
3.1.3. Sais emulsificantes..... 9
3.1.4. Processo de fabricação dos queijos fundidos..... 12
3.1.5. Características de qualidade e principais defeitos dos queijos fundidos..... 14

3.2. ULTRAFILTRAÇÃO..... 22
3.2.1. Fundamentos do processo de ultrafiltração..... 22
3.2.2. Ultrafiltração na fabricação de queijos..... 28

3.3. SORO E CONCENTRADO PROTÉICO DE SORO (CPS)..... 32
3.3.1. Características do soro..... 32
3.3.2. Concentrado protéico de soro (CPS): obtenção e propriedades funcionais 36
3.3.3. Aplicação de CPS na indústria de alimentos..... 40

4. MATERAIS E MÉTODOS 43

4.1. MATERIAIS 43
4.1.1. Equipamentos 43
4.1.2. Matérias-primas 43
4.1.2.1. Leite 43
4.1.2.2. Creme de leite 44
4.1.2.3. Coadjuvantes tecnológicos 44

4.2. MÉTODOS 44
4.2.1. Recepção do leite 46
4.2.2. Processo de acidificação 46
4.2.3. Processo de ultrafiltração 47
4.2.4. Processo de fabricação do requeijão cremoso 48
4.2.4.1. Cálculo das formulações 50
4.2.4.2. Processo de fusão 55
4.2.5. Métodos analíticos 58
4.2.5.1. Procedimento de amostragem 59
4.2.5.2. Análises físico-químicas 60
4.2.5.3. Avaliação do perfil de textura dos requeijões 62
4.2.5.4. Teste de derretimento 62
4.2.5.5. Avaliação da cor 64
4.2.5.6. Avaliação do perfil eletroforético 65
4.2.6. Avaliação sensorial 66
4.2.6.1. Levantamento de termos sensoriais para descrição do requeijão 66
4.2.6.2. Avaliação da aceitabilidade 67
4.2.7. Planejamento experimental e análise estatística 70

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO 71

5.1. Composição físico-química do leite 71
5.2. Características do processo de ultrafiltração 72
5.3. Características físico-químicas dos requeijões 76
5.4. Efeito do pH de UF, da adição de CPS e do tipo de sal emulsificante nas características de textura 82
5.5. Efeito do pH de UF, da adição de CPS e do tipo de sal emulsificante na capacidade de derretimento 92

5.6. Efeito do pH de UF, da adição de CPS e do tipo de sal emulsificante na cor 95
5.7. Avaliação do perfil eletroforético das proteínas 99
5.8. Avaliação sensorial 101
5.8.1. Levantamento dos termos sensoriais 101
5.8.2. Avaliação de aceitabilidade 101

6. CONCLUSÕES 107

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 108

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 3.1. Principais parâmetros de textura e suas definições..... 16

Tabela 3.2. Permeabilidade dos sistemas de membranas..... 23

Tabela 3.3. Propriedades físico-químicas e funcionais do concentrado protéico de soro (CPS) e isolado protéico de soro (IPS)..... 39

Tabela 4.1. Descrição das siglas de identificação utilizadas neste estudo..... 45

Tabela 5.1. Características físico-químicas do leite utilizado nos processamentos P1, P2, P3 e P4..... 71

Tabela 5.2. Características de UF dos processamentos P1, P2, P3 e P4..... 73

Tabela 5.3. Composição química dos permeados obtidos por UF do leite pré-acidificado nos processamentos P1, P2, P3 e P4..... 74

Tabela 5.4. Características físico-químicas dos retentados obtidos por UF do leite pré-acidificado nos processamento P1, P2, P3 e P4..... 75

Tabela 5.5. Características físico-químicas dos requeijões obtidos no processamento P1..... 77

Tabela 5.6. Características físico-químicas dos requeijões obtidos no processamento P2..... 78

Tabela 5.7. Características físico-químicas dos requeijões obtidos no processamento P3..... 79

Tabela 5.8. Características físico-químicas dos requeijões obtidos no processamento P4..... 80

Tabela 5.9. Valores médios e coeficientes de variação dos resultados do perfil de textura das amostras obtidas nos processamentos P1, P2, P3 e P4..... 83

Tabela 5.10. Valores médios do fluxo de queijo (mm) e coeficiente de variação (CV) dos fluxos das amostras obtidas nos processamentos P1, P2, P3 e P4..... 92

Tabela 5.11. Valores médios dos resultados da avaliação instrumental da cor das amostras obtidas nos processamentos P1, P2, P3 e P4..... 96

Tabela 5.12. Termos utilizados pelo consumidor para descrever o requeijão..... 102

Tabela 5.13. Resultados da avaliação sensorial dos produtos obtidos no processamento P1..... 103

Tabela 5.14. Porcentagem de aprovação e rejeição das amostras do processamento P1..... 104

Tabela 5.15. Resultados da avaliação sensorial dos produtos obtidos no processamento P3..... 105

Tabela 5.16. Porcentagem de aprovação e rejeição das amostras obtidas no processamento P3..... 106

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 3.1. Queijos mais consumidos no Brasil 5

Figura 3.2. Modo de ação do sal emulsificante..... 11

Figura 3.3. Curva típica do perfil de textura..... 16

Figura 4.1. Fluxograma do processo de obtenção do retentado..... 46

Figura 4.2. Unidade piloto de ultrafiltração..... 48

Figura 4.3. Esquema de utilização do retentado para fabricação de requeijão..... 49

Figura 4.4. Máquina homogeneizadora trituradora STEPHAN-GEIGER, modelo UM 12..... 56

Figura 4.5. Fluxograma do processo de fabricação do requeijão cremoso..... 57

Figura 4.6. Tubos de suporte de madeira de inclinação controlada usados para teste de derretimento..... 63

Figura 4.7. Resultado do teste de derretimento realizado com três amostras diferentes..... 64

Figura 4.8. Ficha utilizada para levantamento de termos utilizados pelo consumidor para descrever o requeijão..... 66

Figura 4.9. Ficha utilizada para avaliação de aceitabilidade do requeijão cremoso..... 68

Figura 4.10. Ficha utilizada para avaliação da cor do requeijão cremoso..... 69

Figura 5.1. Coeficiente de rejeição médio dos componentes do leite para os processos de UF realizados a pH 5,7 (P1 e P4) e pH 5,2 (P2 e P3)..... 75

Figura 5.2. Efeito do pH de UF e da adição de CPS na firmeza média dos requeijões obtidos com sal emulsificante JOHA S9. F1S9 (sem adição de CPS), F2S9 (com adição de CPS para aumentar em 50% a relação PS/CAS) e F3S9 (com adição de CPS para aumentar em 100% a relação PS/CAS)..... 85

Figura 5.3. Efeito do pH de UF e da adição de CPS na firmeza média dos requeijões obtidos com sal emulsificante JOHA S10. F1S10 (sem adição de CPS), F2S10 (com adição de CPS para aumentar em 50% a relação PS/CAS) e F3S10 (com adição de CPS para aumentar em 100% a relação PS/CAS).. 85

Figura 5.4. Efeito do pH de UF e da adição de CPS na adesividade média dos requeijões obtidos com sal emulsificante JOHA S9. F1S9 (sem adição de CPS), F2S9 (com adição de CPS para aumentar em 50% a relação PS/CAS) e F3S9 (com adição de CPS para aumentar em 100% a relação PS/CAS)..... 86

Figura 5.5. Efeito do pH de UF e da adição de CPS na adesividade média dos requeijões obtidos com sal emulsificante JOHA S9. F1S10 (sem adição de CPS), F2S10 (com adição de CPS para aumentar em 100% a relação PS/CAS) e F3S10 (com adição de CPS para aumentar em 100% a relação PS/CAS)..... 86

Figura 5.6. Efeito do pH de UF e da adição de CPS na elasticidade média dos requeijões obtidos com sal emulsificante JOHA S9. F1S9 (sem adição de CPS), F2S9 (com adição de CPS para aumentar em 50% a relação PS/CAS) e F3S9 (com adição de CPS para aumentar em 100% a relação PS/CAS).... 87

Figura 5.7. Efeito do pH de UF e da adição de CPS na elasticidade média dos requeijões obtidos com sal emulsificante JOHA S9. F1S10 (sem adição de CPS). F2S10 (com adição de CPS para aumentar em 100% a relação PS/CAS) e F3S10 (com adição de CPS para aumentar em 100% a relação PS/CAS)..... 87

Figura 5.8. Efeito do pH de UF e da adição de CPS na coesividade média dos requeijões obtidos com sal emulsificante JOHA S9. F1S9 (sem adição de CPS). F2S9 (com adição de CPS para aumentar em 50% a relação PS/CAS) e F3S9 (com adição de CPS para aumentar em 100% a relação PS/CAS).. 88

Figura 5.9. Efeito do pH de UF e da adição de CPS na coesividade média dos requeijões obtidos com sal emulsificante JOHA S9. F1S10 (sem adição de CPS). F2S10 (com adição de CPS para aumentar em 50% a relação PS/CAS) e F3S10 (com adição de CPS para aumentar em 100% a relação PS/CAS)..... 88

Figura 5.10. Influência do sal emulsificante na firmeza dos requeijões..... 89

Figura 5.11. Influência da adição de CPS na firmeza dos requeijões..... 90

Figura 5.12. Influência do pH de UF na adesividade dos requeijões..... 91

Figura 5.13. Efeito do pH de UF e da adição de CPS na capacidade média de derretimento dos requeijões obtidos com sal emulsificante JOHA S9. F1S9 (sem adição de CPS), F2S9 (com adição de CPS para aumentar em 50% a relação PS/CAS) e F3S9 (com adição de CPS para aumentar em relação a 100% a relação PS/CAS..... 94

Figura 5.14. Efeito do pH de UF e da adição de CPS na capacidade média de derretimento dos requeijões obtidos com sal emulsificante JOHA S10. F1S10 (sem adição de CPS), F2S1 (com adição de CPS para aumentar em 50% a relação PS/CAS) e F3S10 (com adição de CPS para aumentar em relação a 100% a relação PS/CAS)..... 94

Figura 5.15. Efeito da porcentagem de aumento da relação PS/CAS a diferentes pH na capacidade de derretimento dos produtos obtidos..... 95

Figura 5.16. Influência do sal emulsificante na cor b* (amarela) dos produtos..... 97

Figura 5.17. Interação pH*CPS na cor b* (amarela) dos produtos..... 98

Figura 5.18. Perfil eletroforético do retentado e dos requeijões obtidos no processamento P1. (Banda 1: padrão de α e β-caseínas; banda 2: retentado; banda 3: P1F1S9, banda 4: P1F1S10, banda 5: P1F2S9; banda 6: P1F2S10, banda 7: P1F3S9, banda 8: P1F3S10)..... 100

Figura 5.18. Perfil eletroforético do retentado e dos requeijões obtidos no processamento P3. (Banda 1: padrão de α e β-caseínas; banda 2: retentado; banda 3: P3F1S9, banda 4: P3F1S10, banda 5: P3F2S9; banda 6: P3F2S10, banda 7: P3F3S9, banda 8: P3F3S10)..... 100

RESUMO

Estudou-se a fabricação de requeijão cremoso a partir de retentado obtido por ultrafiltração (UF) de leite integral pré-acidificado a pH 5,2 e 5,7, não adicionado de concentrado protéico de soro (CPS) e adicionado de forma a aumentar a relação proteína de soro/caseína (PS/CAS) em 50 e 100%. Foram utilizados dois tipos de sais emulsificantes a base de polifosfatos de sódio disponíveis no mercado, JOHA S9 e JOHA S10.

As amostras foram fundidas em uma máquina universal polivalente Stephan-Geiger com injeção direta de vapor. Os produtos obtidos foram avaliados quanto a composição centesimal, perfil de textura, capacidade de derretimento, cor, perfil eletroforético de proteínas e avaliação sensorial.

Nos dois níveis de pH utilizados na ultrafiltração observou-se 100% de retenção da gordura e 99% da proteína. No pH 5,2 observou-se uma menor retenção de Ca, P e cinzas.

Os requeijões fabricados apresentaram composição química semelhante. Os requeijões obtidos a partir de retentado de leite pré-acidificado a pH 5,2 apresentaram menor conteúdo de cálcio (90,33mg/100g) do que os obtidos no pH 5,7 (160,08mg/100g).

Verificou-se que a adição de CPS ($p = 0,0591$) e o tipo de sal emulsificante ($p = 0,0202$) influenciaram significativamente a firmeza das amostras. Com o uso do sal emulsificante JOHA S9 obteve-se produtos 22% mais firmes do que com o uso do sal JOHA S10. A adição de CPS de forma a aumentar em 50% a relação PS/CAS resultou em um aumento de 54% na firmeza das amostras. Quando adicionou-se CPS de forma a aumentar mais 50% a relação PS/CAS, também observou-se um aumento na firmeza dos produtos, porém de 25%. O pH de ultrafiltração influenciou significativamente ($p = 0,0186$) a adesividade dos produtos que foi 153% maior quando a ultrafiltração foi conduzida a pH 5,7.

A interação pH*CPS (p = 0,0253) influenciou significativamente a capacidade de derretimentos das amostras. A adição de CPS em quantidade que permitiu aumentar a relação PS/CAS em 50 e 100% diminuiu a capacidade de derretimento das. A maior redução foi observada quando o leite foi pré-acidificado a pH 5,2.

A análise instrumental indicou influência do tipo de sal emulsificante e da interação pH*CPS na cor dos produtos. Na avaliação sensorial apenas foi relatada pequena diferença de cor em uma das amostras.

Os diferentes tratamentos para a obtenção dos requeijões não alteraram o comportamento eletroforético das proteínas e foi evidente a formação do complexo β-lactoglobulina/κ-caseína em todos os tratamentos. À medida que aumentou-se a quantidade de CPS ocorreu um correspondente aumento da formação do complexo β-lactoglobulina/κ-caseína. Os resultados sugerem que não houve influência dos sais emulsificantes nas características eletroforéticas das proteínas existentes no sistema.

A avaliação sensorial indicou uma boa aceitabilidade dos produtos. Nos atributos avaliados (aceitabilidade global, sabor, espalhabilidade, cremosidade, firmeza e cor) os produtos obtiveram notas entre 6 (gostei ligeiramente) e 8 (gostei muito) da escala hedônica. O produtos adicionados de CPS de forma a aumentar a relação PS/CAS em 100% obtiveram a maior porcentagem de aprovação, em média 94%.

SUMMARY

A study was made on the manufacture of "requeijão cremoso" from the retentate obtained by ultrafiltration (UF) of whole milk acidified to pH 5.2 and 5.7, without and with the addition of whey protein concentrate (WPC) to increase the ratio whey protein/casein (WP/CN) by 50 and 100%. Two types of comercially available emulsifying salts were utilized: JOHA S9 and JOHA S10.

Samples were melted in a Stephan-Geiger cooker with direct steam injection. The products were evaluated for proximate composition, texture profile, melting characteristics, color, electrophoretic pattern and sensorial characteristics.

At the two pH levels it was observed 100% fat and 99% protein retention. At pH 5.2 there was a lower Ca, P and ash retention.

The prepared "requeijão cremoso" showed similar chemical composition. The "requeijão cremoso" obtained from UF milk pre-acidified at pH 5,2 showed lower calcium (90,30mg/100g) content that the ones obtined at pH 5,7 (160,08mg/100g).

It as observed that the addition of WPC ($p= 0.0591$) and the type of emulsifying salt ($p=0.0202$) had a significant influence on hardness of the samples. When Joha S9 was added the products showed a hardness which was 22% higher than the one observed for Joha S10. Addition of WPC to increase by 50% the ratio WPC/CN resulted in an increase of hardness by 54%; when a new portion was added the hardness increased by only 25%. pH during the ultrafiltration step had a negative influence ($p=0.0186$) on adhesiveness and it was higher when the UF was carried out at pH 5.7.

The interaction pH*WPC ($p=0.0253$) had a negative influence on melting characteristics of the products; the increase in the ratio WPC/CN by 50 and 100% caused a decrease on melting. The decrease in melting characteristics of the products was higher at pH 5.2.

Emulsifying salt and UF pH* WPC tnteraction showed influence on the instrumental product color evaluation. On sensorial evaluation was reported a slight diference in color in one product.

The electrophoretic behavior of the samples was not influenced by treatments and it was evident the formation of the complex β-Lg/κ-CN; the addition of WPC had a marked effect on the formation of this complex. Emulsifying salts did not change the electrophoretic pattern.

Sensorial evaluation indicated an good acceptance of the products. The scores varied in the range from 6 (liked sligtly) to 8 (liked very much), from hedonic scale, for the evaluated caracteristics (global acceptability, taste, spredability, creamness, firmness and colour). Products with WPC added to increase WP/CN by a 100% obtained the highest percentagem of approval, 94% in average.

1. INTRODUÇÃO

O requeijão é um queijo tipicamente brasileiro, associado inicialmente à fabricações caseiras visando o aproveitamento de leite coagulado espontaneamente, que ocupa hoje um lugar de destaque no mercado nacional. Dentre os queijos fundidos, o requeijão cremoso é sem dúvida o mais tradicional. Em 1995 foram comercializadas 25.000 toneladas desses produto perfazendo 8% da produção total de queijos (FERNANDES, 1996). A recente inserção do país no MERCOSUL criou também uma nova opção de mercado para esse produto tipicamente brasileiro.

No Brasil, para produção da massa destinada à fabricação de requeijão cremoso a indústria tem utilizado três processos: o tradicional, onde a fermentação é feita por meio de fermentos lácticos; a acidificação direta do leite aquecido e a coagulação enzimática (FERNANDES & MARTINS, 1980).

Com o desenvolvimento da ultrafiltração (UF), tecnologia proposta para a concentração do leite visando a fabricação de queijos por MAUBOIS, MOCQUOT e VASSAL (Patente Francesa 2.052.121, 1969), viabilizou-se uma nova forma de obtenção da massa para a fabricação de queijos. Desde então, esta técnica vem sendo utilizada com sucesso em vários países para fabricação de queijos como ricota, camembert, cottage, teleme, feta e minas frescal. As vantagens da fabricação de queijos através da ultrafiltração são o maior rendimento, em função do aproveitamento de 100% da gordura e 95% das proteínas, a possibilidade de fabricação contínua com uso de sistema fechado e sanitário, menor quantidade de coagulante e produção de um soro com menor poder poluente, quando comparado com o processo tradicional (KOSIKOWSKI , 1978; NIELSEN, 1987).

Paralelamente, observa-se mundialmente e no Brasil, um crescimento da indústria queijeira, com a produção de grandes quantidades de soro de leite obtido pelo processo tradicional de fabricação de queijos. Este subproduto, se não aproveitado, traz como conseqüência o desperdício de uma grande quantidade de proteínas de alto valor nutricional, que corresponde a 20% das proteínas do leite, além de promover um grave problema de poluição ambiental quando do seu descarte sem prévio tratamento.

Desta forma, nos últimos 30 anos, empreenderam-se grandes esforços para viabilizar a produção de concentrado protéico de soro (CPS) altamente funcionais e adequados para uso como ingredientes em alimentos (MORR & HA, 1993). O desenvolvimento dos processos de membranas, especialmente a ultrafiltração, viabilizou a obtenção comercial de CPS (HARPER, 1984) que são atualmente adicionados como ingredientes funcionais em alimentos para emulsionar, ligar água ou gordura, formar espumas ou géis, e alterar sabor, aparência e textura, além de conferirem incremento nutricional aos produtos aos quais são incorporados (GIESE, 1994).

No presente trabalho pretendeu-se estudar o uso conjunto da ultrafiltração e da adição de CPS na fabricação do requeijão cremoso.

2. OBJETIVO

O objetivo do trabalho foi avaliar a possibilidade de se produzir requeijão cremoso a partir de retentado obtido por UF de leite integral pré-acidificado, adicionado ou não de concentrado protéico de soro (CPS), com dois tipos de sais emulsificantes.

Foram testados dois níveis de pré-acidificação do leite (pH 5,7 e 5,2) e os requeijões foram fabricados a partir destes retentados sem adição de CPS, com adição de CPS de forma a aumentar a relação proteína de soro/caseína (PS/CAS) em 50 e 100% e com sais emulsificantes JOHA S9 e JOHA S10.

Avaliou-se o efeito isolado e combinado dessas variáveis (pH de ultrafiltração, adição ou não de CPS, e tipo de sal emulsificante) sobre as características físico-químicas, funcionais e sensoriais dos requeijões obtidos. Determinou-se o perfil eletroforético das proteínas com o objetivo de avaliar a ocorrência de interação ou degradação no sistema protéico.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. QUEIJOS FUNDIDOS

3.1.1. INTRODUÇÃO

Segundo OLIVEIRA (1986), conforme o próprio nome indica, qualquer queijo cujas características da massa revelem uma destruição completa da estrutura original do coágulo, pode ser classificado como queijo de massa fundida. No Brasil, o queijo que melhor representa essa classe é o requeijão cremoso.

O requeijão é um queijo tipicamente brasileiro, originário de fabricações caseiras, como uma forma de aproveitamento do leite coagulado espontaneamente devido a acidificação pela flora láctica natural do leite. É fabricado a partir de leite desnatado cru ou pasteurizado, com ou sem adição de culturas lácticas. A utilização do leite desnatado é uma prática proveniente da época em que a manteiga era o derivado mais valorizado do leite. Assim sendo, pequenas fábricas semi-artesanais que dispunham de uma desnatadeira separavam o creme e o leite desnatado resultante era deixado coagular espontaneamente para obter a massa que era então transformada em requeijão (MARTINS, 1981; OLIVEIRA, 1986).

Com o nome de requeijão encontra-se no mercado brasileiro produtos com diferentes teores de umidade, desde bem cremosos até bastante firmes, possíveis de serem cortados em fatias como é o caso do requeijão do norte. O requeijão cremoso deve ter 57-60% de umidade, 28-30% de gordura, pH entre 5,7 e 5,9, e um teor de sal de 1,4-1,6%. Já o requeijão de corte deve ter entre 49-54% de umidade, 24-27% de gordura, pH entre 5,2 e 5,5 e um teor de sal entre 1,0-1,5% (OLIVEIRA, 1986).

Em um trabalho que fornece uma visão histórica e tecnológica dos requeijões do nordeste brasileiro, VENTURA (1987), afirma que o produto hoje conhecido como requeijão pouco ou nada tem a ver com o produto que o originou. Segundo DAMOUSA (1948), LEIVA (1944) e RAMIREZ (1908) citados por VENTURA (1987), as terminologias espanhola e portuguesa usam, respectivamente, "requeson" e requeijão para o produto derivado do soro que

resulta da fabricação de queijos. Comparando-se a fabricação do requeijão descrita por PREGO (1906) com a fabricação de ricota, produto de origem italiana largamente difundido no Brasil, descrita por KOSIKOWSKI (1978), observa-se uma grande semelhança entre os dois processos.

Segundo a Portaria Nº 356, do Ministério da Agricultura e do Abastecimento, de 04 de setembro de 1997 (BRASIL, 1998), denomina-se Queijo Processado o *"produto obtido por trituração, mistura, fusão e emulsão por meio de calor e agentes emulsionantes de uma ou mais variedade de queijos, com ou sem a adição de outros produtos lácteos e/ou sólidos de origem láctea e/ou especiarias, condimentos ou outras substâncias alimentícias na qual o queijo constitui o ingrediente lácteo utilizados como matéria-prima preponderante na base láctea"*. O produto assim definido pode ser denominado Queijo Processado, Queijo Fundido ou Queijo Processado Pasteurizado. Entende-se por Queijo Processado UHT (UAT) o *"produto definido anteriormente, submetido após a fusão a tratamento térmico a 135-145°C, durante 5 a 10 segundos ou qualquer outra combinação de tempo/temperatura equivalente"*. Este produto pode ser denominado Queijo Processado UHT (UAT) ou Queijo Fundido UHT (UAT).

De acordo com as peculiaridades da colonização brasileira os queijos fundidos assumiram diversas tecnologias originando uma grande variedade de produtos. Segundo BROWN (1936) e RIBEIRO (1961) citados por VENTURA (1987) nas regiões Sul e Sudeste do Brasil o queijo fundido foi extensivamente fabricado com creme de leite, originando produtos com diversas denominações como: requeijão de creme, requeijão duplo creme, requeijão creme suíço e requeijão comum. Atualmente é bastante difundida a denominação requeijão cremoso.

Segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Queijos, dentre os queijos fundidos produzidos e comercializados no Brasil, o requeijão cremoso é o mais tradicional e ocupa atualmente um lugar de destaque no mercado, conforme pode ser observado na Figura 3.1. Nos últimos 12 anos a produção praticamente quadruplicou, passando de 6.700 toneladas em 1983 para 25.000 toneladas em 1995. Acredita-se que com a abertura do Mercosul, essa tendência de crescimento deva continuar com a introdução desse produto tipicamente brasileiro nesse novo mercado (FERNANDES, 1996).

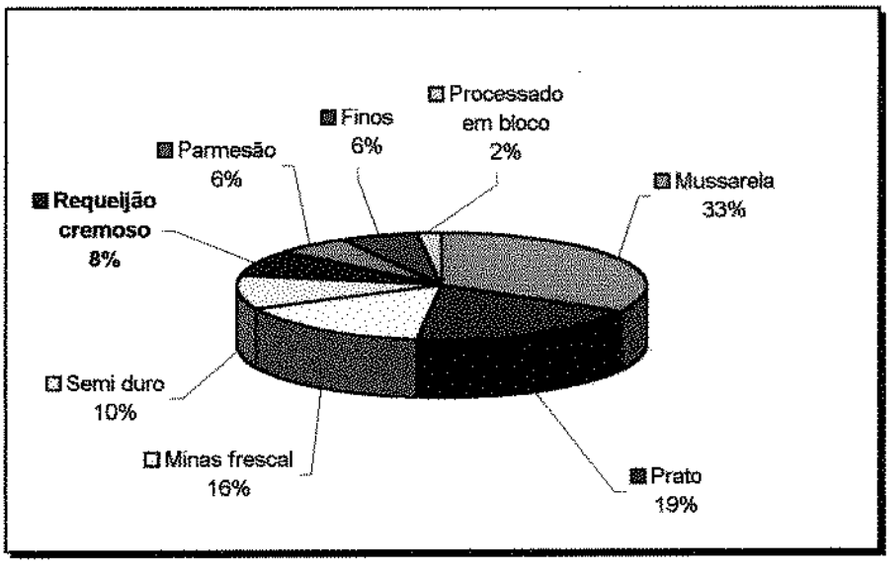

Figura 3.1. Queijos mais consumidos no Brasil (FERNANDES, 1996).

Inicialmente a indústria do queijo fundido funcionou em grande parte como absorvedora do queijo não comercializado e retornado às indústrias, consequentemente, tornava-se inviável a manutenção da qualidade do produto obtido (VALLE, 1981). Atualmente, com o crescimento do mercado, a indústria tem preparado a matéria-prima para a fabricação do produto.

3.1.2. MATÉRIA-PRIMA PARA FABRICAÇÃO DE QUEIJOS FUNDIDOS

No Brasil, para a obtenção da massa destinada à fabricação de requeijão cremoso podem ser utilizados três processos: o tradicional, onde a massa é obtida por fermentação láctica; a acidificação direta do leite aquecido e a coagulação enzimática, pela adição de renima. As massas obtidas por coagulação ácida ou enzimática apresentam características diferentes, o que irá influir no processamento posterior para obtenção dos queijos fundidos (FERNANDES & MARTINS, 1980).

O leite é uma secreção da glândula mamária contendo 3,9% de gordura, 3,3% de proteínas, 5% de lactose e 0,7% de minerais. As principais proteínas do leite são: α_{s1}-caseína, α_{s2}-caseína, β-caseína, κ-caseína, β-lactoglobulina (β-Lg), α-lactoalbumina (α-La). As caseínas (fosfoproteínas insolúveis a pH 4,6 a 20°C) aproximadamente 80% do conteúdo total de proteínas e encontram-se no leite na

forma de micelas constituídas das 4 frações protéicas principais (α_{s1}, α_{s2}, β, e κ-caseína), além de cálcio inorgânico, fosfato, citrato e pequenas quantidades de magnésio, sódio e potássio (EIGEL *et al.*, 1984; WONG *et al.*, 1996).

Na coagulação ácida, a estabilidade micelar decorrente da existência de cargas elétricas na superfície da micela e de sua afinidade pelo líquido dispersante, é quebrada pela redução do pH provocada pela adição do ácido ou pelo desenvolvimento de uma fermentação láctica. Os íons H^+ provenientes da dissociação do ácido neutralizam as cargas da micela. Por outro lado a afinidade do eletrólito pela água provoca uma certa desidratação da micela. Estes dois fenômenos provocam a quebra da dispersão coloidal da proteína. Entretanto, não são as micelas de fosfocaseinato de cálcio que floculam e sim a caseína desmineralizada. Durante a acidificação ocorre uma migração progressiva, para fora da micela, do cálcio ligado às caseínas e do fosfato de cálcio. No pH 4,6, ponto isoelétrico da caseína bruta a 20°C, ocorre uma completa desmineralização e a caseína precipita sob a forma de caseína isoelétrica (VEISSEYRE, 1980).

Segundo OLIVEIRA (1986), para que se possa obter uma fusão adequada do coágulo ácido é necessário que haja recuperação do equilíbrio salino entre o cálcio e o caseinato. Desta forma, quando a massa for obtida por coagulação ácida o autor recomenda a lavagem da mesma com água e posteriormente com leite desnatado ou integral. O leite utilizado na última fase de desacidificação exerce um duplo papel, onde o mais evidente é a neutralização da acidez elevando o pH da massa para cerca de 5,3 a 5,4, que é a faixa normalmente necessária para que ocorra a fusão. O outro efeito é na produção de uma nova porção de coágulo que é incorporado à massa.

Devido ao baixo conteúdo de fosfoserina a κ-caseína é solúvel na presença de cálcio e esta propriedade, bem como sua estrutura, são responsáveis pelo seu importante papel na estabilização da micela de caseína (FOX, 1992). Na desestabilização da micela devido ação proteolítica do coalho, a sua ação sobre a κ-caseína promove uma proteólise limitada, rompendo a ligação peptídica Phe_{105}-Met_{106}. A ruptura da cadeia polipeptídica origina duas frações muito diferentes. A primeira é composta de 64 aminoácidos (1/3 dos aminoácidos da cadeia completa) e corresponde a parte C-terminal da κ-caseína, chamada de caseinomacropeptídeo, que tem uma carga elétrica particularmente elevada. A segunda fração é composta de 105 aminoácidos (2/3 dos 169 aminoácidos da

molécula de κ-caseína completa) e constitui a κ-paracaseína. A ruptura da molécula de κ-caseína pelo coalho se traduz na perda da fração mais hidrofílica da cadeia, diminuindo consideravelmente sua hidratação e portanto sua solubilidade assim como também sua carga elétrica. Esta fração de κ-caseína apresenta um desequilíbrio iônico que provoca uma reorganização de sua estrutura molecular e modifica suas possibilidades de interação. Estes fenômenos fazem a κ-caseína perder as propriedades estabilizantes iniciais e a fração κ-paracaseína restante não está em condições de assegurar a estabilidade dos complexos formados com as demais frações da caseína. Desta forma acontece a desestabilização micelar e a formação de um gel que ocupa todo o volume inicial. A formação do gel está ligada a presença de fosfato de cálcio nas micelas de caseína nativa e do cálcio do meio (VEISSEYRE, 1980).

Segundo KOSIKOWSKI (1978) e SHIMP (1985), para que o coágulo enzimático possa fundir adequadamente é necessário que haja uma remoção do cálcio bivalente que se encontra ligado às moléculas de caseína. O uso de sais emulsificantes no processamento de queijos fundidos pode promover essa remoção uma vez que estes sais têm a capacidade de seqüestrar o cálcio bivalente tornando o paracaseinato mais solúvel pela entrada de sódio monovalente na sua molécula.

Segundo ALAIS (1970), na obtenção da massa pelo processo de acidificação direta a quente do leite, o pH no momento da coagulação das proteínas é maior que 4,6. Isso se deve à ação conjunta de calor e ácido, aumentando a taxa de colisão entre as partículas e desidratando parcialmente as proteínas do leite. Deste modo a diminuição do pH é suficiente para acelerar a precipitação, ao mesmo tempo que fornece um coágulo mais macio. Os efeitos da acidez e do calor somam-se, ocorrendo aumento do ponto isoelétrico das frações de caseína com a elevação da temperatura do leite.

No caso da fabricação de queijos fundidos a partir de queijos obtidos por coagulação enzimática, macios, duros e semi-duros em diferentes estágios de maturação, o teor da caseína intacta, denominado teor de caseína relativa, que é definido pela relação nitrogênio caseínico insolúvel/nitrogênio total de queijo, exerce forte influência na estabilidade da estrutura do produto final. Quanto maior o teor de caseína relativa, maior a possibilidade de se obter um queijo fundido de estrutura estável. Por exemplo, na elaboração de queijos em bloco, melhores

propriedades de corte são obtidas com combinações de queijos que proporcionem à mistura um teor relativo de caseína de, no mínimo, 70%. No caso de queijos fundidos pastosos este teor pode ser inferior a 70%, mas não deve ser menor que 50%. Queijos jovens, com poucos dias de maturação, apresentam um teor de caseína relativa de 90-95%, enquanto que o camembert e o gorgonzola maturados possuem cerca de 30% (MEYER, 1973).

Segundo MEYER (1973), além da matéria prima básica constituída de queijos obtidos por coagulação ácida ou enzimática, na fabricação de queijos fundidos são adicionados outros ingredientes tais como sal emulsificante, água e gordura.

De acordo com a Portaria No 365, do Ministério da Agricultura e do Abastecimento, de 4 de setembro de 1997 (BRASIL, 1998), os ingredientes opcionais permitidos para uso em queijos fundidos incluem: creme, manteiga, gordura anidra de leite, butteroil, leite, água, queijo processado, leite em pó, outros sólidos de origem láctea, cloreto de sódio, condimentos, especiarias, outras substâncias alimentícias, edulcorantes nutritivos, amidos e amidos modificados, ar, nitrogênio, dióxido de carbono e gases inertes, todos eles de qualidade alimentar.

A água é um ingrediente indispensável no processo de fusão por auxiliar na transferência de energia térmica e mecânica durante a formação do "sol" de caseinato, e por atuar tanto na dissolução como na dispersão da mistura. O teor de umidade do queijo fundido é um regulador da sua consistência, e é controlado pelo conteúdo de umidade dos queijos adicionados na mistura e pela quantidade de água adicionada no processo, a qual deve levar em consideração a água perdida por evaporação e a incorporada por condensação durante o processamento. (MEYER, 1973; BERGER *et al.*, 1989; ZEHREN & NUSBAUM, 1992; FURTADO E LOURENÇO NETO, 1994).

A água, que deve ser de boa qualidade, filtrada e tratada, pode ser adicionada de uma só vez ou em duas porções. A adição em duas vezes tem o objetivo de produzir uma melhor dissolução da caseína com a solução de sal emulsificante, duas vezes mais concentrada do que quando é adicionada de uma só vez (MEYER, 1973).

A quantidade de gordura a ser adicionada depende do teor de gordura que se deseja no extrato seco do produto final, bem como da porcentagem de gordura e extrato seco da massa inicial (MEYER, 1973; VALLE, 1981). A sua adição, além de realçar o sabor do produto, exerce um papel importante na sua cremosidade, tornando-o mais atraente para o consumo e melhorando suas características organolépticas (VALLE, 1981). Segundo OLIVEIRA (1986), na fabricação de requeijão cremoso, o creme deve ser adicionado quando a massa já estiver fundindo-se.

3.1.3. SAIS EMULSIFICANTES

Os sais emulsificantes são indispensáveis para fabricação de queijos fundidos, entretanto o tipo e a quantidade utilizada depende de diversos fatores tais como: tipo, pH, grau de maturação e estrutura do queijo utilizado como matéria prima; uso de outros ingredientes permitidos pela legislação; equipamento utilizado para fusão e do produto final que se deseja obter (MEYER, 1973; ZEHREN & NUSBAUM,1992).

O primeiro sal usado na prática como emulsificante foi o citrato de sódio, em 1911. Atualmente, três categorias de sais emulsificantes são empregados extensivamente na fabricação de queijos fundidos: citratos, monofosfatos e polifosfatos. Cada grupo confere ao produto final características básicas de firmeza, espalhabilidade, maciez e poder tampão. Os sais comumente usados são citrato de sódio, fosfato de sódio e alumínio, fosfato monossódico, fosfato dissódico, fosfato trissódico, hexametafosfato de sódio, difosfato tetrassódico, fosfato monossódico, pirofosfato tetrassódico, tripolifosfato de sódio (MEYER, 1973, KOSIKOWSKI, 1978; SHIMP, 1985).

Quando um queijo é aquecido, observa-se que sob a ação do calor, ele se transforma em uma massa elástica, com separação de água e óleo. Entretanto, ao se adicionar 2-3% de sais emulsificantes, o queijo se transforma em uma pasta homogênea, processo este que pode ser acelerado pela agitação (MEYER, 1973).

Na fabricação dos queijos fundidos, os sais emulsificantes são usados com a finalidade de remover o cálcio do sistema protéico, peptizar, hidratar, solubilizar e dispersar a proteína; estabilizar a emulsão; controlar o pH e contribuir para a formação de uma estrutura apropriada no queijo fundido após o refriamento. Além disso, é também desejável que o sal emulsificante não influa no paladar e aroma do produto, não recristalize durante o armazenamento e tenha ação bacteriostática (PALMER & SLY, 1944; HOLTORFF *et al.*, 1951; MEYER, 1973; CARIC' *et al.*, 1985; SHIMP, 1985).

Segundo MEYER (1973) a principal característica de um sal emulsificante é sua capacidade de solubilizar a caseína com formação de um "sol" homogêneo e essa capacidade aumenta paralelamente com o seu poder de fixação ao cálcio.

A peptização e suas características físicas, tais como redução da estrutura da massa e alteração do estado de hidratação da caseína são identificadas como o efeito cremificante dos sais emulsificantes. Desta forma, o que é tecnicamente conhecido como efeito cremificante resulta da separação de grandes agregados hidrofóbicos de caseína em unidades menores durante o processo de aquecimento e agitação da massa na fabricação dos queijos fundidos. Isto aumenta a área superficial e a capacidade de retenção de água da proteína, provocando uma mudança na textura do produto final (MEYER, 1973; BERGER *et al.*, 1989; ZEHREN & NUSBAUM,1992). Segundo MEYER (1973), a atividade peptizante continua durante o resfriamento e estocagem e o produto pode adquirir consistência de pudim devido a supercremificação.

Essa capacidade de cremificação, ou seja de conferir à massa do queijo uma estrutura curta, assegurando, por outro lado, a formação de uma estrutura estável é provavelmente a característica mais importante para fabricação de queijo fundido pastoso. No caso do uso de queijos não maturados, que possuem massa de estrutura longa, é necessário um sal emulsificante com grande poder cremificante, pois esse tipo de matéria-prima sofre transformações lentas. Ao contrário, se o queijo for maturado e a caseína já estiver bastante degradada, ou seja, com estrutura curta, deve-se usar um sal que não modifique ainda mais a massa (MEYER, 1973; FERNANDES, 1981b, PATART, 1986).

A Figura 3.2 ilustra o modo de ação de um sal emulsificante, usando como exemplo o ortofosfato ácido dissódico. O sal, dissolvido na fase aquosa, penetra no espaço intermicelar e/ou intersubmicelar promovendo o rompimento das pontes de fosfato de cálcio, substituindo o íon cálcio do fosfato cálcico dos agregados micelares e submicilares por sódio, formando como produtos fosfato monoácido de cálcio e uma estrutura mais aberta e desagregada de micelas e/ou submicelas com fósforo na forma de monofosfato de sódio. Esta estrutura micelar e/ou submicelar mais aberta é agora susceptível de ligar um volume maior de água de hidratação nas sua porções hidrolílicas (BERGER *et al.*, 1989). Segundo o autor, esse modo de ação pode ser observado por microscopia eletrônica.

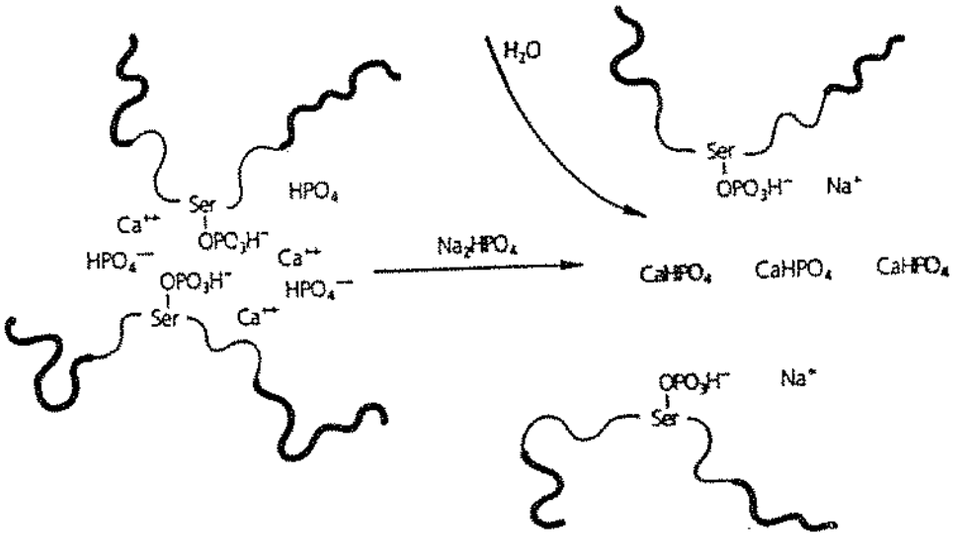

Figura 3.2. Modo de ação do sal emulsificante (BERGER *et al.*, 1989)

Outro processo que ocorre paralelamente a quebra dos agregados de proteína é conhecido como "integração", que corresponde a um maior poder de emulsificação por parte das caseínas micelares e submicelares (BERGER *et al.*, 1989).

As diferenças no comportamento emulsificante da micela de caseinato dissolvida e submicelas de paracaseína dispersada são dependentes do pH. A capacidade emulsificante aumenta com o valor do pH, entretanto, a extensão com que isso ocorre é diferente em ambos os casos (BERGER *et al.*, 1989).

A faixa de pH é limitada de um lado pela estrutura do queijo e, de outro lado, pela durabilidade do produto. Valores de pH menores do que 5,4 podem ser prejudiciais à estrutura do queijo, que pode se tornar granuloso. Em pH acima de 6,2 pode-se diminuir a vida útil do produto além de alterar seu sabor e sua estrutura. Queijos com pH entre 5,5 e 5,7 tendem a adquirir consistência sólida, enquanto que produtos com pH maior que 5,7 tornam-se mais pastosos (MEYER, 1973; FERNANDES, 1981b).

A quantidade de sal emulsificante necessária varia em função de diversos fatores que já foram abordados (tipo e idade do queijo, pH, tipo de sal emulsificante), entretanto, usa-se normalmente de 2,5 a 3,5% em relação à quantidade de massa utilizada (MEYER, 1973; FERNANDES, 1981b).

3.1.4. PROCESSO DE FABRICAÇÃO DOS QUEIJOS FUNDIDOS

Para a fabricação dos queijos fundidos, após a definição da matéria-prima e dos ingredientes a serem utilizados, estes devem ser misturados, submetidos à agitação com aplicação de calor e vácuo. Existem disponíveis no mercado diferentes equipamentos para produção de queijos fundidos pelos sistemas contínuo ou em batelada. Esses equipamentos são equipados com agitadores de 3 estágios, com os quais é possível operar em 3 velocidades diferentes (60, 80 e 120rpm; 75, 100, 150rpm ou 90, 120 e 180rpm). As máquinas homogeneizadoras-trituradoras Stephan são uma exceção, com velocidade de 1500 e 3000 rpm (MEYER, 1973).

Segundo ZEHREN & NUSBAUM (1992) a produção do queijo fundido inclui três etapas: a trituração do queijo, que requer aproximadamente 3 minutos; a mistura e homogeneização com os outro ingredientes, tais como sal emulsificante, cloreto de sódio, creme de leite e água, que requer cerca de 2 minutos e o cozimento ou fusão, que requer aproximadamente 3 minutos.

A massa começa a fundir-se a aproximadamente 60°C, entretanto, essa temperatura não assegura sua pasteurização. Portanto, por questões de conservação do produto, recomenda-se o seu aquecimento a temperaturas superiores a 75°C (VALLE, 1981).

A temperatura é um fator muito importante, pois o calor, além de agir na peptização da caseína também influencia na estrutura do produto final porque atua juntamente com as forças mecânicas e químicas reforçando a tendência natural da caseína de absorver água. Esse fenômeno é acompanhado do encurtamento da estrutura e formação do corpo (cremificação) que ocorre a temperaturas entre 70-75°C (FERNANDES, 1981a).

A elevação da temperatura pode ser efetuada através da injeção direta ou indireta de vapor, dependendo do tipo de massa que se tenha para fundir e do produto desejado. Utilizando-se vapor indireto deve-se tomar cuidado para evitar que a massa em contato com a parede do equipamento se queime. Com o uso de vapor direto consegue-se atingir temperaturas mais altas, de forma mais rápida e com melhor aproveitamento do calor (FERNANDES, 1981a).

De maneira geral deve-se empregar temperatura de 90°C para queijos fundidos em bloco, temperatura na qual ainda se consegue obter uma boa elasticidade no produto. Para o queijo fundido pastoso, temperaturas mais elevadas variando entre 110 e 145°C, além de proporcionarem maior cremosidade, melhoram a durabilidade do produto, normalmente mais suscetível à deterioração em função de um teor de umidade e pH mais alto (FERNANDES, 1981a.; FURTADO & LOURENÇO NETO, 1994) Segundo MEYER (1973) a cremificação é consideravelmente aumentada quando a temperatura aumenta de 70 para aproximadamente 90°C.

Segundo BERGER *et al.* (1989) quando concentrados protéicos de soro (CPS) parcialmente desnaturados são adicionados na fabricação de queijos fundidos, o tratamento térmico, isto é, a injeção de vapor, deve ser feita gradativamente. De outra maneira, a desnaturação térmica das proteínas do soro poderia resultar na formação de partículas duras, as quais confeririam ao produto final uma característica arenosa.

O tempo necessário para se obter a fusão depende do equipamento utilizado, do tipo, da idade e do grau de maturação da matéria-prima, das propriedades que se deseja no produto final e do tipo de sal emulsificante utilizado. Normalmente a solubilização completa dos sais ocorre após 3-5 minutos (MEYER 1973; ZEHREN & NUSBAUM, 1992).

O tratamento mecânico da massa não só promove uma completa mistura entre a matéria-prima, os aditivos, o sal emulsificante, a gordura e a água, que é um pré-requisito para se obter um perfeita dispersão e uma emulsão estável, como também acelera o processo de cremificação do "sol" de caseína (MEYER, 1973).

Na fabricação de queijos de consistência cremosa geralmente se requer agitação rápida (120-150rpm). Porém, no início do processo deve-se usar a velocidade mais baixa, que pode ser aumentada no decorrer do processo (MEYER, 1973).

Atualmente o uso do vácuo se restringe apenas aos últimos 2-3 minutos de processamento e não deve exceder 300-500mmHg. A aplicação do vácuo depois que queijo é fundido remove o ar incluso e resfria o produto antes de ser descarregado do equipamento (ZEHREN & NUSBAUM, 1992).

Segundo OLIVEIRA (1986) qualquer que seja o tipo de embalagem utilizada é importante que o produto seja embalado a quente visando aproveitar a fluidez da massa e também para destruir contaminantes microbiológicos que porventura estejam nas embalagens, principalmente mofos e leveduras. O fechamento deve ser hermético a fim de evitar a entrada de ar, que facilitará a oxidação do produto e desenvolvimento microbiológico, prejudicando sua conservação.

O resfriamento varia de acordo com o tipo de queijo fundido. Os queijos cremosos devem ser resfriados rapidamente para cessar a cremificação da massa. Deste modo o produto retém a consistência cremosa e a estrutura curta necessária para se obter a untabilidade ideal (FERNANDES, 1981a). O produto deve ser armazenado sob refrigeração para sua adequada conservação (OLIVEIRA, 1986).

3.1.5. CARACTERÍSTICAS DE QUALIDADE E PRINCIPAIS DEFEITOS DOS QUEIJOS FUNDIDOS

A avaliação da qualidade de um produto alimentício é, em parte, subjetiva, já que o principal instrumento de avaliação é o consumidor. Porém, como avaliar significa "determinar o valor", são utilizados diferentes provas ou índices quantitativos, tanto para descrever objetivamente a qualidade como para permitir

a obtenção de um nível de qualidade satisfatório e constante (CHEFTEL *et al.*, 1989).

O mais importante critério de qualidade para avaliação de produtos alimentícios são as propriedades organolépticas, que em ordem cronológica de apreciação podem se ordenadas como: aparência (forma, cor, etc.); sabor (aroma gosto) e textura (resistência, consistência na mastigação, etc.). Também são importantes outras características tais como: a salubridade, ou seja a ausência de ação tóxica de microrganismos patógenos ou toxinógenos; o valor nutricional; as propriedades funcionais, especialmente de diversos ingredientes sobretudo por seu interesse industrial; a estabilidade, ou seja , a capacidade do produto para não se alterar rapidamente em condições de armazenamento e o custo (CHEFTEL *et al.*, 1989).

Segundo FERNANDES *et al.* (1985b), os atributos de qualidade normalmente avaliados para o requeijão cremoso são consistência, textura, cor, sabor e aroma.

A substituição de métodos sensoriais subjetivos por objetivos para avaliação das características de qualidade de alimentos são bastante desejáveis. A avaliação sensorial se utiliza dos sentidos humanos do tato, olfato, paladar e visão. Determinações comuns na avaliação objetiva de alimentos incluem medidas de tamanho, forma, volume, densidade, umidade, textura e cor (GIESE, 1995).

As propriedades de textura estão relacionadas com deformação, desintegração e escoamento do alimento quando submetido a uma determinada força. Elas são medidas objetivas em função do tempo, massa e distância (GIESE, 1995).

O surgimento do texturômetro da General Food, que simula a mastigação comprimindo duas vezes a amostra, foi um marco no desenvolvimento e análise do perfil de textura. No equipamento, a força necessária para comprimir a amostra é registrada em gráficos e a partir da análise destas curvas obtidas, extrai-se sete parâmetros de textura, sendo cinco deles medidos diretamente a partir das curvas e dois calculados a partir dos demais parâmetros. A Tabela 3.1 e a Figura 3.3 apresentam os principais parâmetros de textura e sua definições e uma curva típica do perfil de textura, respectivamente (BOURNE, 1978; SZCZESNIAK *et al.*, 1983).

Tabela 3.1: Principais parâmetros de textura e suas definições.

Parâmetros de textura	Definições
Fraturabilidade	É a força num primeiro pico significante da curva do ciclo de compressão.
Firmeza	É a força necessária para ocasionar uma compressão no alimento, correspondente ao pico máximo (positivo), obtido na primeira curva do ciclo de compressão.
Coesividade	É a relação entre a área da força (positiva) obtida durante o segundo pico de compressão e a área da força (positiva) obtida no primeiro ciclo de compressão (A2/A1).
Adesividade	É a força necessária para vencer as forças de atração entre a superfície do alimento e a superfície do elemento de prova, correspondendo ao pico máximo (negativo) existente sobre a curva.
Elasticidade	É dado como a altura que o alimento recupera entre o primeiro e o segundo pico de compressão.
Gomosidade	É o produto da firmeza e coesividade.
Mastigabilidade	É o produto da elasticidade e gomosidade.

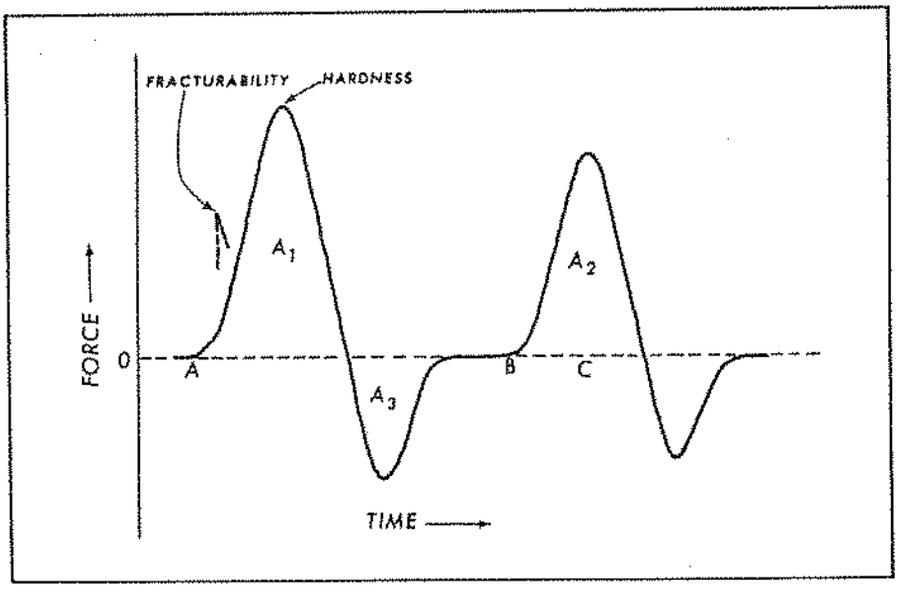

Figura 3.3. Curva típica do perfil de textura (BOURNE, 1978).

Nos queijos, a estrutura e o arranjo das moléculas de proteína são largamente responsáveis pelas características de textura. Durante a sua fabricação, a caseína altera sua estrutura de micela esférica para uma estrutura de fios e durante a maturação sua estrutura é transformada em uma rede tridimensional (CAMPOS, 1981). Segundo FOX (1992), a matriz protéica de um queijo novo consiste em moléculas de αs1-caseína ligadas por meio de interações hidrofóbicas entre aminoácidos terminais. A quebra específica da ligação Phe24-Val25 da αs1-caseína, promovida pela ação da renina, é responsável pela diminuição da firmeza que ocorre no estágio inicial da maturação.

No caso específico de queijos fundidos, além da textura ser grandemente influenciada pela característica da matéria-prima, ou seja se é jovem ou curada, obtida por coagulação ácida ou enzimática, é também influenciada pelo tipo e quantidade de sais fundentes, pH, tempo e temperatura de cozimento, velocidade de agitação e temperatura de resfriamento (MEYER, 1973; CAMPOS, 1981, BERGER *et al.*, 1989; ZEHREN & NUSBAUM, 1992).

OLSON *et al.* (1958) demonstraram que o tipo de queijo usado na fabricação de queijo fundido cremoso tem influência na textura do produto final. Queijo fundido cremoso fabricados com queijo Doriword com 60 dias de maturação foram significativamente mais macios do que os fabricados a partir de queijo Cheddar com o mesmo grau de maturação.

OLSON & PRICE (1961) constataram que a firmeza do queijo diminui consideravelmente com o aumento da umidade, entretanto, o mesmo não se observa em relação ao conteúdo de gordura.

THOMAS *et al.* (1980) avaliaram o efeito de 4 sais emulsificantes (fosfato dissódico, pirofosfato alcalino, tripolifosfato pentassódico, citrato trissódico) e observaram que o produto mais firme foi obtido com o uso do pirofosfato alcalino, enquanto o produto menos firme foi obtido com o uso de citrato trissódico.

GUPTA *et al.* (1984) avaliaram a umidade, pH, gordura, derretimento, espalhamento e textura de queijos fundidos processados com 17 sais emulsificantes em três diferentes concentrações cada um. Os autores observaram que sais emulsificantes ácidos, incluindo pirofosfato ácido de sódio, citrato monossódico, citrato monopotássico, fosfato monopotássico e hexametafosfato

de sódio, resultaram em pH de 5,2 ou menor para todas as concentrações testadas (menores que 3% em peso) e causaram textura farinácea, seca e quebradiça no produto.

FERNANDES *et al.* (1985a,b) estudaram formulações de sais emulsificantes para a fabricação de requeijão cremoso. Seis misturas de sais emulsificantes baseados em pirofosfato tetrassódico, tripolifosfato de sódio, pirofosfato ácido de sódio, hexametafosfato de sódio, monofosfato dissódico e citrato de sódio foram usados na fabricação do requeijão cremoso. Ótima pontuação de sabor e textura foram obtidos para o requeijão feito com uma mistura de 60% de fosfato tetrassódico, 25% de tripolifosfato de sódio e 15% de pirofosfato ácido de sódio. Na avaliação da textura com uso do penetrômetro os autores observaram que o valor mínimo de 9,0mm de penetração, citado na literatura como aceitável para queijos cremosos, não se confirmaram no caso do requeijão. Produtos que apresentaram valores de 9,3mm de penetração foram rejeitados na análise sensorial por apresentarem consistência muito firme. Os autores avaliaram que o consumidor brasileiro de requeijão cremoso está acostumado a um produto bem menos consistente que os importados.

Utilizando sais emulsificantes comerciais JOHA SE, C e T (1,25:1:0,75) na fabricação de queijos fundidos em bloco adicionados de massa básica obtida por UF de leite desnatado, TAMIME *et al.* (1990) obtiveram queijos mais firmes a medida que a proporção de massa básica foi aumentada na mistura. O queijo controle, fabricado exclusivamente com a massa básica foi 2,5 vezes mais firme que o queijo fabricado sem adição de massa básica.

KALÁB *et al.* (1991) observaram que a firmeza de queijo fundido fabricado com citrato de sódio aumentou quando proporções de queijo branco obtido por coagulação ácida a quente foi introduzido nas proporções de 8, 16 e 33%, mas diminuiu quando se usou fosfato trissódico como sal emulsificante, exceto para a mais alta concentração de queijo branco no queijo fundido.

GUPTA & REUTER (1992) observaram que a adição de CPS aumentou a firmeza do queijo fundido. Os autores também observaram (1993) que a firmeza do queijo fundido adicionado de CPS aumentou quando a quantidade de citrato trissódico foi aumentada de 2,0 para 2,5 e 3,0%.

CONDACK (1993) avaliou sensorialmente o requeijão cremoso fabricado a partir de massa obtida por coagulação ácida a quente substituindo 5 e 10% da caseína por CPS (20% de sólidos) obtido por ultrafiltração de soro de queijo prato até fator de concentração igual a 12. Os provadores indicaram que existe diferença significativa na consistência dos produtos quando comparados com o controle (sem adição de CPS). Os produtos adicionados de CPS apresentaram menor elasticidade e corpo mais firme.

RAPACCI (1997) avaliou o perfil de textura do requeijão cremoso obtido por fermentação láctica e acidificação direta, usando 2,0, 2,5 e 3,0% de sal emulsificante JOHA S9 e S10 na fabricação. A autora observou que com o aumento da quantidade de sal , independente do tipo utilizado, houve um aumento na firmeza dos requeijões processados com massa obtida por fermentação láctica. Amostras obtidas por acidificação direta, com ambos os tipos de sal emulsificante apresentaram um decréscimo de firmeza a medida em que se aumentou a concentração de sal. Em uma mesma concentração de sal, a utilização do sal emulsicante S10 proporcionou sempre um produto mais firme.

A característica de derretimento do queijo fundido, ou de refundibilidade, conforme definido por CAMPOS (1981) é a capacidade de derreter quando aquecido e é uma propriedade que o produto fatiável e cremoso deve apresentar. No caso específico do requeijão cremoso ela é também importante devido ao hábito brasileiro de utilizá-lo como ingrediente culinário.

No teste original descrito por OLSON & PRICE (1958) para avaliar a característica de derretimento do queijo fundido espalhável, expressa como fluxo de queijo em mm, a amostra foi aquecida a 110°C/8 minutos (6+2 minutos). Os autores sugerem que a extensão do período de aquecimento pode variar para adaptar-se à avaliação de diferentes produtos.

GUPTA *et al.* (1984) usaram as condições sugeridas por OLSON & PRICE (1958) para avaliar o derretimento de queijos fundidos fabricados com 17 sais emulsificantes em 3 diferentes concentrações. Adaptações do método original proposto por OLSON & PRICE (1958) foram feitas por alguns autores. Para avaliação de queijo fundido, RAYAN *et al.* (1980) citado por KALÁB *et al.* (1991) estenderam o tempo para 30 minutos; SAVELLO *et al.* (1989) usaram 110°C/50 minutos para avaliar queijo fundido fabricado com caseína obtida por coagulação

ácida e enzimática; KALÁB *et al.* (1991) usaram as condições padronizadas por SAVELLO *et al.* (1989) para avaliar queijo fundido adicionado de queijo branco obtido por precipitação ácida a quente.

A cor é um fator importante na avaliação da qualidade de um alimento e é dependente de três fatores: da luz incidente, do objeto que reflete ou transmite essa luz e da visão do observador (CHEFTEL *et al.*, 1989). Assim como a textura, a cor pode ser avaliada subjetivamente, através da análise sensorial e por medidas objetivas, pela análise instrumental

A principal fonte de subjetividade na avaliação humana é a descrição, ou seja, a comunicação verbal que é usada para expressar o que é percebido. Na avaliação objetiva, escalas de cor são usadas para determinar a cor e a diferença de cor dos produtos (MABON, 1993).

A "Commission Internacional de l'Eclariage"(CIE) desenvolveu um sistema para avaliação da cor. Este sistema baseia-se em fontes padrão de iluminação e em um observador padrão. Ele é usado para obter os valores triestímulo CIE, baseado no espectro visível (CHEFTEL *et al.*, 1989).

Para tornar a cor mais intuitiva e fácil de interpretar esses valores triestímulo são normalmente convertidos para outra escala de cor. As escalas de cor Hunter L, a, b e CIE L*, a*, b* são sistemas tipo opostos que são freqüentemente usados na indústria de alimentos. Elas medem o grau de luminosidade (L), o grau de vermelho ou verde (+/- a) e o grau de amarelo e azul (+/- b) (GIESE, 1995).

Segundo MABON (1993) embora a cor seja freqüentemente definida através de uma escala tridimensional que descreve os diferentes componentes da cor, algumas vezes apenas uma dimensão específica é necessária para determinar a qualidade de um produto. Por exemplo, na indústria de tomate qualidade do produto é avaliada através do vermelho.

A adição de corantes é permitida na fabricação de queijos fundidos. Os mais usados são extrato de anato, beta caroteno, extrato de páprica e cantaxantina (ZEHREN & NUSBAUM, 1992). Segundo a Portaria Nº 356, do Ministério da Agricultura e do Abastecimento, de 04 de setembro de 1997 (BRASIL, 1998), diversos corantes são permitidos: beta caroteno, anato, urucum,

bixina, extrato de páprica, extrato de pimentão dentre outros. Neste caso, obviamente a cor do produto é dependente do corante utilizado.

Entretanto, independente do uso de corantes, vários fatores relacionados com as matéria-primas e processamento podem alterar a cor dos queijos fundidos, que varia do creme ao branco. Por exemplo, a variação da cor do queijo natural devido a sazonalidade; o grau de dispersão da gordura, sendo que a homogeneização resulta em uma cor mais clara; o tipo de sal emulsificante, sendo que citratos tendem a produzir queijos mais claros e as características do processo como temperatura e tempo de cozimento (ZEHREN & NUSBAUM, 1992).

Um defeito de coloração do queijo, com o produto apresentando-se amarronzado, pode ser proveniente da reação de Maillard que envolve os grupamentos animo das proteínas e os açúcares redutores dos carboidratos, com formação de pigmentos coloridos e compostos aromáticos (MEYER, 1973).

Segundo THOMAS (1977), citado por RAPACCI (1997), a reação de Maillard é mais pronunciada em queijos fundidos cremosos do que em bloco. Isso ocorre porque o tempo e a temperatura de cozimento da massa do queijo cremoso (90°C/8-15min.) é maior que a temperatura do queijo em bloco (80°C/6-8min.). Além disso, o teor de umidade é maior no queijo cremoso. Outro fator que contribui para o maior desenvolvimento da reação de Maillard em queijos fundidos cremosos é o pH que varia de 5,8 a 6,0 contra 5,5 a 5,6 no queijo fundido em bloco.

BLEY *et al.* (1984) observaram que o queijo fundido obtido a partir de queijo cheddar fabricado com o emprego de culturas não fermentadoras de galactose resultou em um aumento deste açúcar no queijo, o que intensificou o escurecimento do queijo fundido.

Segundo MEYER (1973), os defeitos dos queijos fundidos são principalmente devido ao tipo de matéria-prima utilizada, mas podem também estarem relacionados ao uso de sais emulsificantes e processamento inadequados.

Os principais defeitos que podem ser observados já no decorrer da fusão são: massa gramulosa, em vez de lisa e homogênea; massa muito fluida; massa com aparência de pudim (supercremificação); separação de gordura e escurecimento da massa. Os defeitos observados durante o armazemanento são: consistência borrachenta; produto cremoso que se torna sólido e quebradiço, com sinerese; separação de gordura e textura arenosa. Somente a seleção criteriosa da matéria-prima, associada ao uso do sal emulsificante adequado e condições controladas de processamento podem eliminar estes defeitos (MEYER, 1973; FERNANDES 1981c; BERGER *et al.*, 1989; ZEHREN & NUSBAUM, 1992; FURTADO E LOURENÇO NETO, 1994).

De uma maneira geral, o pH dos queijos fundidos variam dentro dos limites de 5,7 e 6,0. Estes valores dependem do pH da matéria-prima e também do tipo de sal emulsificante empregado. Sob o ponto de vista de conservação do produto, um pH mais baixo propicia melhor conservação, mas pode favorecer os defeitos de textura granulosa e paladar ácido (VALLE, 1981).

3.2. ULTRAFILTRAÇÃO

3.2.1. FUNDAMENTOS DO PROCESSO DE ULTRAFILTRAÇÃO (UF)

As membranas e os processos de separação baseados em diferenças de potencial de diversas naturezas, são estudados há mais de um século e empregados em aplicações tradicionais como diálise de sangue na medicina e dessalinização da água do mar, também há bastante tempo. Todavia, desenvolvimentos realizados nos últimos 20 anos, especialmente em relação aos materiais constituintes das membranas e suas configurações, abriram caminho para muitas novas aplicações industriais (PERES, 1997).

Os principais processos de separação que são disponíveis são osmose reversa (OR), nanofiltração (NF), ultrafiltração (UF), microfiltração (MF) e eletrodiálise (ED) (KESLLER, 1981; BIRD, 1996). Com exceção da eletrodiálise, onde a força motriz é uma diferença de potencial, fazendo com que os íons passem através da membrana, para os demais processos a força motriz é a diferença de pressão (KESLLER, 1981).

A escolha de um sistema de membranas é ditada principalmente pelo tipo de aplicação. Em adição, a porosidade e o coeficiente de rejeição da membrana devem ser considerados na escolha de um sistema adequado. A Tabela 3.2 apresenta a permeabilidade dos sistemas de membranas para diferentes solutos (BIRB, 1996).

Tabela 3.2. Permeabilidade dos sistemas de membranas.

Soluto	Sistemas de Membranas			
	OR	NF	UF	MF
Água	X	X	X	X
Sais	R	R	X	X
Açúcares e aminoácidos	R	R	X	X
Proteínas e polissacarídeos	R	R	R	X
Glóbulo de gordura e bactérias	R	R	R	R

X = passa para permeado; R = parcial ou totalmente rejeitado pela membrana
(BIRD, 1996)

De todas as tecnologias de membranas, a UF é a mais difundida e utilizada. Membranas de UF típicas têm porosidade variando de 10 a 1000Å (0,001 a 0,1μ) e são capazes de reter espécies com peso molecular variando de 300 a 500.000daltons. As membranas são descritas por seu valor de peso molecular de corte, o qual é normalmente definido como a espécie de peso molecular menor para a qual a membrana tem mais de 90% de rejeição (WINSTON HO & SIRKAR, 1992).

As membranas utilizadas em laticínios normalmente têm peso molecular de corte para constituíntes com peso molecular de aproximadamente 2000-5000daltons, permitindo a retenção da totalidade da matéria gorda e 90% das proteínas do leite (BEATON, 1979; NEVES & DUCRET, 1988).

De acordo com VIOTTO (1993), o desenvolvimento do processo de UF forneceu uma nova fórmula de concentrar solutos de alto peso molecular presentes em solução, sem a aplicação de calor e sem o uso de condições físicas ou químicas severas. Para as proteínas isso significa concentração sem qualquer modificação séria da sua estrutura e funcionalidade. Proteínas podem ser concentradas com um mínimo de desnaturação e enzimas podem ser concentradas sem perda significativa de sua atividade. Estas características têm

levado à popularização dessa técnica no fracionamento e concentração de materiais biológicos na indústria química e farmacêutica, mas é na indústria láctea que ela se implantou no início da década de 70 e é para esse setor que tem se dirigido a maioria das pesquisas e estudos publicados na literatura.

O mecanismo de separação é complexo e influenciado por diversos fatores tais como: método de fabricação das membranas, interações químicas entre o material das membranas e o fluido de alimentação, composição da membrana e pressão, temperatura e velocidade do fluido de alimentação (CHERYAN, 1986).

Em relação às membranas de UF, até 1978 todos os processos industriais operavam com membranas chamadas de primeira e segunda geração, correspondentes às membranas homogêneas e assimétricas, confeccionadas a partir de materiais poliméricos, principalmente o acetato de celulose e polissulfonas. A utilização destes tipo de membranas apresenta, entretanto, desvantagens como as limitadas faixas de pressão, pH e temperatura em que podem operar, além de tenderem a se compactar com o tempo, reduzindo o fluxo (PERES *et al.*, 1992).

As membranas minerais recentementes desenvolvidas, a base de óxido de zircônio, suportadas por carbono grafite, apresentam um ótimo comportamento físico-químico e permitem a obtenção de produtos de alta viscosidade (GOUDÉDRANCHE *et al.*, 1980; MAHAUT & MAUBOIS, 1985). Estas membranas, de terceira geração, podem operar em qualquer pH, não sofrendo degradação por hidrólise, apresentam melhor desempenho em relação à temperatura (resistem até 400°C) e estão disponíveis em uma ampla faixa de porosidade (VEYRE, 1984 citado por PERES *et al.*, 1992).

A fração líquida retida pela membrana é denominada concentrado ou retentado e a fração líquida que passa através da membrana permeado (FIL-IDF,1981). As mais importantes propriedades das membranas, as quais caracterizam a performance de um processo de UF são fluxo de permeação e coeficiente de rejeição (WINSTON HO & SIRKAR, 1992).

Segundo FIL-IDF (1981), o fluxo de permeado é a quantidade obtida de permeado em litros, por m^2 de membrana, por hora ($L/h.m^2$) e o coeficiente de rejeição das várias espécies de soluto é definido na equação 1.

$$R_i = C_{ir} - C_{pi} / C_{ir} = 1 - C_{ipl} C_{ir} \qquad \text{(equação 1)}$$

Onde:

R_i = coeficiente de rejeição do componente *i*;

C_{ip} = concentração de *i* no permeado, onde a concentração é definida como massa do componente i por massa de solvente;

C_{ip} = concentração de *i* no concentrado, onde a concentração é definida como massa do componente i por massa de solvente;

Segundo CHIANG & CHERYAN (1986) a rejeição é controlada principalmente pelo diâmetro dos poros da membrana e, em menor extensão, pelos parâmetros operacionais.

Devido ao tamanho relativamente grande das moléculas rejeitadas pelas membranas, bem como ao alto fluxo de permeação da maioria das membranas de UF, os fenômenos da camada polarizada e "fouling" são mais significantes quando comparado com o sistema de osmose reversa (WINSTON HO & SIRKAR, 1992).

Segundo COVACEVICH & KOSIKOWSKI (1977b), GAROUTTE *et al.* (1982), THOMPSON & MANN (1975) e YAN *et al.* (1979), fatores como pressão, temperatura, concentração do fluido de alimentação e vazão de alimentação influenciam a vazão de permeação, mas o fator mais significativo é a formação da camada polarizada e a viscosidade do retentado. Esta camada é formada devido à deposição contínua de componentes retidos na superfície da membrana, principalmente proteínas e sais, à medida que a concentração aumenta, exercendo uma resistência hidráulica à passagem de água e de solutos de baixo peso molecular.

A principal dificuldade que ocorre na UF é o que se define vagamente como "fouling" da membrana. O "fouling" manifesta-se como um declínio no fluxo de permeado com o tempo de processo quando todos os parâmetros operacionais, tais como pressão, velocidade tangencial, temperatura e fator de concentração são mantidos constantes (CHERYAN, 1986).

Os efeitos de diminuição do fluxo de permeado devido a polarização da concentração e mudança nas propriedades do fluido são freqüentemente confundidos com o declínio do fluxo devido ao "fouling" da membrana. Os efeitos

da polarização da concentração são reversíveis, já que podem ser reduzidos pela diminuição da pressão transmembrana ou pela diminuição da concentração da solução. Já os efeitos do "fouling" podem ser caracterizados por um declínio irreversível do fluxo (DAUFIN *et al.*, 1992).

Enquanto ambos, camada polarizada e "fouling" reduzem o fluxo, eles têm efeitos opostos sobre a rejeição observada. Outro caminho para distinguir os dois fenômenos é através da sua dependência com o tempo. A camada polarizada é dependente dos parâmetros operacionais tais como pressão, temperatura, concentração de alimentação e velocidade, mas não é função do tempo. O "fouling" é parcialmente dependente dessas variáveis, particularmente da concentração do fluido de alimentação, mas é também dependente do tempo (WINSTON HO & SIRKAR, 1992).

Devido ao tamanho relativamente grande das moléculas rejeitadas pelas membranas, bem como ao alto fluxo de permeado da maioria das membranas de UF, os fenômenos da camada polarizada e "fouling" são mais significativos quando comparado com o sistema de osmose reversa (WINSTON HO & SIRKAR, 1992).

A visão de que a separação por UF é baseada no tamanho molecular relativo é apenas uma primeira aproximação. Em muitos casos, a interação química soluto/membrana é também importante. Os valores de peso molecular de corte de qualquer membrana podem variar com as mudanças químicas do componente de alimentação bem como com fatores tais como orientação molecular, configuração molecular e condições de operação (WINSTON HO & SIRKAR, 1992).

O fluxo de permeado é a variável crítica na determinação da eficiência do processo de UF, sendo desejável o máximo fluxo de permeado com o mínimo gasto de energia (VIOTTO, 1993).

Um processo para aumentar a capacidade de sistemas de filtração por membranas de leite e produtos lácteos patenteado por BUCHBJERG & BJERRE (1984) implica em submeter o produto a um ou mais dos pré-tratamentos selecionados entre tratamento térmico, padronização da gordura, homogeneização e pré-acidificação seguida de coagulação do leite. Os autores compararam o fluxo de permeado de leite e leite coagulado ultrafiltrado nas

mesmas condições de processamento e obtiveram um fluxo dez vezes maior quando da utilização do leite coagulado (110L/m^2/h para leite coagulado com um conteúdo de matéria seca de 40% no concentrado contra 10-12L/m^2/h para leite fluido com o mesmo conteúdo de matéria seca no concentrado).

Segundo PERES *et al.* (1992) a grande vantagem da utilização da UF de leite previamente coagulado em relação ao leite *in natura* reside no aumento do fluxo de permeado que se obtém devido ao tipo de camada de polarização por concentração formada sobre a membrana num caso e no outro.

MAHAUT *et al.* (1982) observaram que o fluxo de permeado médio à fatores de concentrações próximos de dois variam entre 75L/h/m^2 e 90L/h/m^2 para os coágulos a pH 4,4 a 40°C e entre 9 e 10L/h/m^2 para leites acidificados a pH 5,2. Segundos os autores, contrariamente ao que existe no caso do leite, onde a camada de polarização deve estar constuida por uma coalescência cada vez mais densa com a elevação do fator de concentração, de micelas de caseína, de proteínas globulares (monômeros de caseína e proteínas do lactosoro), ao curso da UF do coágulo a camada de polarização deve estar constituída de uma rede relativamente solta e porosa formada pelas cadeias de paracaseína.

A retenção e recuperação de gordura, nitrogênio total, nitrogênio protéico, lactose, Ca, Na, P e riboflavina de amostras de retentado e permeado obtidos durante a UF e diafiltração de leite integral acidificado a pH 5,8 e não acidificado foram avaliadas por BASTIAM *et al.* (1991). A diafiltração consiste em uma fase no processo de UF onde o concentrado é diluído através da adição de água e depois é novamente concentrado por UF (FIL-IDF, 1981).

BASTIAN *et al.* (1991) observaram que a remoção de permeado de leite não acidificado aumentou a retenção de nitrogênio total, Ca, Na, P e riboflavina. Toda a gordura, nitrogênio protéico e 1% da lactose foram retidos. A recuperação desses componentes variou de 12% para a lactose a 100% para a gordura e nitrogênio protéico. A retenção de lactose, Na, P e riboflavina foi maior durante a diafiltração do que durante a UF de leite não acidificado, mas a recuperação de nitrogênio total, lactose, Ca, Na, P e riboflavina foi menor. A diafiltração de leite acidificado diminue a retenção de Ca, P, Na e riboflavina comparado com a diafiltração de leite não acidificado.

Como a diafiltração e a acidificação influenciam na retenção e recuperação de muitos componentes do leite pode-se alterar pH, capacidade de coagulação, sinerese e características de derretimento de queijos, e propriedades de outros produtos obtidos por UF, usando-se esses processos (BASTIAN *et al.*, 1991).

3.2.2. ULTRAFILTRAÇÃO NA FABRICAÇÃO DE QUEIJOS

A necessidade cada vez maior da indústria de laticínios de simplificar os processos tecnológicos, de reduzir os custos de produção, de padronizar os queijos sob o perfil do mercado e aumentar os rendimentos com o aproveitamento das proteínas nobres, que geralmente se perdem no processo de fabricação de queijos, e que representam do ponto de vista nutricional os componentes mais preciosos da proteína do leite, tornaram possível a aplicação da ultrafiltração nesse setor (GHITTI & SAVADORI, 1980).

O processo de concentração do leite por UF para fabricação de queijos proposto pelos pesquisadores franceses MAUBOIS, MOCQUOT e VASSAL (Patente Française 2.052.121, 1969), denominado MMV em homenagem aos inventores, propunha a obtenção de uma matéria-prima líquida com composição igual a do queijo final desejado e denominada pré-queijo. O pré-queijo, adicionado de cultura láctica, renina, sal e, quando desejado, de corantes e fungos, pode ser transformado no queijo em poucos minutos .

As vantagens da UF para fabricação de queijos são rendimento maior, possibilidade de fabricação contínua, uso de sistema fechado sanitário, melhor controle do tamanho dos queijos, menor quantidade de coagulante, menor Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) e soro com pH neutro (KOSIKOWSKI, 1978).

Minerais tais como cálcio, magnésio e fósforo estão presentes no leite parcialmente ligados à proteína e parcialmente em solução. Os elementos minerais complexados a caseína do leite são concentrados durante a UF na mesma proporção que estas proteínas e isso resulta em aumento do poder tampão dos retentados e de mineralização dos queijos (MAUBOIS & MOCQUOT, 1974). Segundo GREEN *et al.* (1984) a retenção de vitaminas solúveis em água, cálcio, magnésio, fósforo e traços de minerais é dependente da proporção ligada a caseína.

O aumento do poder tampão e a mineralização dos retentados são, em geral, prejudiciais a qualidade organoléptica final dos queijos e são notadamente reconhecidos como responsáveis pela acidez mais pronunciada das primeiras fabricações de queijo tipo pâte fraîche (BRULÉ *et al.*, 1974), pela textura arenosa das primeiras fabricações de camembert ou ausência de filagem das primeiras mussarelas (MAUBOIS & MOCQUOT, 1974).

Diversas soluções decorrentes de resultados obtidos por BRULÉ *et al.* (1974) foram propostas de modo a se ajustar a mineralização dos pré-queijos líquidos e que, em conseqüência, suprimem defeitos anteriormente citados, as quais consistem de: a) UF do leite após maturação láctica preliminar aplicada à fabricação de queijos tipo pâte fraîche (BRULÉ *et al.*, 1975), camembert (JEPSEN, 1974; JEPSEN, 1975), ricota (MAUBOIS & KOSIKOWSKI, 1978), queijo creme (COVACEVICH & KOSIKOWSKI, 1977a), mussarela (FRIIS, 1981b), paste fesche (GHITTI & SALVADORI, 1980) e teleme (VEINOGLOU & BOYAZOGLU, 1982); b) diafiltração do retentado aplicada à fabricação de queijos tipo pâte fraîche (BRULÉ *et al.* 1975), Saint-Paulin (GOUDÉDRANCHE *et al.*, 1981), cheddar (SUTHERLAND & JANESON, 1981), mas não recomendada para a fabricação de queijo quarg (PATEL *et al.*, 1986); c) abaixamento do pH de UF aplicada à fabricação de mussarela (FRIIS, 1981b), cheddar (SUTHERLAND & JANESON, 1981), teleme (VEINOGLOU & BOYAZOGLU, 1982), fresco e tipo creme (MAHAUT *et al.*, 1982) e quarg (PATEL *et al.*, 1986).

KOSIKOWSKI (1974) relata a aplicação de leite concentrado por UF na fabricação de queijo creme americano utilizando leite desnatado concentrado a 50 °C através de uma unidade de ultrafiltração ABCOR UF-22S até 17% de proteína. O concentrado foi padronizado para 33% de gordura, adicionado de cultura láctica e sal a 32°C até pH 4,7. Este produto, na composição do queijo creme, foi pasteurizado (73°C/30 minutos) e homogeneizado. O produto obtido apresentou excelente sabor e textura. O autor também verificou que o retentado líquido, antes da adição da cultura láctica, pode ser congelado e estocado por diversos meses a 30°C negativos ou desidratado e armazenado por longos períodos sem alteração na qualidade ou performance.

COVACEVICH & KOSIKOWSKI (1977a) estudaram o processo de fabricação de queijo creme americano por ultrafiltração. Os autores utilizaram leite pasteurizado desnatado que foi concentrado a 50°C através de uma unidade de

ultrafiltração ABCOR UF-22S até 27,6% de sólidos totais. O retentado foi padronizado com creme de leite com 67-69% de gordura, retentado ou água para dar uma mistura de acordo com o queijo padrão. Este foi inoculado com cultura láctica e processado seguindo a metodologia tradicional. O queijo resultante apresentou excelente vida de prateleira e maciez comparável ao queijo creme padrão, entretanto, com maior consistência.

MAUBOIS & KOSIKOWSKI (1978) produziram ricota pelo processo MMV e avaliaram o efeito do grau de acidificação do leite, as condições de UF e o tratamento térmico dos pré-queijos. Segundo os autores, os queijos produzidos nas condições otimizadas foram similar a ricota tradicional.

ERNSTROM *et al.* (1980) estudaram um método para a produção de uma massa base obtida de leite integral concentrado por UF para produção de queijos fundidos. O queijo base foi obtido pela concentração do retentado fermentado. O produto, potencial substituto do queijo natural não maturado na fabricação de queijos fundidos, apresentou o mesmo pH e composição do queijo cheddar. Apresentou também sabor característico e estabilidade, além de um rendimento 16-18% maior do que o esperado no processo convencional. Entretanto, o queijo fundido fabricado com 2,5% de citrato de sódio apresentou corpo excessivamente firme.

MAHAUT *et al.* (1982) estudaram a concentração de leite já coagulado utilizando membranas minerais de terceira geração. Os autores utilizaram leite integral e desnatado coagulados enzimaticamente a pH 4,4 e 5,2 e avaliaram o processo de UF, o fluxo de permeado em função do fator de concentração, a viscosidade dos concentrados em função da tensão de cisalhamento e a composição química dos concentrados obtidos. Segundo os autores, além da alta taxa de permeação, os queijos produzidos apresentaram sabor, aroma e textura, similares aos queijos comerciais.

VEINOGLOU & BOYAZOGLU (1982) observaram que o queijo teleme produzido a partir de retentado tinha a desvantagem de apresentar textura arenosa, bem como uma pequena diferença de sabor, quando comparado com o tradicional, devido a incorporação das proteínas do soro. Houve uma melhora substancial na textura e sabor do queijo quando da adição de 0,5% de cloreto de sódio e após a maturação do leite com cultura láctica até redução do pH para 6,2 antes de se iniciar o processo de UF.

HANSEN (1984) estudou a produção do queijo feta através da UF e observou que 1kg de queijo é produzido usando apenas 5,3kg de leite, o que representa uma economia de 27% quando comparado com o método tradicional. Segundo os autores o queijo produzido por UF apresenta qualidade igual ou superior ao produto tradicional especialmente nas características de textura e cor.

VIEIRA *et al.* (1984) estudaram os parâmetros para fabricação de queijo minas frescal através da UF. Os resultados obtidos demonstraram a viabilidade de obtenção de queijos do tipo minas frescal com características organolépticas desejáveis e coagulados diretamente nas embalagens de comercialização com aumento de rendimento.

PATEL *et al.* (1986), ultrafiltrando o leite acidificado a pH 4,6 obtiveram queijo quarg sem sabor amargo e próximo ao produto tradicional. Segundo os autores, com o aumento do fator de concentração houve um aumento dos níveis de cinzas, cálcio e fósforo no concentrado, porém, esse efeito foi menor a pH 4,6.

VAN DENDER *et al.* (1987) realizaram estudos preliminares com objetivo de verificar a viabilidade tecnológica da produção de queijo prato pelo processo MMV. Os autores testaram o nível de diafiltração em retentados com fator de concentração 7:1 utilizando membrana mineral. Os resultados obtidos demonstraram a possibilidade de produção de queijos de massa semi-dura com características físico-químicas semelhantes as do queijo prato.

NEVES & DUCRET (1988) estudaram o emprego da UF na fabricação de requeijão cremoso. Os requeijões foram fabricados a partir de retentados diafiltrado e não diafiltrado obtidos através de uma unidade de UF ROMICON PM 50. Foram testados oito tratamentos para a transformação dos retentados em requeijão cremoso e os melhores resultados foram obtidos com o retentado diafiltrado com 37,2-38,1% de extrato seco total, 16,7-16,9% de proteína total, 17,5-18,5% de gordura, posteriormente padronizado com creme (49-72% de gordura), adicionados de 1,5% de sal fundente JOHA S9 e JOHA N e processado em equipamento Stephan VMM/SK-25 com pré-aquecimento com vapor indireto e aquecimento final a 90°C com injeção direta de vapor. O produto assim obtido foi considerado similar ao requeijão cremoso fabricado tradicionalmente.

RAO & RENNER (1989) compararam o queijo cheddar fabricado pelo método convencional com os fabricados a partir de retentados não aquecido ou aquecido a 76°C/5 min. Os autores observaram que a extensão da proteólise foi maior no queijo tradicional, seguido pelo queijo obtido com retentado não aquecido, sendo menor no queijo feito com retentado aquecido. O queijo feito com retentado não aquecido apresentou um leve sabor ácido e amargo enquanto o queijo preparado com o retentado aquecido recebeu a mesma pontuação que o Cheddar tradicional.

SACHDEVA & REUTER (1991) produziram chhana, um produto lácteo usado como base para fazer doce, a partir de retentado obtido por UF de leite integral pasteurizado e severamente aquecido. Os autores observaram um aumento de 16,4% no rendimento e avaliaram que o processo oferece possibilidade de automação e controle garantindo uniformidade de produção em larga escala.

Na fabricação de queijo minas frescal pelo processo MMV usando fermento láctico mesófilo acidificante VAN DENDER (1995) observou que a diafiltração é imprescindível por permitir regular o teor de lactose remanescente no retentado final. O processo permitiu um aumento médio de rendimento de 11,85%, a partir de uma quantidade fixa de leite, além de uma economia de aproximadamente 85% de coalho e 81% de fermento láctico em relação ao processo tradicional.

RIBEIRO (1996) estudou o processo de fabricação do queijo prato a partir de retentado obtido por UF do leite até fator de concentração 5:1. Segundo o autor, o produto obtido pré-acidificando 10% do retentado e incorporando este retentado fermentado ao restante do retentado no momento do processamento apresentou características de aroma, sabor, aparência e textura similares ao queijo prato obtido pelo processo tradicional, além de um rendimento 11,3% maior.

3.3. SORO E CONCENTRADO PROTÉICO DE SORO (CPS)

3.3.1. CARACTERÍSTICAS DO SORO

O soro é o produto resultante da fabricação de queijo e/ou caseína e contém aproximadamente 6% de sólidos dos quais 10 a 12% é proteína (HARPER, 1984). Na prática industrial o soro ácido é o subproduto obtido da

fabricação de caseinato e queijos por coagulação ácida e tem pH de 4,5 a 5,5 , enquanto o soro doce é obtido da fabricação de queijos ou caseína por coagulação enzimática e tem pH de 5,6 a 6,5 (HARPER & SEIBERLING, 1976).

No Brasil, a produção de soro é constituída quase que exclusivamente de soro doce, proveniente da fabricação de queijos de coagulação enzimática (minas frescal e meia-cura, prato, mussarela e outros), que são os mais comercializados no país. Já o soro ácido, originário da manufatura de queijos de coagulação ácida, de consumo mais reduzido (ricota, quarg, requeijão) e da fabricação de caseína, praticamente inexistente no país, pouco contribui no computo geral (VIOTTO, 1993).

O soro, que consiste de 50% dos sólidos iniciais do leite e mais de 85% do volume de leite inicial utilizado na fabricação de queijos, é de natureza perecível e não permite a estocagem por um tempo prolongado, sendo necessário encontrar um destino adequado aos consideráveis volumes de soro produzidos diariamente. Várias alternativas têm sido usadas pela indústria láctea: descarte em rios, esgotos e solo, alimentação animal, evaporação e secagem, desmineralização, extração e refino de lactose e ultrafiltração (VIOTTO, 1993).

Segundo MORR & HA (1993) estima-se que a produção mundial de soro proveniente da fabricação de queijos e de caseína é da ordem de 190 bilhões de libras, o que contém aproximadamente 1,3 bilhões de libras de proteínas do soro.

No Brasil, segundo o Ministério da Agricultura (1989) a produção de soro vem aumentando anualmente, como resultado do crescimento da indútria queijeira. Em 1986 a produção de soro foi de aproximadamente 1,72 milhões de toneladas e somente foi processado algo em torno de 0,01% desse volume. Embora dados atualizados e oficiais não estejam disponíveis, segundo a Associação Brasileira da Indústria de Queijos – ABIQ a produção de queijos no Brasil saltou de 280 mil toneladas em 1992 para 360 mil toneladas em 1995, com estimativa de produção de para 400 mil toneladas em 1996 (FERNANDES, 1996).

Segundo BIRD (1996), 45% do soro produzido na Europa entre 1991-19992 foi processado com destino à alimentação animal, 40% utilizado na fabricação de soro em pó, 12% na fabricação de CPS e 3% na produção de lactose.

O não aproveitamento do soro proveniente do crescimento da indústria queijeira traz como conseqüência o desperdício de uma grande quantidade de proteínas de alto valor nutricional além, de promover um grave problema de poluição ambiental se não sofrer tratamento adequado antes do descarte.

Segundo JELEN (1979) o soro apresenta, em média, uma variação na Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) na faixa de 35000 a 45000mg/L, constituíndo-se num dos resíduos mais poluentes da indústria de alimentos. Por outro lado, do ponto de vista nutricional suas proteínas são de qualidade excepcional, apesar de estarem presentes em pequenas quantidades. A qualidade nutricional de uma proteína depende do padrão e concentração de aminoácidos essenciais, que são aqueles que o organismo humano não consegue sintetizar (CHEFTEL *et al.*, 1989).

Para avaliar a qualidade protéica em alimentos usa-se normalmente a caseína como referência, em função de seu excelente valor nutricional. A caseína tem um coeficente de eficiência protéica (PER) de 2,5 e as proteínas do soro 3,4, superando a caseína. Isso se deve ao seu maior teor de aminoácidos sulfurados (DELANEY, 1976).

Como subproduto do processamento de queijos e caseína o soro é um produto complexo contendo numerosos componentes que quando extraídos e purificados tem um valor em termos reais, maior do que o soro líquido. O problema é que esses componentes existem em pequenas concentração na fase aquosa. Do total de sólidos, o componente presente em maior porcentagem é a lactose, entretanto, a maioria dos recentes trabalhos de interesse direto para a indústria láctea estão centrados em torno das proteínas do soro (BIRD, 1996).

Embora seja tecnicamente viável a recuperação da lactose por meio de cristalização ou secagem, o seu mercado é relativamente pequeno e estático, o que constitui um obstáculo à sua produção (SHET *et al.*, 1988)

As proteínas do soro constituem aproximadamente 20% do total de proteínas do leite e diferem da caseína em muitos aspectos: solubilidade no ponto isoelétrico, falta de caráter anfifílico, natureza globular, e suceptibilidade à desnaturação térmica. Diferente das frações de caseína, as proteínas do soro contém uma distribuição uniforme de aminoácidos ácidos e básicos ao longo da

cadeia peptídica. Esta característica e a menor quantidade de prolina permitem a conformação globular com substancial conteúdo helicoidal (MODLER, 1985).

A β-Lg apresenta a maior porcentagem do total das proteínas do soro e as características das proteínas do soro tem sido atribuídas predominantemente ao comportamento desta proteína (HARPER, 1984). Ela é uma proteína globular, com cinco variantes genéticas identificadas e seqüências completas de aminoácidos conhecidas. As variantes genéticas A e B diferem em dois resíduos de aminoácidos, Asp_{64} e Val_{118} na variante A são substituídas por Gly e Ala na β-Lg B, respectivamente. A β-Lg C e D tem substituições adicionais nos resíduos 59 (Gln → His) e 45 (Glu → Gln), respectivamente (WONG *et al.*, 1996).

A β-Lg nativa apresenta duas pontes dissulfídicas intramoleculares ligando os resíduos 66 ao 160 e os resíduos 106 ao 119 ou ao 121, além de um grupamento –SH nativo no resíduo 119 ou 121. Os resíduos de cisteína são de extrema importância para a formação de pontes dissulfídicas intermoleculares durante processamento a alta temperatura e estocagem (MORR & HA, 1993).

A β-Lg existe no leite como um dímero e sob certas condições de pH (entre 3,5 e 5,2) e força iônica, tende a formar octomero como espécie predominante. Em pH abaixo de 3,5 a β-Lg se dissocia em monômeros devido a repulsão eletrostática entre as subunidades. A pH 6,5 os dímeros começam a se dissociarem . A transição na conformação ocorre em pH próximo de 7,5, a qual é reversível e envolve apenas uma certa região da molécula. Ela é desnaturada pelo calor e no estado desnaturado é insolúvel no seu ponto isoelétrico, como é o caso da caseína (HARPER, 1984, WONG *et al.*, 1996).

A outra proteína mais abundante no soro é a α-La que tende a formar agregados sob condições ácidas. É formada por 123 aminoácidos, os quais formam uma estrutura globular compacta. Apresenta 4 pontes dissulfídicas ligando os resíduos 6 ao 120, 28 ao 111, 61 ao 77 e o 73 ao 91. Apresenta resíduos de lisina expostos a superfície como as proteínas globulares típicas. A α-La apresenta alta afinidade por cálcio e outros íons metálicos incluindo Zn(II), Mn(II), Cd(II), Cu(II) e Al(III). A ligação com cálcio é por pontes dissulfídicas Cys_{73} – Cys_{91} A α-La difere da β-Lg por ser um monômero com quatro ligações dissulfídicas e nenhum grupamento SH livre. A desnaturação da α-La é altamente

reversível quando comparada com outras proteínas e por essa razão ela parece ser mais termorresistente (HARPER, 1984; MODLER 1985; WONG *et al.*, 1996).

A presença dos grupos SH e dissulfito contribui para a interação dissulfito e formação de complexos entre as proteínas do soro quando submetidas a aquecimento bem como interações das proteínas do soro com a κ-caseína, a qual contém dois grupos SH. Grupos sulfidrila podem estar ativo no estado nativo, mas sob desnaturação protéica o polipeptídeo se abre e esses grupos são expostos e podem participar de interação dissulfito e, sob certas condições, pode formar gel protéico (MODLER, 1985).

3.3.2. CONCENTRADO PROTÉICO DE SORO (CPS): OBTENÇÃO E PROPRIEDADES FUNCIONAIS

O setor industrial empreendeu grande esforço nos últimos 30 anos para desenvolver processos em escala industrial para fabricação de CPS e isolado protéico de soro (IPS) altamente funcionais e adequados para uso como ingrediente em alimentos e alimentação animal. Estes produtos contêm de 35 a mais que 90% de proteína e são fabricados a partir de soros tipo doce e ácido (MORR & HA, 1993).

Diferentes métodos podem ser usados para fabricação de produtos protéicos de soro. Dentre estes podemos citar a precipitação ácida a quente, a precipitação química, a troca iônica e mais recentemente os processos com membranas, especialmente a ultrafiltração que provavelmente teve o maior impacto sobre a produção comercial de proteína (HARPER, 1984). Segundo DUXBURY (1992) os processos comerciais para produção de CPS incluem combinações de osmose reversa, precipitação com polifosfatos, eletrodiálise , ultrafiltração e filtração em gel.

Segundo MORR (1984) o procedimento para fabricação de CPS envolve as seguintes operações: pasteurização do soro fresco contendo cerca de 0,7% de proteína, concentração por UF até um fator de concentração volumétrico de 20-25, diafiltração contra um volume maior ou igual a três volumes de água, concentração por evaporação a vácuo (opcional) e secagem em *spray dryer*.

As variações na composição e funcionalidade desses produtos são devidas as diferenças na composição do leite e nas condições de processamento usadas para fabricação dos queijos e dos CPS. Exemplos de variações no processamento de queijos incluem: tempo e temperatura de pasteurização do leite, adição de $CaCl_2$ para aumentar o rendimento, uso de cultura láctica, tipo e concentração do coagulante, corte do coágulo, cozimento da massa e drenagem do soro, pH e temperatura. Pré-tratamento do soro para remover lípides residuais e condições de processamento usadas para a ultrafiltração e diafiltração do soro e condições de secagem do retentado também influenciam a composição e as propriedades funcionais dos CPS resultantes (MORR & HA, 1993).

Segundo VIOTTO (1993), apesar dos inúmeros pré-tratamentos propostos e desenvolvidos para a remoção de lípides e minerais do soro de queijo antes da UF, em geral, a indústria pouco os tem adotado, provavelmente em virtude do aumento do número de operações unitárias e conseqüente aumento no custo final do CPS. Porém, quando realizada de forma cuidadosa e apropriada , além da melhora no desempenho da UF, os pré-tratamentos oferecem um meio de se controlar a composição e o processamento do soro e, conseqüentemente, a composição e as propriedades do CPS.

O uso de qualquer proteína alimentar é dependente de diversos fatores tais como: custo, funcionalidade específica, consistência , disponibilidade de proteína alternativa, vida-de-prateleira, sabor e cor do produto e do valor nutritivo. Muito poucas proteínas exibem múltipla funcionalidade e as proteínas do soro não são exceção. Embora os CPS sejam altamente solúveis e apresentem boa geleificação, emulsificação e propriedades de formação de espuma, o grau no qual elas exibem estas propriedades variam com o tipo de soro e com o procedimento utilizado para sua obtenção (HARPER, 1984).

Por exemplo, MANGINO *et al.* (1988) observaram que o tratamento térmico do soro a 72°C/15 segundos antes da UF diminuiu a hidrofobicidade do retentado afetando negativamente a funcionalidade do CPS, entretanto, a 64°C isto não ocorreu.

BRESLAU *et al.* (1975), citado por MORR & HA (1993), mostraram que a UF a pH 3 aumenta sensivelmente o fluxo de permeado e acentua a

desmineralização do retentado. O menor conteúdo de Ca^{+2} do CPS tem sido relacionado a maior capacidade de gelificação do produto.

VIOTTO (1993) observou que o uso combinado de clarificação, tratamento térmico e ajuste de pH modificou a composição do soro e a solubilidade da proteína, sendo que o tratamento térmico foi a etapa que mais afetou negativamente a solubilidade da proteína, principalmente quando o pH de aquecimento foi cerca de 5,6 e o CPS apresentou alta concentração de proteína.

VAGHELLA & KILARA (1996) observaram que a capacidade de formar espuma e a estabilidade da emulsão não foram afetadas quando do pré-tratamento do soro com CaCl2 e aquecimento antes da UF, porém, a estabilidade da espuma aumentou e a capacidade emulsificante diminuiu devido este tipo de tratamento.

A maior parte do CPS com 35 a 55% de proteína é usado para fabricação de produtos destinados a alimentação animal. Por outro lado, CPS contendo mais do que 70% de proteínas são extensivamente usados como ingrediente funcional e nutricional em produtos médicos e farmacêuticos e em produtos para alimentação humana (HARPER, 1984).

Propriedades funcionais das proteínas são aquelas propriedades físico-químicas que governam o desempenho e o comportamento das proteínas em um sistema alimentício durante a preparação, processamento, estocagem e consumo, isto é, propriedades que afetam a qualidade final atribuída ao alimento. As diferentes proteínas variam em sua composição e propriedades e, portanto, apresentam comportamentos funcionais diferentes: por exemplo, caseínas têm ótima capacidade de emulsificação, mas praticamente não formam gel, enquanto as proteínas do soro têm limitada capacidade emulsificante, mas possuem boa propriedade de gelificação (KINSELLA & WHITEHEAD, 1989).

Segundo MORR & HA (1993) é difícil relatar e comparar todas as propriedades funcionais dos CPS investigadas em diferentes estudos porque diferentes fontes de soro foram utilizadas e há uma grande variabilidade nas condições dos processos empregados para a obtenção destes produtos. Além disso, os métodos para avaliação dessas propriedades não estão totalmente padronizados, o que resulta em informações incompletas, contraditórias e

confusas na literatura disponível. As principais propriedades físico-químicas e funcionais das proteínas alimentares são apresentadas na Tabela 3.3.

Tabela 3.3. Propriedades físico-químicas e funcionais do concentrado protéico de soro (CPS) e isolado protéico de soro (IPS).

Propriedades químicas e físico-químicas	**Propriedades funcionais**
Hidratação e solvatação	• Molhabilidade do CPS e IPS • Retenção e ligação de água • Viscosidade • Coagulação e gelificação induzida pelo calor
Dispersão e dissociação	• Dispersabilidade do CPS e IPS • Solubilidade
Desdobramento e desnaturação molecular	• Solubilidade • Viscosidade • Coagulação e gelificação induzida pelo calor • Formação de espuma • Emulsificação
Difusão	• Coagulação e gelificação induzida pelo calor • Formação de espuma • Emulsificação
Adsorção e atividade interfacial	• Emulsificação • Formação de espuma
Interação proteína-proteína, polimerização, viscosidade e agregação	• Coagulação e gelificação induzida pelo calor • Solubilidade relacionada ao pH • Turbidez • Texturização
Interação proteína-carboidrato Substância ligante	• Reação de Maillard, escurecimento não enzimático • Ligações de compostos *off-favor* • Ligações de pigmentos e reações de escurecimento

MORR & HA (1993)

A maioria das propriedades funcionais das proteínas podem ser classificadas em dois grupos principais: as relacionadas com hidratação ou com a superfície molecular. Propriedades relacionadas com hidratação incluem dispersibilidade, solubilidade, capacidade de retenção de água, viscosidade e gelificação. Propriedades relacionadas com a superfície molecular incluem emulsificação, formação de espuma e adsorção na interface ar/água e óleo/água. Outras propriedades funcionais que não dessas duas categorias incluem difusão, desdobramento molecular (desnaturação), e ligação proteína-proteína, proteína-íon, proteína-ligante (MORR & HA, 1993).

As proteínas dos alimentos normalmente exercem propriedades funcionais interdependentes simultaneamente em cada aplicação nos alimentos. A capacidade da proteína para cada uma destas propriedades funcionais é dependente de vários fatores tais como: pH; força iônica; concentração de íons Ca^{++} e outros íons polivalentes; açúcares, proteínas e hidrocolóides; temperatura e viscosidade. Aquelas propriedades funcionais que são devido as interações proteína-água dependem basicamente da conformação molecular da proteína e do meio físico e químico, isto é, pH, tipo e concentração do soluto iônico e temperatura (MORR & HA, 1993).

As proteínas dos alimentos normalmente exercem propriedades funcionais interdependentes simultaneamente em cada aplicação nos alimentos. A capacidade da proteína para cada uma destas propriedades funcionais é dependente de vários fatores tais como: pH; força iônica; concentração de íons Ca^{++} e outros íons polivalentes; açúcares, proteínas e hidrocolóides; temperatura e viscosidade. Aquelas propriedades funcionais que são devido as interações proteína-água dependem basicamente da conformação molecular da proteína e do meio físico e químico, isto é, pH, tipo e concentração do soluto iônico e temperatura (MORR & HA, 1993).

3.3.3. APLICAÇÃO DE CPS NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS

Para um ingrediente protéico ser usado em formulações alimentícias ele deve ser livre de fatores tóxicos e antinutricionais; livres de "off flavor" e cor; ter alta concentração protéica; ser compatível com os demais ingredientes e processamento; ter qualidade nutricional, funcionalidade protéica, disponibilidade

e baixo custo. Os CPS são essencialmente livres de fatores tóxicos e antinutricionais, porém possuem níveis variáveis de "off flavor" e cor, possivelmente derivados da reação de Maillard e deterioração do lípide residual durante a estocagem (MORR, 1979).

As proteínas podem ser adicionadas como ingredientes funcionais em alimentos para atuar como agente emulsificante, ligando-se a água e gordura, para formar espumas ou géis e contribuir de forma favorável para sabor, aparência e textura. O tipo de proteína e sua estrutura é que determinam suas propriedades funcionais (GIESE, 1994).

A maioria das outras propriedades funcionais são dependentes da solubilidade. Proteínas altamente solúveis podem ser necessárias em aplicações nas quais emulsificação, "whipping", e formação de filmes são importantes, entretanto, baixa solubilidade pode ser desejável em aplicações nas quais alto nível protéico e limitada emulsificação e interações proteína-proteína são necessárias (KOLAR *et al.*, 1985 citado por GIESE, 1994).

A capacidade da proteína de agir na interface óleo e água e de formar uma emulsão estável é uma característica importante em produtos tais como molhos para salada e salsicha (GIESE, 1994). Esta habilidade da proteína de se desdobrar e se orientar na interface óleo/água é dependente de tratamentos prévios. Os tratamentos que promovem a desnaturação e agregação são prejudiciais a habilidade protéica de agir como um emulsificante (MORR, 1979).

A habilidade da proteína de formar gel é uma característica desejável em produtos como gelatina e iogurte. A matriz de gel formada auxilia na retenção de água, gordura e outros ingredientes na fabricação desses produtos (MORR, 1979).

A aplicação dos concentrados protéicos de soro na indústria de alimentos é hoje uma realidade. Sua aplicação nos diversos produtos tais como leite maternizados, queijos, produtos fermentados, sorvetes, sobremesas congeladas, produtos cárneos, produtos de panificação e confeitaria, bebidas etc., tem o objetivo de atender as mais variadas necessidades nutricionais e funcionais destes produtos (GUPTA & THAPA, 1991). Quando as proteínas são usadas como suplemento nutricional, estas são adicionadas para otimizar o perfil de aminoácidos e aumentar o conteúdo protéico (GIESE, 1995).

Nos EUA, o setor de laticínios é responsável pela compra de mais de 40% do total de CPS produzido no país. O emprego do CPS na indústria de laticínios envolve sua adição em diversos queijos fundidos, bebidas lácteas aromatizadas a achocolatadas, sorvetes com teor de gordura reduzido ou sem gordura, iogurte batido, *frozen yogurt*, bebida láctea a base de iogurte, creme ácido sem gordura e cremes para café (MANUAL, 1997).

BALDWIN *et al.* (1986) avaliaram a influência da adição de CPS contendo 35 e 55% de proteína na qualidade e rendimento de queijo cheddar. A adição do CPS aumentou o rendimento de 1,4 a 6,2%. O aumento de rendimento significativo ($p \leq 0,05$) foi obtido com CPS contendo 55% de proteína. A avaliação organoléptica indicou a presença de um sabor atípico, não definido.

GUPTA & REUTER (1992) estudaram a fabricação de queijos fundidos substituindo 20% dos sólidos dos queijos utilizados no processamento por CPS obtido por UF. Os autores testaram diferentes sais emulsificantes (uma combinação de citrato trissódico e fosfato dissódico e citrato trissódico sozinho) e observaram que somente o uso de citrato trissódico produziu uma textura suave no produto. O queijo fundido com 2,5-3,0% de citrato trissódico foram considerados por um painel de julgadores, muito melhor em consistência, aparência e aceitabilidade geral do que com 1,5 e 2,0% de citrato trissódico. O sabor do produto com 2,5% de citrato trissódico foi considerado melhor. Os autores observaram que com 1,5 e 2,0% de citrato trissódico o produto foi mais arenoso.

Segundo CONDACK (1993) o requeijão cremoso é o produto no qual a incorporação de proteínas do soro parece ser mais viável que na maioria dos outros queijos. Este autor avaliou sensorialmente três formulações de requeijão: obtido pelo processo tradicional (controle) e obtidos com substituição de 5 e 10% da caseína da massa por CPS obtido por UF de soro de queijo prato (Fc = 12). Em todas as formulações utilizou-se sais emulsificante JOHA S9 e K. A análise sensorial indicou haver diferença significativa a nível de 1% de significância entre os produtos. A diferença detectada pelos provadores foi em relação a consistência; os requeijões com proteína substituída apresentaram menor elasticidade e um corpo mais firme. Todas as formulações apresentaram ótima aceitabilidade. A análise de variância dos resultados indicou não haver diferença significativa entre a aceitação dos requeijões a 1% de significância.

GUPTA & REUTER (1993) avaliaram a firmeza e a qualidade de derretimento de queijos fundidos fabricados com a adição de CPS obtidos por UF de soro de queijo tilsit em substituição ao queijo cheddar jovem no processo, usando citrato trissódico como sal emulsificante. Os autores observaram que um aumento na quantidade de CPS e citrato trissódico melhorou significativamente ($p < 0,01$) a firmeza do produto, porém apresentou um efeito contrário ($p < 0,01$) na qualidade de derretimento do queijo fundido.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. MATERIAIS

4.1.1. EQUIPAMENTOS

- Tanque pasteurizador INADAL, modelo MIX-COMPLET 100, com capacidade para 100 litros dotado de agitador e sistemas de aquecimento e resfriamento.
- Unidade piloto de ultrafiltração Alfa-Laval UFS – 1 adaptada para uso de membrana mineral de óxido de zircônio com suporte de carbono grafite, com área de 0,8m^2 e peso molecular médio de corte de 20.000 daltons.
- Máquina homogeneizadora-trituradora STEPHAN-GEIGER, modelo UM 12, com capacidade para 8kg, munida de duas velocidades de agitação, aquecimento por injeção direta e indireta de vapor e filtro para produção de vapor sanitário.
- Recravadeira de copos de pedal, Metalgráfica Rojek, série P, número 376/A.

4.1.2. MATÉRIAS-PRIMAS

4.1.2.1. LEITE

O leite destinado aos processamentos foi adquirido na Cooperativa Agropecuária Tuiuti Ltda – Sheffa. Adquiriu-se leite integral pasteurizado (72°C/15 segundos), não homogeneizado, resfriado a 5°C e acondicionado e transportado a granel em latões de 50 litros.

4.1.2.2. CREME DE LEITE

O creme de leite utilizado foi adquirido na Cooperativa Campineira de Produtores de Leite – Jaguariúna e possuía, em média, 65% de gordura. Foi adquirido cru, transportado em sacos plástico de 10 litros, no dia anterior ao processo de fusão. Foi pasteurizado (85°C/5minutos), resfriado a 5°C e armazenado em câmara fria à temperatura de aproximadamente 5°C até o momento de seu uso.

4.1.2.3. COADJUVANTES TECNOLÓGICOS

- Ácido láctico: de padrão alimentar, com 85% de pureza, da marca Ecibra.
- Cloreto de sódio: comercial da marca Cisne, procedente da Refinaria Nacional de Sal S/A.
- Concentrado protéico de soro (CPS): nome comercial Alacen131, fornecido pela New Zealand Milk Products (Brasil).
- Sal emulsificante: foram utilizados dois sais emulsificantes à base de polifosfatos de sódio (JOHA S9 e JOHA S10) fornecidos pela Hoeschst do Brasil.

4.2. MÉTODOS

Foram realizados 2 processamentos com uma repetição cada um. As variáveis estudadas foram:

- pH de ultrafiltração: dois níveis de variação, pH 5,7 e 5,2.
- Adição de CPS: três níveis de variação. Sem adição de CPS, com adição de CPS de forma a aumentar a relação proteínas do soro/caseína (PS/CAS) em 50% e com adição de CPS de forma a aumentar a relação proteínas do soro/caseína (PS/CAS) em 100%
- Tipo de sal emulsificante: dois tipos, JOHA S9 e JOHA S10.

A Tabela 4.1 apresenta as siglas de identificação utilizadas neste trabalho. A letra P identifica processamento, seguida do numero do processamento, na ordem cronológica de realização (P1, P2, P3 e P4). Os processamentos P1 e P4 e os processamentos P2 e P3 foram repetições das mesmas condições de pH de UF (pH 5,7 nos processamentos P1 e P4 e pH 5,2 nos processamentos P2 e P3). A letra F identifica formulação (F1, F2 e F3). F1 refere-se aos produtos que foram fabricados sem a adição de CPS. F2 e F3 referem-se aos produtos que foram fabricados com adição de CPS de forma a aumentar a relação proteínas do soro/caseína (PS/CAS) em 50 e 100%, respectivamente. As identificações S9 e S10 referem-se ao tipo de sal emulsificante que foi utilizado, JOHA S9 ou JOHA S10.

Tabela 4.1. Descrição das siglas de identificação utilizadas nesse estudo.

Processamento	pH do leite Antes da UF	Sal fundente JOHA S9			Sal fundente JOHA S10		
		Formulação 1*	Formulação 2**	Formulação 3***	Formulação 1*	Formulação 2**	Formulação 3***
1	5,7	P1F1S9	P1F2S9	P1F3S9	P1F1S10	P1F2S10	P1F3S10
2	5,2	P2F1S9	P2F2S9	P2F3S9	P2F1S10	P2F2S10	P2F3S10
3	5,2	P3F1S9	P3F2S9	P3F3S9	P3F1S10	P3F2S10	P3F3S10
4	5,7	P4F1S9	P4F2S9	P4F3S9	P4F1S10	P4F2S10	P4F3S10

* Sem adição de CPS.

** Com adição de CPS de forma a aumentar a relação PS/CAS em 50%.

*** Com adição de CPS de forma a aumentar a relação PS/CAS em 100%.

A Figura 4.1 apresenta o fluxograma geral de processo para obtenção do retentado utilizado na fabricação dos requeijões cremosos, cujas etapas são descritas a seguir.

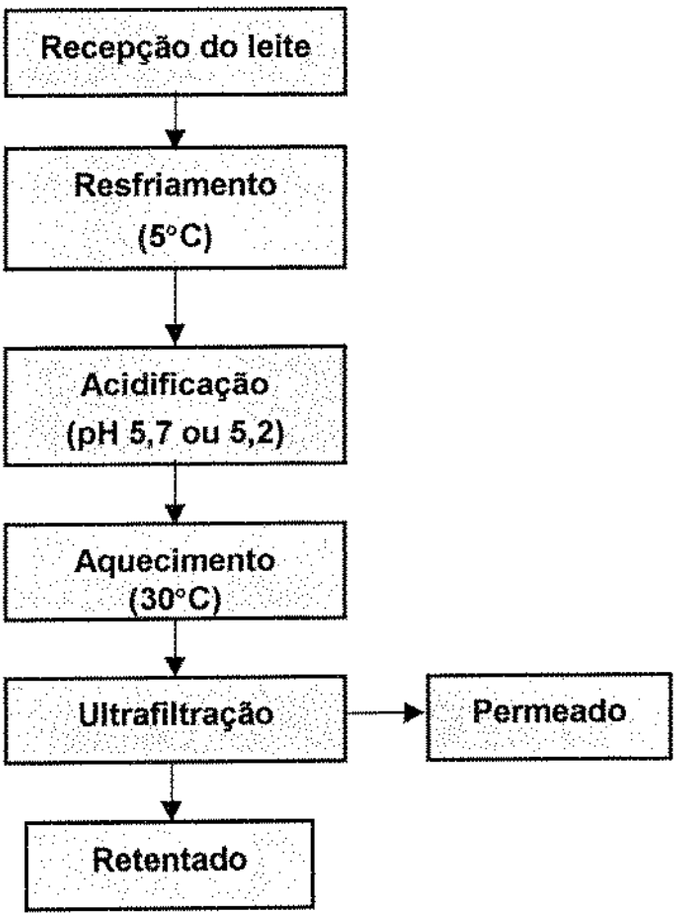

Figura 4.1. Fluxograma do processo de obtenção do retentado

4.2.1. RECEPÇÃO DO LEITE

Após a chegada do leite efetuou-se a pesagem dos latões, que foram devidamente homogeneizados utilizando-se um agitador de aço inoxidável de placa perfurada visando a obtenção de uma amostra homogênea para posterior análises. Em seguida o leite foi transferido para o tanque pasteurizador com capacidade para aproximadamente 100 litros.

4.2.2. PROCESSO DE ACIDIFICAÇÃO

Com o leite no tanque pasteurizador iniciou-se seu resfriamento até 5°C. Nesta temperatura, sob contínua agitação, procedeu-se a acidificação por meio da adição de solução de ácido láctico a 5%. A quantidade de ácido adicionada foi

determinada com base em um teste preliminar, realizado com uma amostra de 500mL do leite utilizado em cada processamento, e no pH desejado: 5,7 nos processamentos P1 e P 4 ou 5,2 nos processamentos P2 e P3.

O leite acidificado foi então aquecido a 30°C para se iniciar o processo de ultrafiltração. Quando da acidificação do leite a pH 5,7 o aquecimento iniciava-se imediatamente após a acidificação. No caso do pH 5,2 a acidificação foi feita no dia anterior à ultrafiltração. Nesta situação o leite foi mantido no tanque pasteurizador com temperatura controlada e variando entre 5 e 10°C.

Este procedimento foi adotado porque em experimentos exploratórios foi observado que o tempo de ultrafiltração necessário para a obtenção do fator de concentração desejado foi maior quando do uso do pH 5,2. Isto inviabilizava a realização de todas as etapas do processo em um único dia.

4.2.3. PROCESSO DE ULTRAFILTRAÇÃO

O processo de ultrafiltração do leite acidificado a diferentes pH foi realizado em uma unidade piloto de ultrafiltração Alfa-laval, adaptada e munida de membrana mineral de óxido de zircônio com suporte de carbono grafite, com área de 0,8m^2 e peso molecular médio de corte de 20.000 daltons, apresentada na Figura 4.2.

A temperatura foi mantida durante todo o processo entre 30-35°C com circulação de água gelada na camisa do tubo de circulação do retentado e com auxílio do tanque pasteurizador, cujo sistema de refrigeração foi ligado ou desligado conforme a variação da temperatura. A pressão média do processo foi de 1,95kgf/cm^2. O fator de concentração obtido foi de aproximadamente 5, determinado através da redução de volume obtido durante o processo de UF, controlado pela quantidade de permeado retirado.

Após se atingir a concentração desejada o processo foi interrompido, o retentado foi recolhido e iniciou-se imediatamente o seu resfriamento até atingir aproximadamente 8°C. Em seguida o retentado foi armazenado em câmara fria à temperatura de aproximadamente 5°C até o momento de sua utilização.

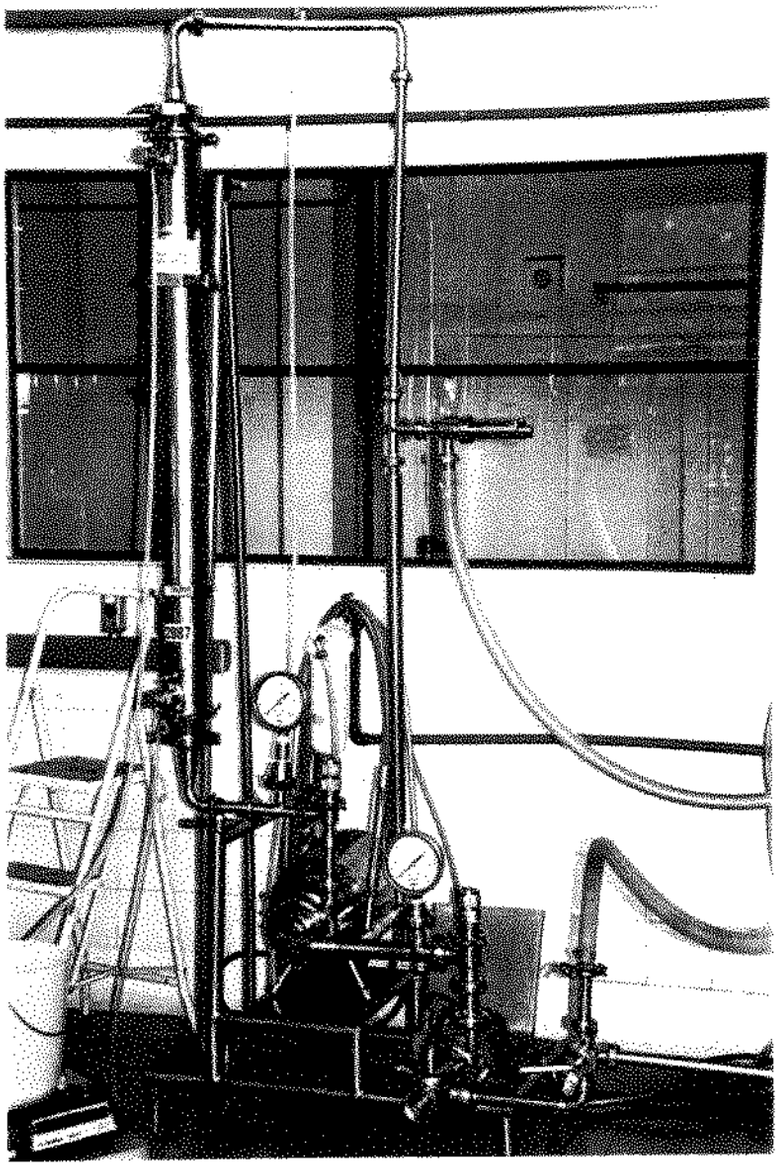

Figura 4.2. Unidade piloto de ultrafiltração.

Ao término de cada processamento foi realizado processo de limpeza e sanitização da membrana de acordo com procedimento descrito por PERES (1997).

4.2.4. PROCESSO DE FABRICAÇÃO DO REQUEIJÃO CREMOSO

Em cada processamento, partindo-se do retentado obtido após ultrafiltração do leite pré-acidificado, foram realizados seis processos para obtenção de requeijão cremoso. O retentado foi dividido em três partes, Formulação 1 (F1), Formulação 2 (F2) e Formulação 3 (F3), conforme apresentado na Figura 4.3.

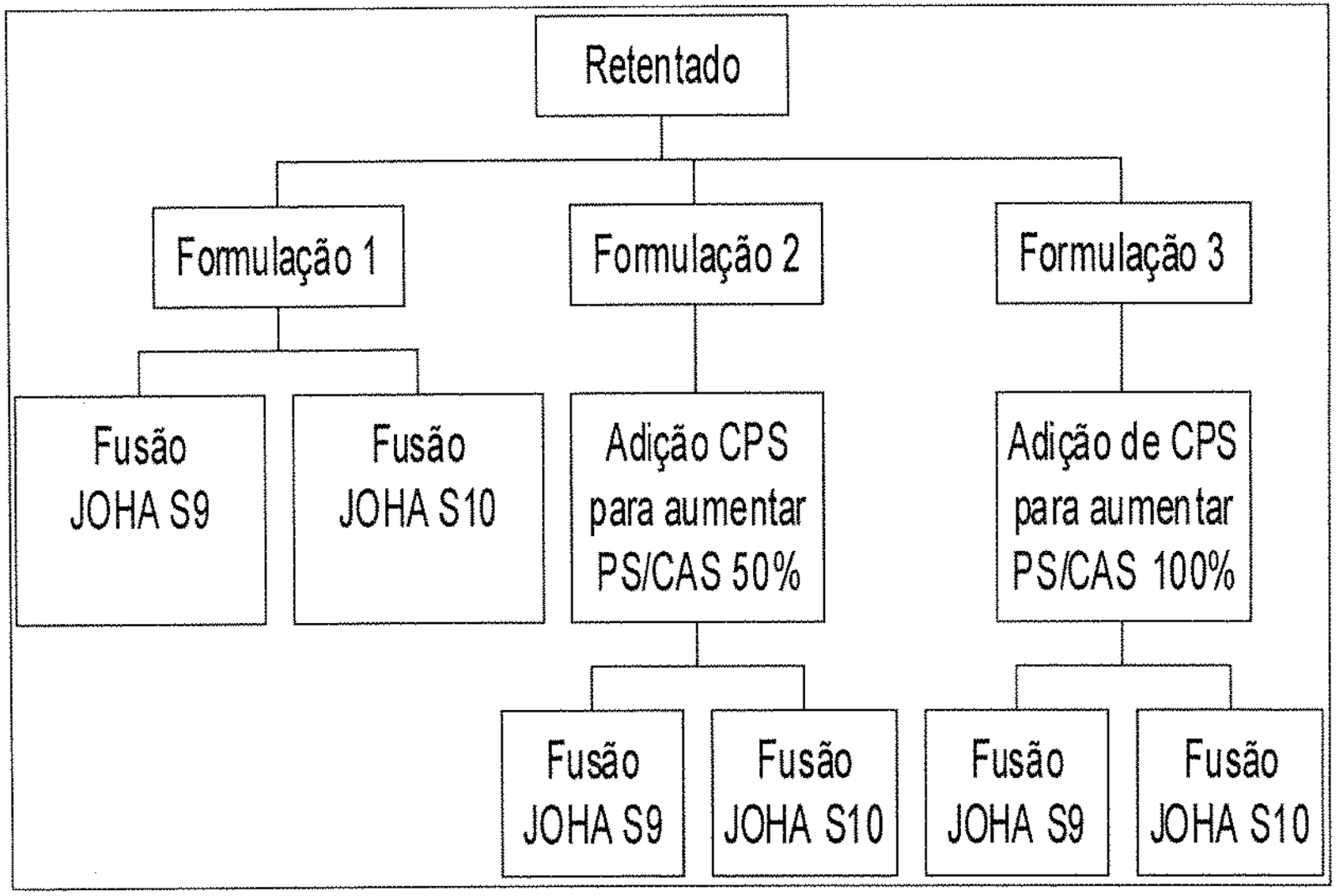

Figura 4.3. Esquema de utilização do retentado para fabricação de requeijão.

A primeira parte (F1) foi dividida em outras duas que, depois de padronizadas para o teor de gordura no extrato seco (GES) e extrato seco total (EST) desejados, foram fundidas utilizando-se sal emulsificante JOHA S9 ou S10.

As outras duas partes (F2 e F3) foram adicionadas de concentrado protéico de soro (CPS) em quantidade suficiente para aumentar a relação proteína de soro/caseína (PS/CAS) em 50 e 100%, respectivamente. Em seguida foram padronizadas para o teor de GES e EST desejados e fundidas utilizando-se sal emulsificante JOHA S9 ou S10.

4.2.4.1 CÁLCULO DAS FORMULAÇÕES

Os cálculos das formulações basearam-se nas características de extrato seco total, gordura e proteína do retentado e do CPS, bem como nas características desejáveis no produto final. A quantidade de condensado incorporado ao produto foi experimentalmente avaliada por diferença, operando-se o equipamento de fusão, com uma quantidade de água conhecida, nas mesmas condições utilizadas para os processamentos e efetuando-se posteriormente a pesagem da quantidade obtida.

Para melhor compreensão apresenta-se, a seguir, os cálculos efetuados para o processamento P2.

Considerar:

- As formulações foram adicionadas de 1,5% de sal emulsificamte (JOHA S9 ou JOHA S10) e 1,5% de NaCl sobre o peso de retentado;
- Adicionou-se creme de leite com teor de gordura conhecido para padronização do produto para 60% de gordura no extrato seco;
- Os requeijões foram padronizados para 35% de EST.

Retentado:	EST	33,41%
	Gordura	16,00%
	Caseína (CAS)	10,92%
	Proteínas do soro (PS)	1,69%
	PS/CAS	0,15

CPS: EST 95,61%
Gordura 7,73%
Proteínas do soro (PS) 78,28%

Quantidade de retentado utilizado: 2,00kg

FORMULAÇÃO 1 (F1)

Cálculo da quantidade de extrato seco total, gordura , caseína e proteínas do soro fornecida pelo retentado, sal emulsificante e NaCl:

Retentado:

100kg de retentado ———— 33,41kg de EST
2,00kg de retentado ———— x = 0,6682kg de EST

100kg de retentado ———— 16,00kg de gordura
2,00kg de retentado ———— x = 0,32kg de gordura

100kg de retentado ———— 10,92kg de caseína
2,00kg de retentado ———— x = 0,2184kg de caseína

100kg de retentado ———— 1,69kg de proteínas do soro
2,00kg de retentado ———— x = 0,0338kg de proteínas do soro

Sal emulsificante (JOHA S9 ou JOHA S10):

- 1,5% sobre o peso de retentado = 0,03kg

NaCl:

- 1,5% sobre o peso de retentado = 0,03kg

Portanto temos:

Composição	Peso (kg)	EST (kg)	Gordura (kg)	Caseína (kg)	Proteínas do soro (kg)
Retent, ado	2,0000	0,6682	0,3200	0,2184	0,0338
Sal emulsificante	0,0300	0,0300			
NaCl	0,0300	0,0300			
Total		**0,7282**	**0,3200**		

Cálculo da quantidade de creme adicionado:

- Creme: 63% de gordura

- Considerou-se o teor de gordura do creme igual ao extrato seco do creme
- Produto com 60% de GES

Temos:

$$GES = \frac{Gf + Gc}{ESf + ESc} \times 100$$

Onde: GES = gordura no extrato seco do requeijão
Gf = gordura da formulação (retentado)
Gc = gordura do creme
ESf = extrato seco da formulação
ESc = extrato seco do creme (= Gc)

Portanto:

$$60 = \frac{0{,}3200 + Gs}{0{,}7282 + Gc} \times 100 \Rightarrow Gs = 0{,}2923kg$$

Para um creme com 63% de gordura temos:

100kg de creme ---------- 63kg de gordura
x kg de creme ---------- 0,2923kg de gordura

x = 0,4640kg de creme com 63% de gordura

Portanto temos:

Composição	Peso (kg)	EST (kg)
Retentado	2,0000	0,6682
Sal emulsificante	0,0300	0,0300
NaCl	0,0300	0,0300
creme	0,4640	0,2923
Total	**2,5240**	**1,0205**

Cálculo da quantidade de água:

Para um produto com 35% de EST, temos:

1,0205kg de EST 35%
x 100%

x = 2,9157kg do produto, dos quais já temos 2,5240kg. Portanto:

Quantidade de água a adicionar = 2,9157 - 2,5240 = 0,3917kg de água.

Considerando que durante o processamento o condensado incorporado ao produto foi 0,380kg, temos:

Quantidade de água necessária = 0,3917 - 0,380 = 0,0117kg

Portanto, a composição da Formulação 1 (F1) foi:

Retentado	2,00kg
Sal emulsificante (JOHA S9 ou JOHA S10)	30,00g
NaCl	30,00g
Creme (63% de gordura)	464,00g
Água	11,70g

FORMULAÇÃO 2 (F2)

Para essa formulação calculou-se a quantidade de CPS a ser adicionada de forma a aumentar em 50% a relação PS/CAS. Neste exemplo de 0,15 para 0,23.

No exemplo temos:

Composição	Peso (kg)	EST (kg)	Gordura (kg)	Caseína (kg)	Proteínas do soro (kg)
Retentado	2,0000	0,6682	0,3200	0,2184	0,0338
Sal emulsificante	0,0300	0,0300			
NaCl	0,0300	0,0300			
Total		**0,7282**	**0,3200**		

Portanto, adicionar 0,0169kg de proteína de soro (50% de 0,0338kg).

Cálculo da quantidade de CPS a adicionar:

100kg de CPS ---------- 78,26kg de proteínas do soro
x kg de CPS ---------- 0,0169kg de proteínas de soro

x = 0,0216kg de CPS

Portanto temos:

Composição	Peso (kg)	EST (kg)	Gordura (kg)	Caseína (kg)	Proteínas do soro (kg)
Retentado	2,0000	0,6682	0,3200	0,2184	0,0338
Sal emulsificante	0,0300	0,0300			
NaCl	0,0300	0,0300			
CPS	0,0216	0,0206	0,0017		0,0169
Total		**0,7488**	**0,3217**		**0,0507**

Desta forma temos:

PS/CAS = 0,0507/0,2184 = 0,23

Da mesma forma que para a formulação 1 calculou-se a partir daí a quantidade de creme de leite e água a serem adicionadas.

Portanto, a composição da Formulação 2 (F2) foi:

Retentado	2,00kg
Sal emulsificante (JOHA S9 ou JOHA S10)	30,00g
NaCl	30,00g
Creme (63% de gordura)	506,50g
CPS	21,50g
Água	83,17g

FORMULAÇÃO 3 (F3)

Da mesma forma que para a formulação 2 calculou-se a quantidade de CPS a ser adicionada de forma a aumentar em 100% a relação PS/CAS. Neste caso de 0,15 para 0,30.

No exemplo temos:

Composição	Peso (kg)	ES (kg)	Gordura (kg)	Caseína (kg)	Proteínas do soro (kg)
Retentado	2,0000	0,6682	0,3200	0,2184	0,0338
Sal emulsificante	0,0300	0,0300			
NaCl	0,0300	0,0300			
Total		**0,7282**	**0,3200**		

Portanto, deve-se adicionar 0,0338kg de proteína de soro.

Cálculo da quantidade de CPS a adicionar:

100kg de CPS ---------- 78,26kg de proteínas do soro
x kg de CPS ---------- 0,0338kg de proteínas de soro

x = 0,0432kg de CPS

Portanto temos:

Composição	Peso (kg)	ES (kg)	Gordura (kg)	Caseína (kg)	Proteínas do soro (kg)
Retentado	2,0000	0,6682	0,3200	0,2184	0,0338
Sal emulsificante	0,0300	0,0300			
NaCl	0,0300	0,0300			
CPS	0,0432	0,0413	0,0033		0,3338
Total		**0,7615**	**0,3233**		**0,0676**

Desta forma temos:

PS/CAS = 0,0676/0,2124 = 0,30

Da mesma forma que para as formulação 1 e 2 calculou-se a partir daí a quantidade de creme de leite e água a serem adicionadas.

Portanto, a composição da Formulação 3 (F3) foi:

Retentado	2,00kg
Sal emulsificante (JOHA S9 ou JOHA S10)	30,00g
NaCl	30,00g
Creme (63% de gordura)	549,04g
CPS	43,19g
Água	154,59g

4.2.4.2. PROCESSO DE FUSÃO

O processo de fusão das diferentes formulações para obtenção dos requeijões foi realizado em uma máquina homogeneizadora-trituradora STEPHAN-GEIGER, UM12, com capacidade para 8kg de produto, com duas velocidades de agitação (1500rpm e 3000rpm), aquecimento por injeção direta e indireta de vapor e filtro para produção de vapor sanitário apresentada na Figura 4.4.

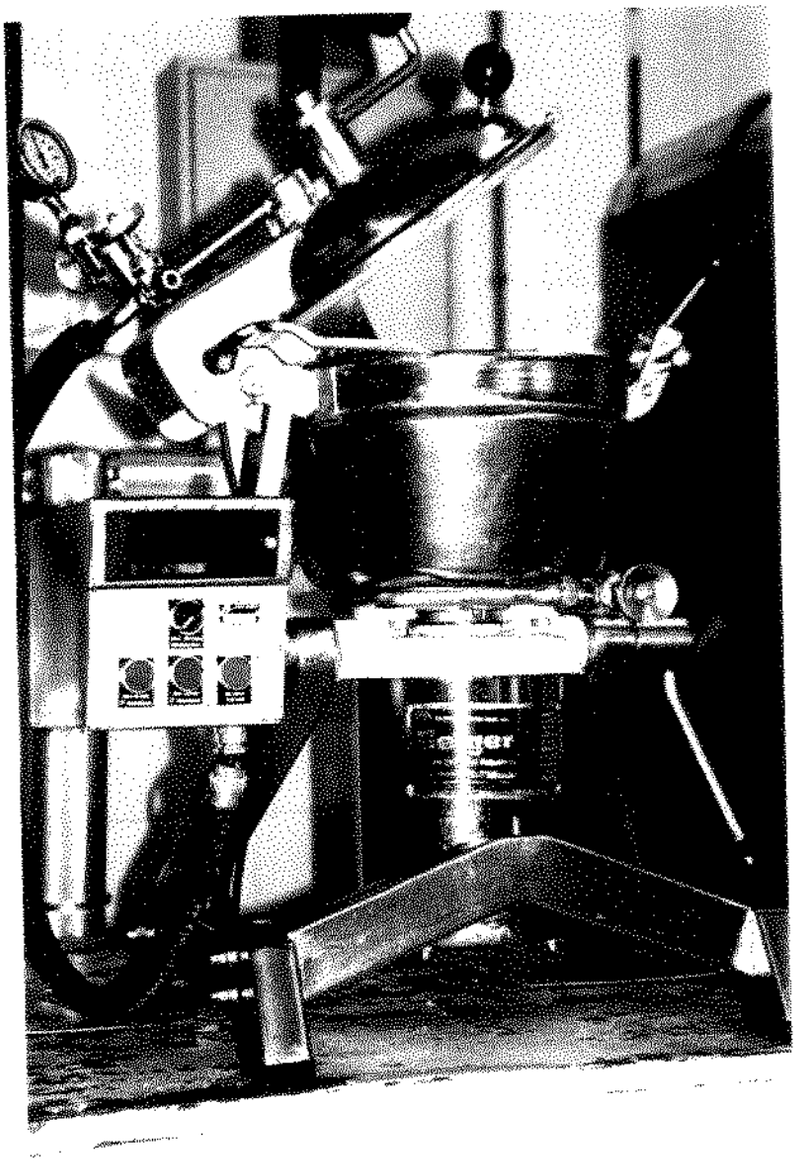

Figura 4.4. Máquina homogeneizadora trituradora STEPHAN-GEIGER, modelo UM 12.

A Figura 4.5 apresenta o fluxograma do processo de fabricação dos requeijões. De acordo com este fluxograma o retentado foi transferido para a máquina homogeneizadora-trituradora e em seguida foram adicionados os demais ingredientes: cloreto de sódio, sal fundente (JOHA S9 ou JOHA S10), creme de leite, concentrado protéico de soro (Formulações F2 e F3) e água quando necessário.

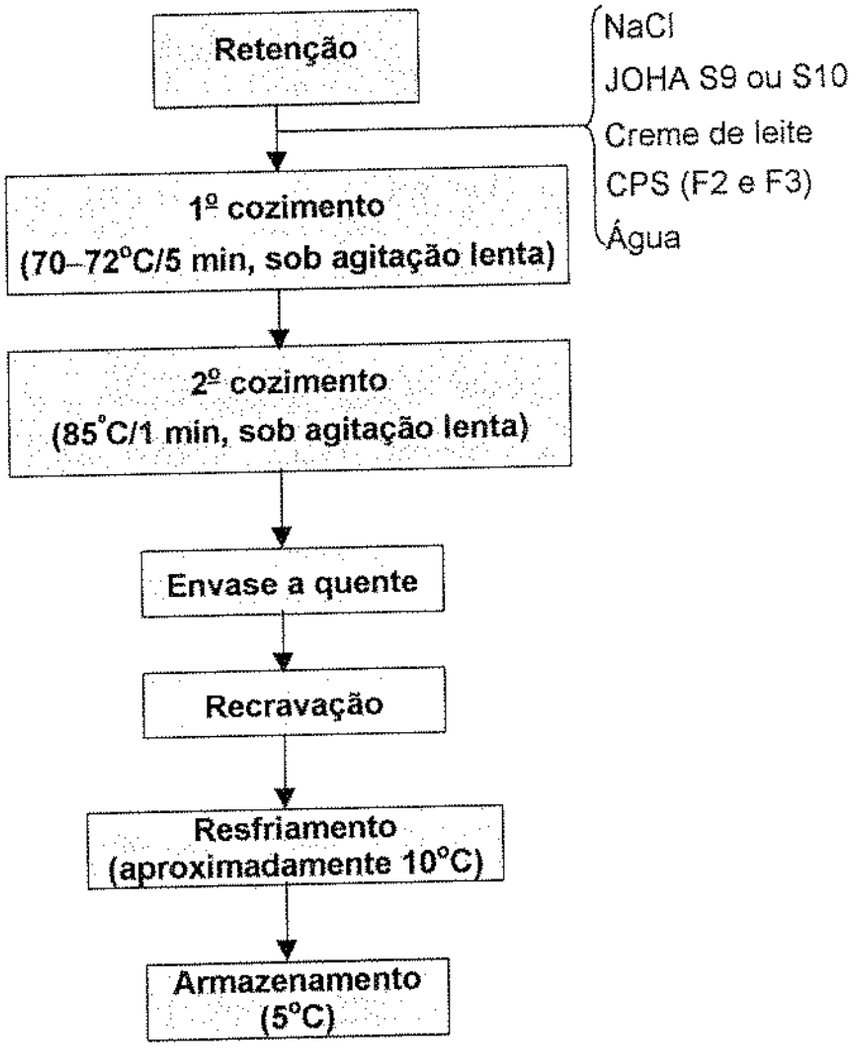

Figura 4.5. Fluxograma do processo de fabricação do requeijão cremoso.

Após a adição da matéria-prima e dos ingredientes iniciou-se a etapa de homogeneização seguida de aquecimento com injeção direta de vapor (1,5kgf/cm^2). Os processos foram realizados em 3 etapas contínuas: 1º, 2º, e 3º cozimentos.

Durante o aquecimento a abertura da válvula de vapor foi controlada manualmente e permitiu atingir a temperatura do 1º cozimento (70-72°C) em aproximadamente 1 minuto. Após essa temperatura ter sido atingida a válvula foi fechada e a temperatura mantida por 5 minutos. O mesmo procedimento foi adotado para as outras duas etapas de cozimento. No 3º cozimento, após ter-se atingido 90°C, ligou-se a bomba de vácuo por 30 segundos. Em seguida o equipamento foi desligado e procedeu-se a retirada do produto com auxílio de canecas de aço inoxidável previamente higienizadas.

O produto foi envasado ainda quente em copos de vidro previamente higienizados com solução de hipoclorito de sódio a 200ppm e imediatamente fechados com tampas metálicas igualmente higienizadas. Após a recravação os produtos foram resfriados inicialmente com água à temperatura ambiente e com água gelada . Em seguida os requeijões foram estocados em câmara fria a 5°C. Após 4 dias foram iniciadas as análises.

4.2.5. MÉTODOS ANALÍTICOS

As determinações analíticas foram realizadas em triplicada , exceção feita à determinação de gordura pelo método de Gerber que foi realizada em duplicata, e à determinação de cálcio que foi realizada em duplicata, com uma amostra de referência certificada, de acordo com métodos oficiais.

A caracterização do leite utilizado em cada processamento foi baseada nas seguintes determinações analíticas: densidade a 15°C, acidez titulável, pH, extrato seco total, gordura, nitrogênio total, nitrogênio não protéico, nitrogênio não caseico, cinzas, lactose, cálcio e fósforo. Após a acidificação do leite por adição de solução de ácido láctico a 5% foi feita a determinação do pH.

O retentado obtido após a ultrafiltração do leite pré-acidificado foi avaliado quanto as seguintes características físico-químicas: extrato seco total, gordura, nitrogênio total, nitrogênio não protéico, nitrogênio não caséico, cinzas, cálcio e fósforo. O permeado foi avaliado quanto as mesmas características físico-químicas que o retentado, exceto nitrogênio não caséico.

Os seis produtos obtidos em cada processamento (F1S9, F1S10, F2S9, F2S10, F3S9 e F3S10) foram avaliados quanto ao pH, extrato seco total, gordura, nitrogênio total, nitrogênio solúvel em TCA 12%, nitrogênio solúvel a pH 4,6, cinzas, cálcio, fósforo e cloreto de sódio. Os requeijões obtidos foram também avaliados quanto ao perfil de textura, característica de derretimento, cor e perfil eletroforético de proteínas. Foram também submetidos à avaliação sensorial.

4.2.5.1. PROCEDIMENTOS DE AMOSTRAGEM

Após a chegada do leite integral pasteurizado não homogeneizado na Planta Piloto de Processamento de Leite e Derivados do Departamento de Tecnologia de Alimentos foram retiradas amostras de aproximadamente 1 litro de cada um dos dois latões após estes terem sido devidamente misturados com o auxílio de um agitador de aço inoxidável de placa perfurada. As amostras foram transferidas para frascos de vidro ou plástico. Uma amostra de 500mL foi transferida para um bequer de 1000mL e foi determinada a quantidade necessária de ácido láctico 5% para promover a acidificação desejada ao leite (pH 5,7 ou 5,2).

Após a chegada do creme de leite cru este foi pasteurizado (82°C/5min), devidamente homogeneizado e uma amostra foi coletada para determinação do teor de gordura.

Ao final do processo de UF foram retiradas amostras de retentado e permeado devidamente homogeneizadas e nas quantidades necessárias aos procedimentos analíticos. As amostras foram armazenadas em frascos plásticos com tampa lacrada.

As amostras de requeijão foram coletadas após 4 dias de armazenamento em câmara fria à temperatura de aproximadamente 5°C. Três copos de cada uma das formulações foram avaliados quanto ao perfil de textura e em seguida foram misturados em um bequer. As amostras foram coletadas em frascos plásticos com tampa lacrada. Aproximadamente 60 gramas de cada amostra foi colocada em 2 placas de Petri, que foram posteriormente congeladas e liofilizadas para realização da eletroforese.

As análises foram efetuadas preferencialmente após a amostragem, entretanto, quando não foi possível, as amostras foram congeladas em câmara de congelamento à temperatura de aproximadamente -18°C para posterior análise.

4.2.5.2. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

- **Densidade:** utilizou-se termolactodensímetro como descrito por ATHERTON & NEWLANDER (1981).

- **pH:** utilizou-se potenciômetro Marca Accument, modelo 15 devidamente calibrado antes de realizar a determinação, introduzindo-se o eletrodo na amostra.

- **Acidez titulável:** foi determinada utilizando-se solução de hidróxido de sódio N/9, em presença do indicador fenolftaleína, conforme descrito por ATHERTON & NEWLANDER (1981).

- **Extrato seco total (EST):** foi determinado gravimetricamente, em estufa a 105°C, segundo procedimento oficial da AOAC 925.23 (1995). A porcentagem de umidade dos requeijões foi calculada por diferença (% umidade = 100 - % EST).

- **Extrato seco desengordurado (ESD):** foi calculado pela diferença entre o EST e o teor de gordura.

- **Gordura:** a porcentagem de gordura do leite, do retentado e dos requeijões foi determinada pelo método de Gerber conforme descrito por ATHERTON & NEWLANDER (1981). O teor de gordura do permeado e do CPS foi determinado gravimetricamente após extração em frasco de Mojonnier segundo AOAC 989.05 (1995).

- **Gordura no extrato seco (GES):** foi calculada através da relação da porcentagem de gordura pela porcentagem de extrato seco total multiplicado por 100.

- **Nitrogênio total (NT):** do leite, permeado e CPS foram determinados pelo método semi-micro Kjeldahl e do retentado e dos requeijões pelo método macro Kjeldahl conforme método oficial da AOAC 991.20 (1995).

- **Teor de proteína total (PT):** foi calculado multiplicando-se a porcentagem de nitrogênio total pelo fator 6,38.

- **Nitrogênio não protéico (NNP):** do leite e permeado foram determinados pelo método semi-micro Kjeldahl e do retentado e dos requeijões pelo método macro Kjeldahl conforme método oficial da AOAC 991.21 (1995).

- **Nitrogênio não caséico (NNC):** determinado pelo método IDF Standard número 29 (1964).

- **Teor de caseína (CAS):** foi calculado pela diferença entre o nitrogênio total e o nitrogênio não caseico, multiplicado pelo fator de conversão 6,38.

- **Teor de proteína do soro (PS):** foi calculado pela diferença entre nitrogênio não caséico e o nitrogênio não protéico, multiplicado pelo fator de conversão 6,38.

- **Cinzas:** foram determinadas conforme método oficial da AOAC 945.46 (1995).

- **Cálcio:** foi determinado após digestão da amostra com ácido nítrico segundo metodologia descrita por BARBERÁ *et al.* (1991) por espectrofotometria de absorção atômica com atomização em chama. Utilizou-se um instrumento Perkin Elmer controlado através de microprocessador modelo 5100 PC com lâmpada de deutério como corretor de fundo e as condições recomendadas pelo fabricante. Um branco e uma amostra de material de referência certificado (Non-Fat Milk Powder 1549 Standard Reference Material –NIST) foram adicionadas a cada batelada de amostra analisada.

- **Fósforo:** determinação colorimétrica do fosfomolibidato conforme AOAC 991.25 (1995).

- **Lactose:** calculado pela diferença entre o EST e os demais constituintes.

- **Teor de sal:** foi determinado pelo método de Volhard, metodologia 15.5.B. (MARSHALL, 1992).

4.2.5.3. AVALIAÇÃO DO PERFIL DE TEXTURA DOS REQUEIJÕES

A textura do requeijão cremoso foi avaliada através da Análise do Perfil de Textura utilizando-se o texturômetro universal TA XT_2, marca SMS – Stable Micro Systens. O equipamento foi operado pelo programa Texture Expert® em ambiente Windows Microsoft®

Para análise do perfil de textura os copos de requeijão foram mantidos a 10°C num banho-maria até a estabilização da temperatura. As determinações foram feitas em triplicatas e os copos foram retirados do banho-maria um a um no instante anterior à realização do teste, que foi conduzido segundo metodologia descrita por RAPACCI (1997). Foram obtidos os valores para os parâmetros do perfil de textura, a saber: elasticidade, coesividade, mastigabilidade, gomosidade, adesividade, fraturabilidade e firmeza.

4.2.5.4. TESTE DE DERRETIMENTO

Utilizou-se o método descrito por OLSON & PRICE (1958) adaptado às condições do requeijão cremoso. Para se definir as condições a serem usadas para o requeijão cremoso foram realizados testes preliminares com diferentes amostras comerciais e com requeijões fabricados a partir de concentrado de leite UF. Os testes indicaram que as condições adequadas a serem usadas eram 10°C/10 minutos (8+2 minutos). Amostras de 15,00 ± 0,20 gramas de requeijão cremoso foram pesadas diretamente dentro do tubo de derretimento de vidro, de forma cilíndrica, com 250mm de comprimento e 30mm de diâmetro e com duas linhas de referência gravada no vidro, no sentido longitudinal e transversal. A Figura 4.6 apresenta os tubos de vidro utilizados e o suporte de madeira de inclinação controlada (45°), com capacidade para 3 tubos, utilizados para a realização dos testes.

Após a pesagem do produto os tubos foram deixados em pé em um banho de gelo por 30 minutos. Ajustou-se a rolha de borracha até que a superfície do queijo estivesse alinhada com a linha de referência transversal gravada no vidro.

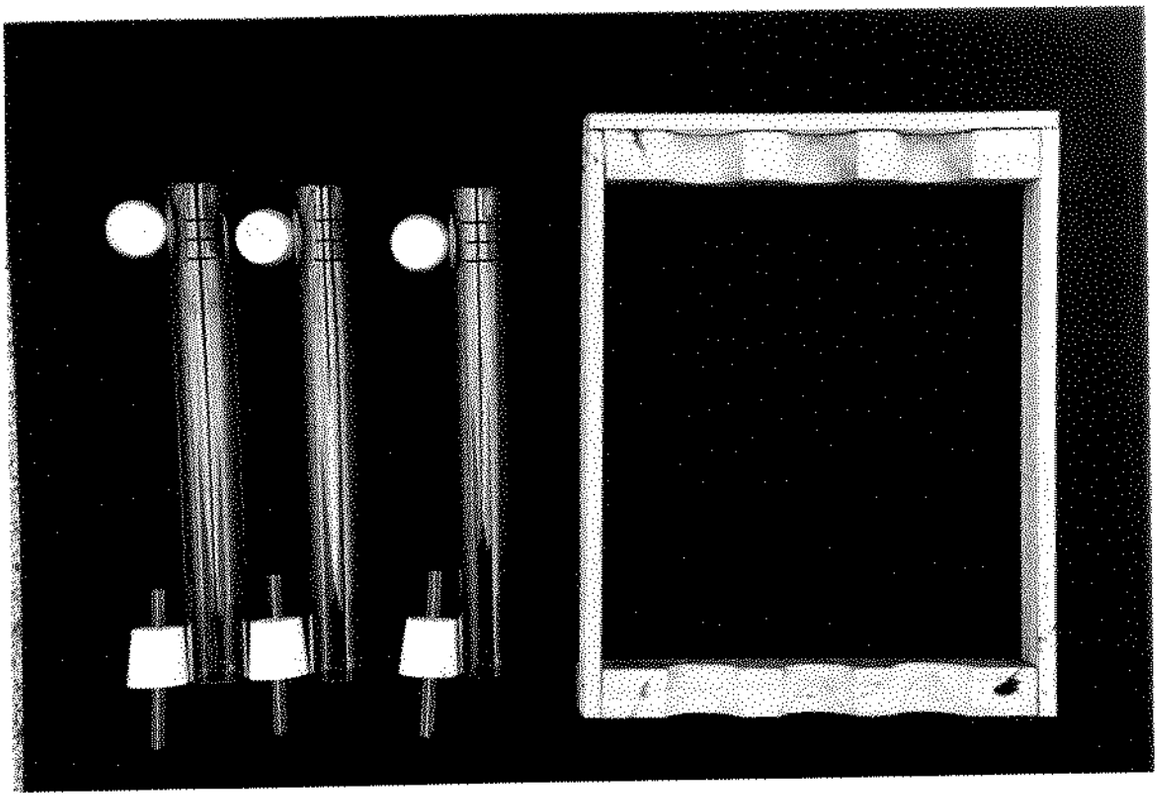

Figura 4.6. Tubos de suporte de madeira de inclinação controlada usados para teste de derretimento.

Em seguida as amostras foram colocadas na posição horizontal sobre o suporte de madeira numa estufa com corrente de ar forçado a 110°C. Após 8 minutos o suporte foi retirado da estufa e inclinado a fim de interromper o fluxo do queijo. Marcou-se a distancia do fluxo a partir da linha de referência até a borda da amostra derretida. Retornou-se suporte para a posição horizontal e colocou-se por mais dois minutos na estufa. Repetiu-se a operação de marcação da distância. A distância total, em milímetros, percorrida pela amostra nos 8 + 2 minutos de aquecimento foi denominada "fluxo de queijo" e usada como critério de derretimento. Na Figura 4.7 pode-se observar o resultado de um teste realizado com 3 amostras diferentes.

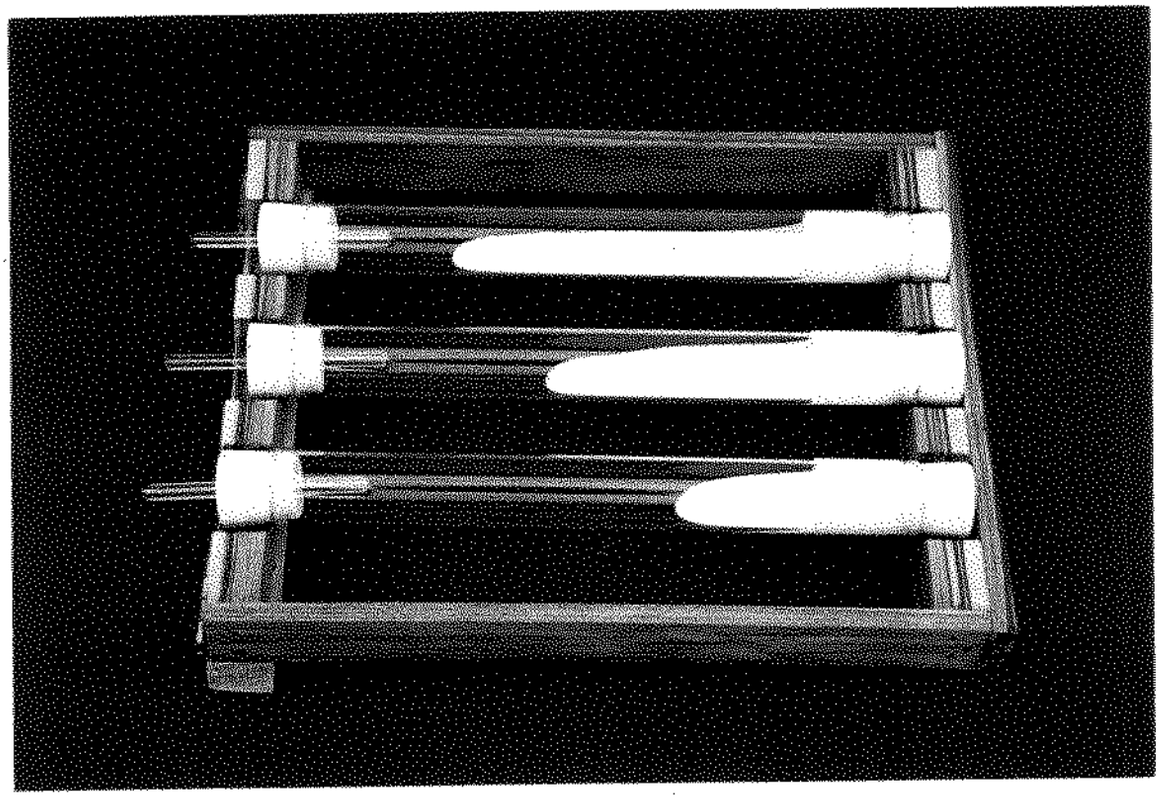

Figura 4.7. Resultado do teste de derretimento realizado com três amostras diferentes.

4.2.5.5. AVALIAÇÃO DA COR

Para avaliação instrumental da cor utilizou-se um colorímetro da marca Hunter Lab, modelo Color Quest II. A escala de cor utilizada foi CIE Lab (L* a* b*), com iluminante D_{65} (6900°K), com abertura de 10°. O valor de L* representa a luminosidade da amostra de preto (0) a branco (100); o valor de a* representa a cor variando de vermelho (+) a verde (-); o valor de b* representa as de amarelo (+) a azul (-).

O aparelho foi previamente calibrado no modo reflectância especular excluída usandos placas de referência branca (C6299 Hunterlab Color Standard) e cinza (C6299G Hunterlab Color Standard) e para a leitura utilizou-se uma cubeta de quartzo de 10mm.

A amostra foi cuidadosamente colocada na cubeta, à temperatura ambiente, para evitar a presença de bolhas de ar. A cubeta foi colocada no aparelho e as dimensões L*, a* e b* foram lidas. Em seguida a cubeta foi girada 180° e repetiu-se a leitura. Calculou-se a média das duas leituras.

4.2.5.6. AVALIAÇÃO DO PERFIL ELETROFORÉTICO

A eletroforese foi realizada em SDS-PAGE na presença de uréia 7M. A caracterização das frações protéicas das amostras foi realizada segundo o procedimento descrito por FOLEGATTI *et al.* (1997).

As amostras de requeijão foram inicialmente liofilizadas e, em seguida, desengorduradas com éter etílico. Aproximadamente 5g de amostra liofilizada foram colocados num bequer de 50mL e lavadas com porções de 20mL de éter etílico. Foram necessárias 4-5 lavagens para completo desengorduramento das amostras. Em seguida, a completa evaporação do éter foi assegurada colocando-se as amostras numa capela com ventilação forçada. A proteína foi dosada nas amostras de acordo com o procedimento de LOWRY *et al.* (1951).

Cada amostra foi dissolvida no tampão do "stacking gel" (pH 6.7, Tris-HCl 0.062M) de tal modo que a concentração protéica fosse de 120μg/10μl de solução.

Placas de gel de poliacrilamida de 7x10cm (gel com 1mm de espessura) foram empregadas como suporte para a separação eletroforética. A concentração do gel de separação foi de 9% e a do "stacking gel" 4%. Foram aplicados 10μl das diferentes amostras de retentado e requeijões e 20μl de uma mistura (50:50) dos padrões α e β-caseínas. A separação foi obtida com uma voltagem constante de 200 volts. Azul de bromofenol fenol foi utilizado como indicador.

Após a separação eletroforética, as placas de poliacrilamida foram coradas com Coomassie Blue 0.1% em solução de metanol:ácido acético:água (40:10:50) por aproximadamente 45 minutos. Em seguida foram descoradas em solução de metanol:ácido acético:água (40:10:50). Após a eliminação do excesso de corante, as placas foram preservadas em solução de ácido acético à 7%. A identificação dos picos foi realizada por comparação com os padrões.

4.2.6. AVALIAÇÃO SENSORIAL

4.2.6.1. LEVANTAMENTO DE TERMOS SENSORIAIS PARA DESCRIÇÃO DO REQUEIJÃO

Para a seleção dos atributos sensoriais a serem avaliados no teste de aceitabilidade foi realizada uma pesquisa com 70 consumidores, para levantamento de termos utilizados para descrever o produto conforme indicado por DELIZA (1996). Os consumidores foram abordados na rua, no seu local de trabalho, em suas residências e solicitados a responder a pesquisa sem acesso ao produto.

A ficha utilizada para levantamento de termos utilizados pelos consumidores para descrever o requeijão é apresentada na Figura 4.8.

PESQUISA SOBRE REQUEIJÃO

Nome: _____ Data: _____

Você costuma consumir requeijão?

( ) Sim ( ) Não

Freqüência de Consumo:

( ) Todo Dia
( ) 2 duas vezes por semana
( ) 1 vez por semana
( ) cada 15 dias
( ) 1 vez por mês

Como você descreveria um requeijão de copo?

_____
_____
_____
_____
_____

Figura 4.8. Ficha utilizada para levantamento de termos utilizados pelo consumidor para descrever o requeijão.

4.2.6.2. AVALIAÇÃO DA ACEITABILIDADE

Com base na pesquisa anterior foram selecionados os termos que apareceram com maior freqüência para elaboração da ficha de avaliação da aceitabilidade do requeijão cremoso.

Cada atributo (aceitação global, sabor, espalhabilidade, cremosidade, firmeza e cor) foi avaliado utilizando-se a escala hedônica de nove pontos (MEILGAARD, 1988). As fichas utilizadas para avaliação da aceitabilidade e da cor dos produtos são apresentadas nas Figuras 4.9 e 4.10, respectivamente.

O teste foi realizado com 50 provadores em cabines individuais . Cerca de 20g das amostras de requeijão cremoso foram servidas a aproximadamente 7°C, em copo plástico branco, de 50mL, codificados com números aleatórios de 3 dígitos casualizados. Juntamente com a amostra foi oferecido uma faca de plástico e 3 bolachas para avaliação da espalhabilidade e colheres para avaliação dos demais atributos.

A ordem de apresentação das amostras foi balanceada entre os provadores, com relação à ordem de apresentação. Todos provaram todas as amostras.

A avaliação sensorial foi realizada para os processamentos P1 e P3, que diferem quanto a acidificação do leite para UF, sendo que no processamento P1 o leite foi pré-acidificado a pH 5,7, enquanto no processamento P2 a pH 5,2.

A fim de possibilitar um intervalo de descanso entre as amostras, elas foram servidas em duas etapas: 3 amostras de cada vez na avaliação dos produtos obtidos no processamento P1 e duas amostras de cada vez na avaliação dos produtos obtidos no processamento P3.

AVALIAÇÃO DE REQUEIJÃO

Nome: _____ Data:_____

Avalie as amostras da esquerda para direita. Responda as questões a seguir usando a escala abaixo:

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

A) Espalhe a amostra na bolacha com a faca.
Quanto você gostou ou desgostou da ESPALHABILIDADE do produto?

AMOSTRA	VALOR DA ESCALA
_____	_____
_____	_____
_____	_____

Prove as amostras com a colher, sem a bolacha, para responder as demais questões.

B) Quanto você gostou ou desgostou do produto?

AMOSTRA	VALOR DA ESCALA
_____	_____
_____	_____
_____	_____

C) Quanto você gostou ou desgostou do SABOR do produto?

AMOSTRA	VALOR DA ESCALA
_____	_____
_____	_____
_____	_____

D) Quanto você gostou ou desgostou da CREMOSIDADE do produto?

AMOSTRA	VALOR DA ESCALA
_____	_____
_____	_____
_____	_____

E) Quanto você gostou ou desgostou da FIRMEZA do produto?

AMOSTRA	VALOR DA ESCALA
_____	_____
_____	_____
_____	_____

Comentários:
_____
_____
_____
_____

Figura 4.9. Ficha utilizada para avaliação de aceitabilidade do requeijão cremoso.

AVALIAÇÃO DE REQUEIJÃO

Nome: _____ Data: _____

Avalie as amostras da esquerda para a direita. Use a escala abaixo para indicar:

9 - Gostei muitíssimo
8 - Gostei muito
7 - Gostei moderadamente
6 - Gostei legeiramente
5 - Nem gostei/nem desgostei
4 - Desgostei ligeiramente
3 - Desgostei moderadamente
2 - Desgostei muito
1 - Desgostei muitíssimo

Quanto você gostou ou desgostou da COR do produto?

AMOSTRA	VALOR NA ESCALA
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____

Figura 4.10. Ficha utilizada para avaliação da cor do requeijão cremoso.

As amostras avaliadas no processamento P1 foram:

- P1F1S9: Requeijão cremoso fabricado a partir de retentado obtido por UF de leite pré-acidificado a pH 5,7, sem adição de CPS, fundido com sal emulsificante JOHA S9.
- P1F1S10: Requeijão cremoso fabricado a partir de retentado obtido por UF de leite pré-acidificado a pH 5,7, sem adição de CPS, fundido com sal emulsificante JOHA S10.
- P1F2S9: Requeijão cremoso fabricado a partir de retentado obtido por UF de leite pré-acidificado a pH 5,7, com adição de CPS de forma a aumentar a relação PS/CAS em 50%, fundido com sal emulsificante JOHA S9.
- P1F2S10: Requeijão cremoso fabricado a partir de retentado obtido por UF de leite pré-acidificado a pH 5,7, com adição de CPS de forma a aumentar a relação PS/CAS em 50%, fundido com sal emulsificante JOHA S10.

- P1F3S9: Requeijão cremoso fabricado a partir de retentado obtido por UF de leite pré-acidificado a pH 5,7, com adição de CPS de forma a aumentar a relação PS/CAS em 100%, fundido com sal emulsificante JOHA S9.
- P1F3S10: Requeijão cremoso fabricado a partir de retentado obtido por UF de leite pré-acidificado a pH 5,7, com adição de CPS de forma a aumentar a relação PS/CAS em 100%, fundido com sal emulsificante JOHA S10.

As amostras avaliadas no processamento P3 foram:

- P3F2S9: Requeijão cremoso fabricado a partir de retentado obtido por UF de leite pré-acidificado a pH 5,2, com adição de CPS de forma a aumentar a relação PS/CAS em 50%, fundido com sal emulsificante JOHA S9.
- P3F2S10: Requeijão cremoso fabricado a partir de retentado obtido por UF de leite pré-acidificado a pH 5,2, com adição de CPS de forma a aumentar a relação PS/CAS em 50%, fundido com sal emulsificante JOHA S10.
- P3F3S9: Requeijão cremoso fabricado a partir de retentado obtido por UF de leite pré-acidificado a pH 5,2, com adição de CPS de forma a aumentar a relação PS/CAS em 100%, fundido com sal emulsificante JOHA S9.
- P3F3S10: Requeijão cremoso fabricado a partir de retentado obtido por UF de leite pré-acidificado a pH 5,2, com adição de CPS de forma a aumentar a relação PS/CAS em 100%, fundido com sal emulsificante JOHA S10.

Para cálculo da porcentagem de aprovação das amostras considerou-se a somatória das notas maiores que cinco (6-gostei ligeiramente a 9-gostei muitíssimo na escala) e a porcentagem de rejeição pela somatória das notas menores que cinco (4-desgostei ligeiramente a 1-desgostei muitíssimo na escala).

4.2.7. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

O plano experimental utilizado foi *Slit-Split-Plot*, onde a parcela foi o pH (2 níveis de variação), a sub parcela foi a adição de CPS (3 níveis de variação) e a sub sub parcela foi o sal emulsificante (2 tipos). O experimento foi aleatorizado de acordo com esse planejamento experimental (JOHN, 1971). Quando a perda do número de observações impossibilitou a análise dos dados segundo este delineamento, utilizou-se experimento fatorial 2^3 replicado. A análise estatística foi feita utilizando-se o pacote estatístico SAS System versão 6.11 (SAS Institute, Inc. Caray, NC).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE

A Tabela 5.1 apresenta os resultados da composição físico-química do leite utilizado nos processamentos P1, P2, P3 e P4.

Tabela 5.1. Características físico-químicas do leite utilizado nos processamentos P1, P2, P3 e P4.

Características físico-químicas do leite	P1	P2	P3	P4
PH	6,63	6,73	6,88	6,61
Acidez Dornic (°D)	15,43	13,83	14,10	14,78
Densidade a 15°C (g/ml)	1,0298	1,0284	1,0284	1,0299
EST (%)	11,45	11,20	11,54	11,70
ESD (%)*	8,14	7,85	8,04	8,20
Gordura (%)	3,30	3,35	3,50	3,50
Proteína Total (%)	3,11	2,97	2,92	3,07
Caseína (%)	2,54	2,48	2,34	2,48
Proteína soro (%)	0,40	0,37	0,43	0,47
Cinzas (%)	0,65	0,66	0,61	0,75
Lactose (%)*	4,39	4,22	4,42	4,38
Cálcio (mg/100g)	104,24	90,44	88,06	108,70
Fósforo (mg/100g)	83,91	79,62	77,33	88,64
PS/CAS	0,16	0,15	0,18	0,19

* calculado por diferença
P1 e P4 - leite pré-acidificado a pH 5,7.
P2 e P3 - leite pré-acidificado a pH 5,2.

Observou-se na Tabela 5.1 que os resultados de pH e acidez foram os normalmente encontrados para leite em boas condições de higiene. Pequenas variações na composição também foram observadas, principalmente no teor de

proteínas e especialmente na relação proteínas do soro/caseína (PS/CAS). Também observou-se maior teor de cinzas no leite utilizado no processamento P4, quando comparado com os demais, provavelmente em função do maior teor de cálcio e fósforo também apresentado por este leite.

Os experimentos foram realizados de novembro/97 a março/98, sendo que o tempo médio entre os processamentos foi de um mês. Durante este período não se esperam grandes variações sazonais na composição do leite. Porém, o leite utilizado foi proveniente de diferentes regiões e é possível apresentar variações na composição, que pode ser afetada pela raça, alimentação e idade do animal, período de lactação e outros fatores (OLIVEIRA, 1986). Estas variações na composição dos leites implicaram em variações nas características dos retentados obtidos nos processos de UF.

5.2. CARACTERÍSTICAS DO PROCESSO DE ULTRAFILTRAÇÃO

A Tabela 5.2 apresenta as características dos processos de ultrafiltração para os processamentos P1, P2, P3 e P4.

Observou-se que a taxa de permeação decresceu em todos os processamentos durante os estágios de concentração inicial e final, mas foi substancialmente maior com leite acidificado a pH 5,7 (P1 e P4) do que a pH 5,2 (P2 e P3). Essa observação se traduz em termos de tempo necessário para o processamento que, como pode ser observado na Tabela 5.2, foi cerca de 45% maior nos processamentos com pH 5,2, mantidas as demais condições de processo e usando-se aproximadamente a mesma quantidade de leite.

Em estudo realizado por ERNSTROM *et al.* (1980) os autores observaram que a acidificação do leite a pH 5,7 aumentou a concentração de cálcio solúvel e causou acentuada redução na taxa de permeação quando comparado com o leite não acidificado. Segundo os autores esse efeito pode ser análogo ao observado por GLOVER *et al.* (1978) na UF de soro de queijo, onde o aumento do conteúdo de Ca^{++} e a diminuição do pH (7-4,3) resultou em um significante decréscimo da taxa de permeação.

Tabela 5.2. Características da UF dos processamentos P1, P2, P3 e P4.

Características dos processos de UF	P1	P2	P3	P4
PH do leite acidificado	5,72	5,20	5,19	5,72
Peso do leite (kg)	103,40	102,50	106,50	103,30
Peso do permeado obtido (kg)	80,72	82,45	81,69	83,50
Fator de concentração (Fc)	4,5	5,1	4,3	5,2
Tempo (h)	8:45	13:00	12:30	9:00
Temperatura (°C)	30-34	29-34	29-33	29-32
Pressão média (Kgf/cm^2)	1,95	1,95	1,95	1,95

Em ensaios realizados por ERNSTROM *et al.* (1980) os autores observaram que o leite acidificado química ou microbiologicamente antes da UF a pH 5,6, ou abaixo, freqüentemente resultava em coagulação do retentado particularmente durante a diafiltração. Os autores não encontraram dificuldades em qualquer amostra acidificada quimicamente a pH 5,65-5,70. Entretanto, amostras de leite que foram acidificadas microbiologicamente a pH 5,7, antes ou durante a UF, foram mais instáveis. A introdução da água de diafiltração causava desestabilização e resultava em completo entupimento da planta de UF.

No presente estudo, em experimentos exploratórios, observou-se que acidificação química a pH 5,2 promovia o aparecimento de finos coágulos de proteína que impediam o processamento, porque entupiam a membrana de UF e/ou a paravam da bomba de alimentação do produto. Desta forma, a UF do leite após acidificação química a pH 5,2 só foi possível após a introdução de um filtro na linha de processamento.

As variações de temperatura dos processos foram pequenas como observou-se na Tabela 5.2. Temperaturas maiores, aproximadamente 34°C, só foram atingidas praticamente no final dos processamentos, quando o volume de retentado no tanque era muito reduzido não permitindo ligar o sistema de refrigeração do mesmo. O controle da temperatura foi importante para possibilitar o processo de UF nos níveis

de pH utilizados. Em experimentos exploratórios trabalhou-se nas mesmas condições com o leite a 55°C e observou-se um completo entupimento da membrana imediatamente após o início do processo de UF, que teve que ser interrompido.

As Tabelas 5.3 e 5.4 apresentam a composição físico-química dos permeados e retentados obtidos nos processamentos P1, P2, P3 e P4.

Tabela 5.3. Composição química dos permeados obtido por UF do leite pré-acidificado nos processamentos P1, P2, P3 e P4.

Características físico-químicas do permeado	P1	P2	P3	P4
EST (%)	5,46	5,08	5,17	5,48
Gordura (%)	0,05	0,04	0,05	0,05
Proteína Total (%)	0,22	0,25	0,14	0,17
Nitrogênio não Protéico (%)	0,03	0,03	0,02	0,02
Cinzas (%)	0,55	0,50	0,57	0,62
Lactose (%)*	4,64	4,29	4,41	4,64
Cálcio (mg/100g)	53,92	83,63	90,50	57,40
Fósforo (mg/100g)	53,92	83,63	90,50	57,40

* calculada por diferença.
P1 e P4 - leite pré-acidificado a pH 5,7.
P2 e P3 - leite pré-acidificado a pH 5,2.

Com base nos dados apresentados nas Tabelas 5.3 e 5.4 calcularam-se os coeficientes de rejeição médios (FIL-IDF, 1981) para os processamentos conduzidos a pH 5,7 (P1 e P4) e a pH 5,2 (P2 e P3). Os resultados estão apresentados na Figura 5.1. Especificamente para o cálcio a pH 5,2 o resultado apresentado é somente de uma observação (P2). Os teores de cálcio do permeado e retentado do processamento P3 indicam um problema na determinação analítica.

Tabela 5.4. Características físico-químicas dos retentados obtidos por UF do leite pré-acidificado nos processamentos P1, P2, P3 e P4.

Características físico-químicas do concentrado	P1	P2	P3	P4
EST (%)	32,96	33,41	30,65	38,90
Gordura (%)	16,00	16,00	15,00	13,50
Proteína Total (%)	12,66	12,86	11,17	19,01
Caseína (%)	10,60	10,92	9,25	15,49
Proteína soro (%)	1,84	1,69	1,75	3,26
Cinzas (%)	1,15	0,76	0,71	1,62

P1 e P4 - leite pré-acidificado a pH 5,7.
P2 e P3 - leite pré-acidificado a pH 5,2.

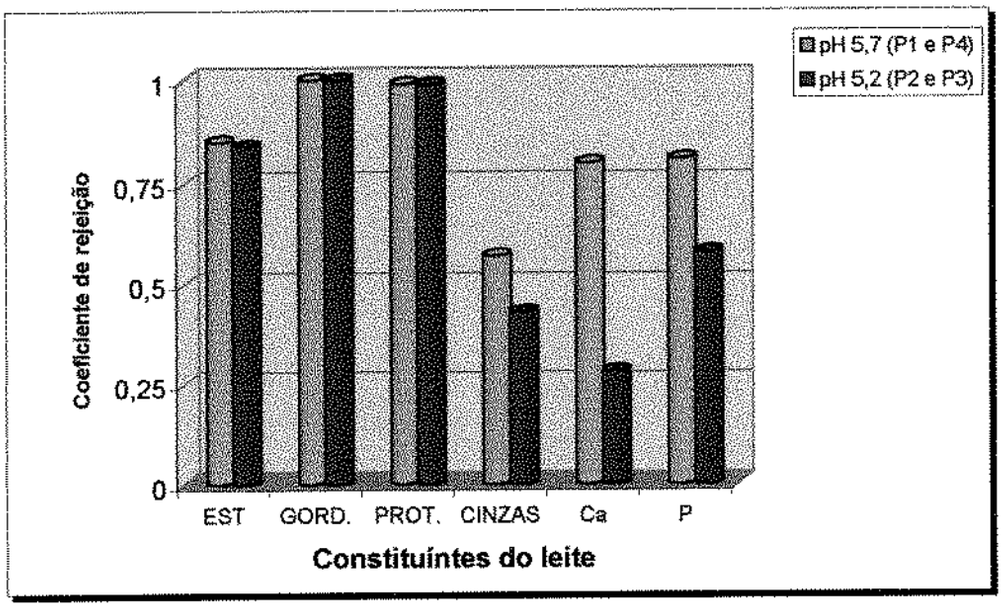

Figura 5.1. Coeficiente de rejeição médio dos componentes do leite para os processos de UF realizados a pH 5,7 (P1 e P4) e pH 5,2 (P2 e P3).

Nos dois níveis de pH houve total rejeição da gordura (coeficiente de rejeição de gordura: P1, P2, P3 e P4 = 1,00) e praticamente total rejeição de proteína (coeficiente de rejeição da proteína: P1 = 0,98, P2 = 0,98, P3 = 0,99 e P4 = 0,99), indicando que o pH de UF não influenciou na retenção destes dois componentes.

Com relação às cinzas, cálcio e fósforo, observou-se um menor coeficiente de rejeição desses constituintes quando da UF a pH 5,2.

Esse fato era esperado e bem conhecido na literatura (BRULÉ *et al.*, 1974; BRULÉ & FAUQUANT, 1981; MAHAUT *et al.*; 1986; CASIRAGHI *et al.*, 1987). Na UF, o cálcio coloidal é completamente retido no concentrado, enquanto o cálcio solúvel permeia livremente através da membrana. Como resultado da acidificação do leite, parte do Ca, Mg e P é solubilizado resultando em maior permeação desses componentes, sendo portanto sua concentração no retentado menor que no leite não acidificado.

Ao comparar os níveis de cinzas, Ca e P durante a UF de leite desnatado acidificado (pH 4,6) e não acidificado (pH 6,6), PATEL *et al.* (1986) observaram que com o aumento da concentração durante a UF, os níveis de cinzas, Ca e P no concentrado aumentaram, porém, este aumento foi muito menor a pH 4,6. Com o decréscimo do pH (de 6,6 para 4,6) maiores quantidades de cinzas, Ca e P foram eliminadas com o permeado.

Similarmente ao obtido por PATEL *et al.* (1986), observou-se no presente trabalho, que uma maior acidificação resultou em menor coeficiente de rejeição de cinzas, Ca e P. No pH 5,7, 80% do Ca e 81% do P foi rejeitado contra 28% do Ca e 58% do P no pH 5,2. A diminuição do coeficiente de rejeição de cinzas no pH 5,2 quando comparado ao pH 5,7, deveu-se provavelmente, as diferenças encontradas para Ca e P. A pequena diferença encontrada no coeficiente de rejeição do EST, 85% no pH 5,7 contra 84% no pH 5,2, deveu-se provavelmente a diferença no teor de cinzas.

5.3. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS REQUEIJÕES

As Tabelas 5.5, 5.6, 5.7 e 5.8 apresentam as característica físico-químicas dos requeijões obtidos nos processamentos P1, P2, P3 e P4, respectivamente.

O CPS adicionado aos requeijões no momento da fabricação apresentou 95,61% de EST, 78,26% de proteína, 7,73% de gordura e 3,7% de cinzas.

Tabela 5.5. Características físico-químicas dos requeijões obtidos no processamento P1.

Características Físico-químicas	P1F1S9	P1F1S10	P1F2S9	P1F2S10	P1F3S9	P1F3S10
pH	5,76	6,03	5,81	6,01	5,74	6,02
EST (%)	34,03	34,87	34,27	35,70	36,40	35,90
Umidade (%)	65,97	65,13	65,73	64,30	63,60	64,10
Gordura (%)	21,00	21,00	21,00	21,50	22,25	22,00
Gordura no extrato seco (%)	61,71	60,22	61,28	60,22	61,12	61,28
Proteína Total (%)	8,55	8,63	8,66	9,04	9,58	9,48
Caseína (%)	7,94	8,06	8,02	8,37	8,81	8,74
Proteína do Soro (%)	0,51	0,43	0,43	0,47	0,54	0,50
Cinzas (%)	2,21	2,29	2,03	2,32	2,26	2,26
Sal (%)	1,13	1,18	0,87	1,10	1,09	1,06
Sal na umidade (%)	1,71	1,81	1,32	1,71	1,71	1,65
Fósforo (mg/100g)	380,89	385,57	369,07	388,12	392,24	365,31
Cálcio (mg/100g)	156,06	156,67	147,42	144,89	150,20	151,94

Observa-se nas Tabelas 5.5, 5.6, 5.7 e 5.8 que os valores de pH encontraram-se dentro dos limites (pH 5,4 e 6,2) indicados na literatura (FERNANDES, 1981a, OLIVEIRA, 1986). De forma geral, pH abaixo de 5,4 causa um aumento na firmeza do queijo e uma maior redução pode resultar na coagulação do produto. A medida que o pH aumenta, a consistência se torna menos viscosa. Queijo fundido de consistência firme deve ter pH < 5,7, enquanto que queijo de consistência cremosa e suave deve ter pH > 5,7. (FERNANDES, 1981a).

Tabela 5.6. Características físico-químicas dos requeijões obtidos no processamento P2.

Características Físico-químicas	P2F1S9	P2F1S10	P2F2S9	P2F2S10	P2F3S9	P2F3S10
PH	5,81	6,12	5,82	6,11	5,83	6,10
EST (%)	33,51	30,18	35,16	34,53	34,53	34,09
Umidade (%)	66,49	69,82	64,84	65,47	65,47	65,91
Gordura (%)	20,00	18,00	21,00	21,00	21,50	21,00
Gordura no extrato seco (%)	59,68	59,64	59,73	60,82	62,26	61,60
Proteína Total (%)	8,04	7,30	8,51	8,42	8,49	8,55
Caseína (%)	7,41	6,66	7,75	7,73	7,68	7,76
Proteína do soro (%)	0,46	0,40	0,49	0,43	0,53	0,53
Cinzas (%)	1,87	1,72	1,80	1,92	1,84	1,75
Sal (%)	1,01	0,93	1,04	1,00	0,98	0,98
Sal na umidade (%)	1,52	1,33	1,60	1,53	1,50	1,49
Fósforo (mg/100 g)	317,00	271,52	314,35	301,69	298,33	306,54
Cálcio (mg/100 g)	99,33	91,14	97,14	96,84	92,89	93,17

Observou-se ainda que os requeijões fabricados com sal emulsificante JOHA S10 apresentaram pH ligeiramente maior quando comparados aos processados com sal emulsificante JOHA S9. Estes dados concordam com os obtidos por RAPACCI (1997), que observou que o requeijão fabricado tanto com massa obtida por fermentação láctica como por acidificação direta, quando adicionado de sal emulsificante S10 apresentou valores médios de pH significativamente maiores do que os fabricados com sal emulsificante S9.

Segundo informações fornecidas pelo fabricante dos referidos sais emulsificantes, constituídos à base de polifosfatos de sódio, a solução a 1% do sal JOHA S9 tem pH 9,0 ± 0,3 e promove um deslocamento do pH de + 0,1 a + 0,3, já a solução a 1% do sal emulsificante JOHA S10 tem pH 9,6 ± 0,3 e promove um deslocamento de pH de + 0,2 a + 0,5. Este fato influenciou a obtenção de maior pH nos produtos obtidos com a adição de sal emulsificante JOHA S10.

Tabela 5.7. Características físico-químicas dos requeijões obtidos no processamento P3.

Características Físico-químicas	P3F1S9	P3F1S10	P3F2S9	P3F2S10	P3F3S9	P3F3S10
PH	5,67	6,00	5,70	5,99	5,69	5,98
EST (%)	32,39	32,15	33,48	32,77	34,51	34,57
Umidade (%)	67,61	67,85	66,52	67,23	65,49	65,43
Gordura (%)	19,00	19,00	20,00	19,25	20,50	20,50
Gordura no extrato seco (%)	58,66	59,10	59,74	58,74	59,40	59,30
Proteína Total (%)	7,18	7,15	7,53	7,45	7,92	7,88
Caseína (%)	6,42	6,45	6,67	6,62	7,01	6,89
Proteína do soro (%)	0,63	0,55	0,71	0,66	0,73	0,78
Cinzas (%)	2,26	2,64	2,31	2,05	2,10	2,14
Sal (%)	1,18	1,22	1,15	1,07	1,10	1,07
Sal na umidade (%)	1,75	1,80	1,73	1,59	1,68	1,64
Fósforo (mg/100g)	341,67	333,47	347,35	320,55	341,89	340,22
Cálcio (mg/100g)	82,53	84,69	90,34	84,17	83,21	88,59

MARCHESSEAU *et. al.* (1997) avaliaram a influência do pH nas interações protéicas e na microestrutura do queijo fundido e observaram que as condições ótimas de pH durante a fabricação dos queijos varia de 5,7 a 6,0. Pequenas mudanças na composição e na força iônica modificaram substancialmente as interações protéicas, e tiveram influência importante sobre a estrutura final e qualidade do gel protéico que foi estabilizado durante o processamento dos queijos. A firmeza dos queijos fundidos diminuiu com o aumento do pH de 5,7 para 6,7 e também diminuiu nos pH entre 5,7 e 5,2.

Tabela 5.8. Características físico-químicas dos requeijões obtidos no processamento P4.

Características Físico-químicas	P4F1S9	P4F1S10	P4F2S9	P4F2S10	P4F3S9	P4F3S10
PH	5,85	5,89	5,84	6,03	5,75	5,96
EST (%)	31,85	33,45	33,38	32,82	33,39	33,03
Umidade (%)	68,15	66,55	66,62	67,18	66,61	66,97
Gordura (%)	19,50	20,75	20,50	21,00	21,00	21,00
Gordura no extrato seco (%)	61,22	62,03	61,41	63,98	62,89	63,58
Proteína Total (%)	8,62	8,92	8,77	8,53	8,54	8,54
Caseína (%)	7,68	7,99	7,83	7,56	7,44	7,48
Proteína do soro (%)	0,76	0,75	0,73	0,79	0,89	0,84
Cinzas (%)	1,69	1,74	1,67	1,72	1,59	1,59
Sal (%)	0,79	0,81	0,73	0,70	0,69	0,64
Sal na umidade (%)	1,16	1,22	1,10	1,04	1,04	0,96
Fósforo (mg/100g)	306,95	298,57	291,17	267,35	258,72	251,92
Cálcio (mg/100g)	182,53	184,52	164,67	166,89	162,45	152,73

O cálculo das formulações previa que a % EST e %GES fossem constantes nos produtos finais para cada tratamento. Entretanto, os dados mostraram (Tabelas 5.5, 5.6, 5.7 e 5.8) que estes parâmetros variaram entre os tratamentos e nas repetições para cada tratamento. Essas variações para a %EST foram: P1 de 34,03 a 36,40%; P2 de 30,18 a 35,16%, P3 de 32,15 a 34,57% e P4 de 31,85 a 33,39. Para a %GES foram : P1 de 60,22 a 61,71%, P2 de 59,64 a 62,26%, P3 de 58,66 a 59,74% e P4 de 61,22 a 63,98. Estas variações não esperadas foram devido à dificuldade em se controlar efetivamente a incorporação de água por condensação no produto final. Embora a quantidade de água incorporada por condensação tenha sido avaliada na prática e considerada nos cálculos das formulações, o controle durante o processamento foi feito manualmente e influenciado pela prática do operador do equipamento.

A obtenção de produtos com EST constante é também uma dificuldade na indústria de fabricação de requeijão cremoso, devido a recomendação de injeção direta de vapor para obtenção das características desejadas no produto final, sendo esta, provavelmente, a maior responsável pela não uniformidade dos produtos disponíveis no mercado.

Por outro lado, o conteúdo de água como regulador da consistência não é considerado separadamente, mas sempre em relação ao conteúdo de gordura no extrato seco (GES) (FURTADO E LOURENÇO NETO, 1994). Observou-se que a relação GES/EST, calculada com base nos dados apresentados nas Tabelas 5.5, 5.6, 5.7, 5.8 apresentaram pequena variação e foram, em média, 1,73 (valor máximo = 1,81 e valor mínimo = 1,68); 1,80 (valor máximo = 1,76 e valor mínimo = 1,97); 1,77 (valor máximo = 1,71 e valor mínimo = 1,81); 1,89 (valor máximo = 1,94 e valor mínimo = 1,85), para os processamentos P1, P2, P3, e P4 respectivamente.

Os efeitos dessas variações foram removidos antes de se efetuar a análise estatística da influência dos fatores (pH de ultrafiltração, adição de CPS para aumentar a relação PS/CAS e tipo de sal emulsificante) sobre as características avaliadas dos requeijões.

Observou-se ainda (Tabelas 5.5, 5.6, 5.7, 5.8) uma variação no conteúdo de cálcio dos requeijões obtidos quando da UF do leite a pH 5,2 (P2 e P3) ou 5,7 (P1 e P4). O teor médio de cálcio para os produtos obtidos a partir de retentado de leite ultrafiltrado pré-acidificado a pH 5,2 foi 90,33 mg/100g, enquanto que para os produtos obtidos a partir de retentado de UF pré-acidificados pH 5,7 foi 160,08 mg/100g.

5.4. EFEITO DO pH DE UF, DA ADIÇÃO DE CPS E DO TIPO DE SAL EMULSIFICANTE NAS CARACTERÍTISCAS DE TEXTURA

O erro instrumental inerente às medidas no texturômetro é pequeno. Variabilidade maior do que a encontrada quando usando uma espuma de borracha dura como material de teste é atribuída à variabilidade do material testado. Coeficientes de variação médios calculados para diferentes produtos alimentícios foram os seguintes: 16,1% para firmeza, 11,8% para coesividade, 11,2% para elasticidade, 22,5% para adesividade, 22,1% para mastigabilidade e 6,6% para gomosidade FRIEDMAM *et al.* (1963). Baseando-se nesse critério, todos os parâmetros obtidos poderiam ser avaliados, uma vez que o coeficiente de variação das determinações foram menores do que os indicados por FRIEDMAM *et al.* (1963), exceção feita à algumas determinações de adesividade.

Entretanto, na escolha dos parâmetros deve-se considerar também a característica do material testado e o significado físico desses parâmetros. Com base nisso optou-se por avaliar as características de firmeza, adesividade, elasticidade e coesividade.

Na Tabela 5.9 são apresentados os valores médios obtidos na determinação dos parâmetros do perfil de textura selecionados, dos requeijões obtidos nos processamentos P1, P2, P3 e P4.

Pode-se observar na Tabela 5.9 a ausência de algumas observações, bem como resultados com duas ou apenas uma observação. Isso deveu-se a impossibilidade de determinação do perfil de textura para algumas amostras obtidas. A metodologia utilizada foi definida com base nas características dos produtos comerciais. Em determinadas condições estabelecidas para este estudo, os produtos obtidos não apresentaram as características dos produtos comerciais, impossibilitando esta avaliação.

Observou-se que para os produtos com características similares aos produtos comerciais a metodologia utilizada teve boa reprodutibilidade, porém, quando o produto apresentou maior fluidez, a metodologia não apresentou reprodutibilidade (coeficientes de variação alto) ou impossibilitou a realização da determinação do perfil de textura.

Tabela 5.9. Valores médios e coeficientes de variação dos resultados do perfil de textura das amostras obtidas nos processamentos P1, P2, P3 e P4.

AMOSTRAS	Parâmetros do perfil de textura							
	Firmeza (g)		Adesividade[1] (g.s)		Elasticidade[2]		Coesividade[2]	
P1	**Média**	**CV (%)**	**Média**	**CV (%)**	**Média**	**CV (%)**	**Média**	**CV (%)**
P1F1S9	23,22	1,17	20,76	9,51	0,83	0,30	0,54	2,17
P1F1S10	21,54	10,73	25,35	20,16	0,84	0,88	0,56	2,50
P1F2S9	48,85	3,69	78,71	9,27	0,87	2,06	0,54	4,50
P1F2S10	31,06	2,36	43,72	3,48	0,84	0,74	0,54	1,09
P1F3S9	55,08	6,23	85,89	3,31	0,86	1,06	0,55	0,52
P1F3S10	43,81	8,20	64,97	16,76	0,86	1,55	0,53	1,08
P2								
P2F1S9	11,84[3]	3,90	--	--	1,05[3]	0,29	0,73[3]	0,62
P2F1S10	8,31[3]	3,48	--	--	0,97[3]	3,85	0,73[3]	0,07
P2F2S9	26,13	5,21	17,54	9,94	0,83	7,47	0,56	6,38
P2F2S10	20,56	3,18	11,06	24,80	0,86	2,33	0,55	2,07
P2F3S9	26,04	5,65	15,56	20,17	0,86	2,27	0,53	1,14
P2F3S10	22,06	5,02	12,94	21,38	0,86	3,36	0,54	1,83
P3								
P3F1S9	--	--	--	--	--	--	--	--
P3F1S10	9,53[4]	--	--	--	0,87[4]	--	0,68[4]	--
P3F2S9	19,46	9,52	3,83	29,31	0,83	5,56	0,57	4,69
P3F2S10	15,50	1,09	2,05[3]	9,06	0,85	1,70	0,54	3,37
P3F3S9	33,21	2,20	26,50	8,74	0,84	3,40	0,54	1,36
P3F3S10	30,30	1,25	23,74	8,69	0,85	0,39	0,55	0,75
P4								
P4F1S9	22,27	9,28	7,79	22,85	0,85	2,30	0,57	3,18
P4F1S10	21,36	3,01	8,29	17,39	0,86	3,01	0,58	2,49
P4F2S9	30,45	1,22	19,82	14,45	0,88	2,51	0,57	1,57
P4F2S10	20,91	3,07	8,29	16,58	0,85	2,27	0,58	2,98
P4F3S9	29,69	5,91	11,13	16,95	0,87	1,25	0,55	0,56
P4F3S10	33,02	3,61	13,08	8,59	0,88	1,73	0,57	0,59

[1] Valores negativos. [2] Valores adimensionais. [3] Resultado de duas observações. [4] Resultado de uma observações.

As Figuras 5.2, 5.3, 5.4, 5.5,.5.6, 5.7, 5.8 e 5.9 apresentam o efeito do pH de UF e da adição de CPS na firmeza, adesividade, elasticidade e coesividade dos requeijões obtidos com sais emulsificantes JOHA S9 e S10, respectivamente. A análise destas Figuras indicou que a variação do pH de UF e a adição de CPS influenciaram a firmeza e a adesividade dos produtos obtidos, porém, a elasticidade e a coesividade praticamente não variaram. Uma pequena variação nos parâmetros elasticidade e coesividade em amostras de requeijão também foi observado por RAPACCI (1997) quando da fabricação do produto a partir de massa obtida por fermentação láctica e acidificação direta, com 3 níveis de sais emulsificantes JOHA S9 e S10.

A variação na composição protéica do retentado obtidos nos 4 processamentos, ou seja PS/CAS nos processamentos P1, P2, P3 e P4 igual a 0,17, 0,15, 0,19 e 0,21 respectivamente, conforme apresentado na Tabela 5.4, poderia implicar em diferença na firmeza das amostras. Porém, a influência dessa variação foi estatisticamente removida através da análise de covariância.

Conforme discutido anteriormente, apesar das formulações preverem que a %EST e %GES fossem constantes nos produtos finais para cada tratamento, observou-se que esses parâmetros apresentaram variações entre os tratamentos e nas repetições para cada tratamento.

A análise estatística indicou que esta variáveis (%EST e %GES) influenciaram significativamente a firmeza das amostras ($p = 0,0001$ e $p = 0,0028$ para %EST e %GES, respectivamente). A influência destas variações também foram removidas através da análise de covariância antes de se avaliar a influência do pH de UF, da adição de CPS e do tipo de sal emulsificante, bem como suas interações na firmeza das amostras. O efeito principal de um fator somente pode ser interpretado individualmente se não houver nenhuma evidência que um fator interage com outro. Se a interação entre dois fatores foi significativa a análise deve ser feita conjuntamente.

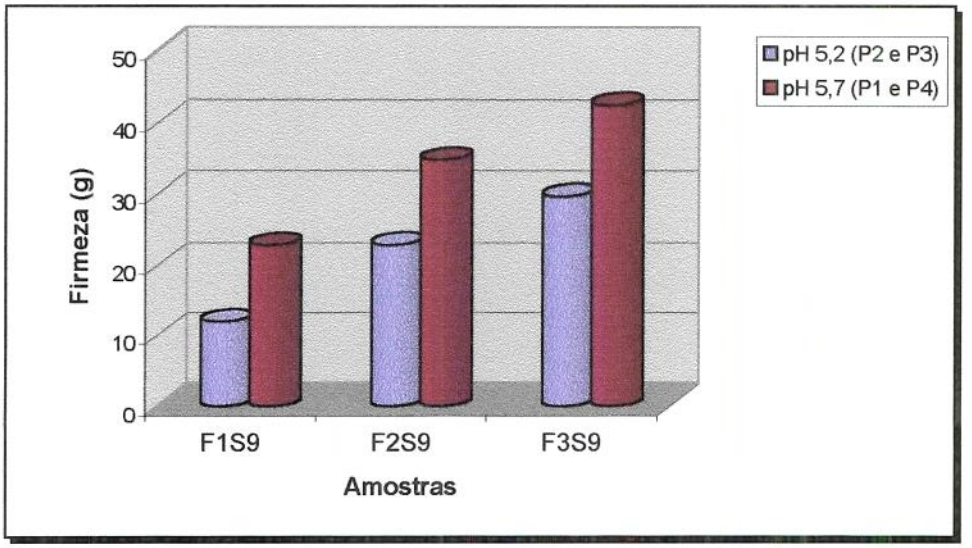

Figura 5.2. Efeito do pH de UF e da adição de CPS na firmeza média dos requeijões obtidos com sal emulsificante JOHA S9. F1S9 (sem adição de CPS), F2S9 (com adição de CPS para aumentar em 50% a relação PS/CAS) e F3S9 (com adição de CPS para aumentar em 100% a relação PS/CAS).

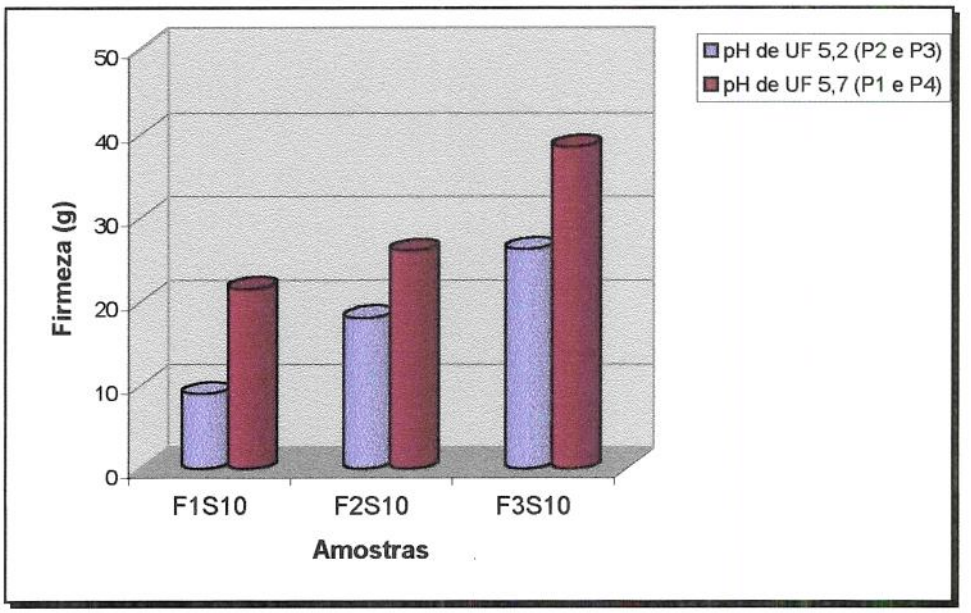

Figura 5.3. Efeito do pH de UF e da adição de CPS na firmeza média dos requeijões obtidos com sal emulsificante JOHA S10. F1S10 (sem adição de CPS), F2S10 (com adição de CPS para aumentar em 50% a relação PS/CAS) e F3S10 (com adição de CPS para aumentar em 100% a relação PS/CAS).

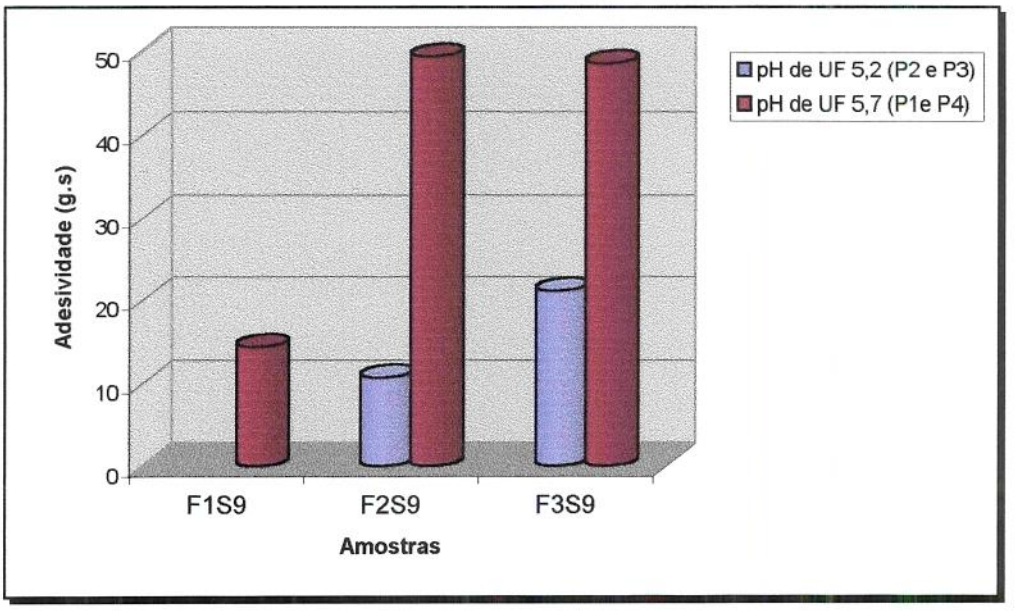

Figura 5.4. Efeito do pH de UF e da adição de CPS na adesividade média dos requeijões obtidos com sal emulsificante JOHA S9. F1S9 (sem adição de CPS), F2S9 (com adição de CPS para aumentar em 50% a relação PS/CAS) e F3S9 (com adição de CPS para aumentar em 100% a relação PS/CAS).

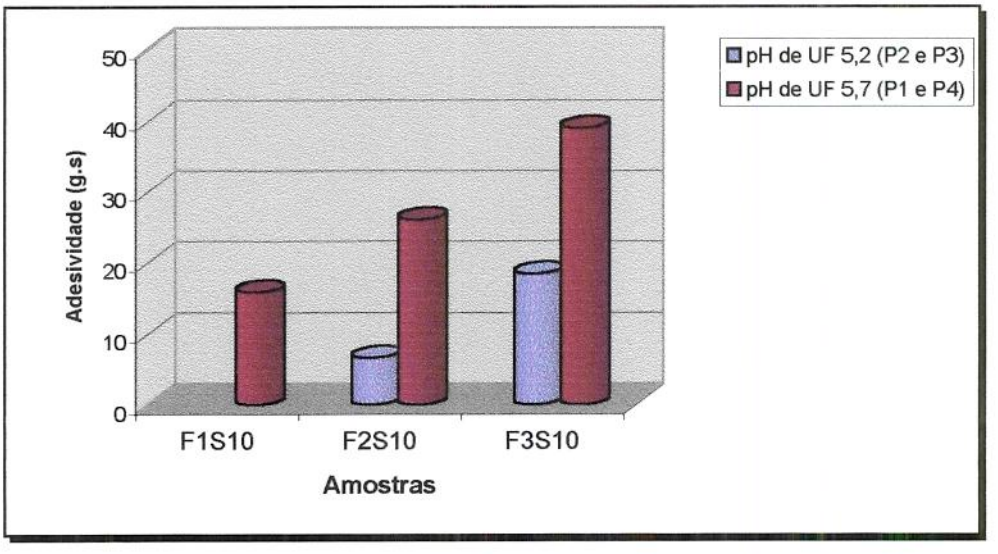

Figura 5.5. Efeito do pH de UF e da adição de CPS na adesividade média dos requeijões obtidos com sal emulsificante JOHA S10. F1S10 (sem adição de CPS), F2S10 (com adição de CPS para aumentar em 50% a relação PS/CAS) e F3S10 (com adição de CPS para aumentar em 100% a relação PS/CAS).

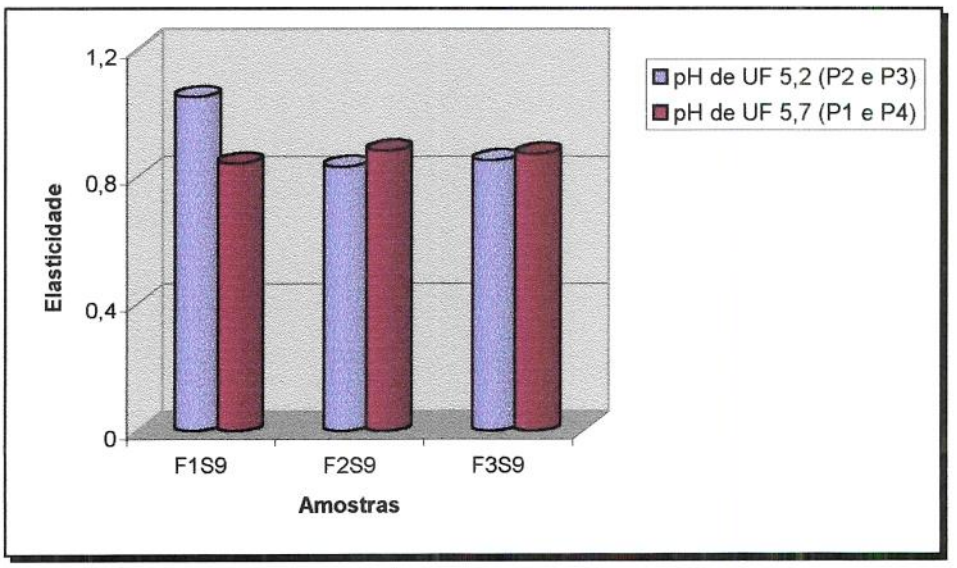

Figura 5.6. Efeito do pH de UF e da adição de CPS na elasticidade média dos requeijões obtidos com sal emulsificante JOHA S9. F1S9 (sem adição de CPS), F2S9 (com adição de CPS para aumentar em 50% a relação PS/CAS) e F3S9 (com adição de CPS para aumentar em 100% a relação PS/CAS).

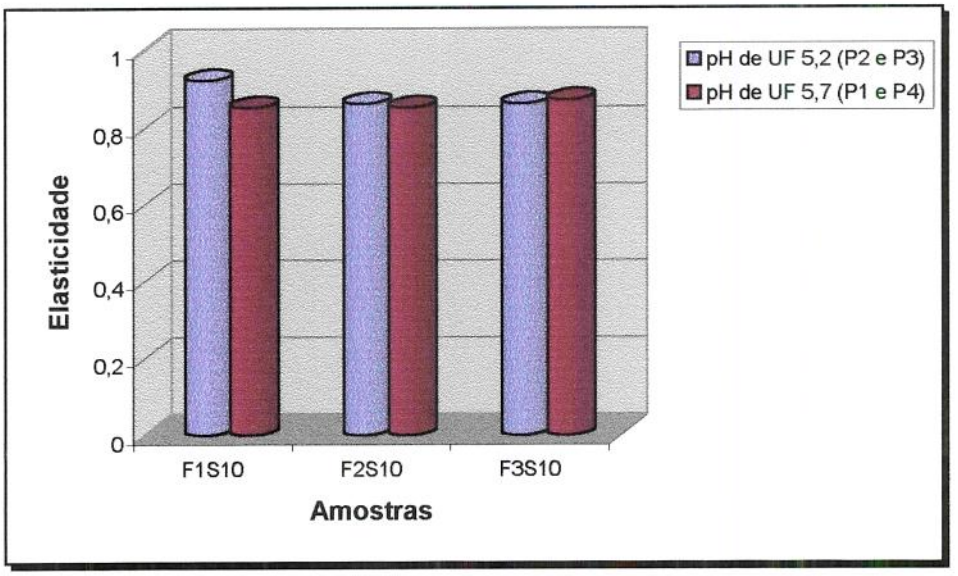

Figura 5.7. Efeito do pH de UF e da adição de CPS na elasticidade média dos requeijões obtidos com sal emulsificante JOHA S10. F1S10 (sem adição de CPS), F2S10 (com adição de CPS para aumentar em 50% a relação PS/CAS) e F3S10 (com adição de CPS para aumentar em 100% a relação PS/CAS).

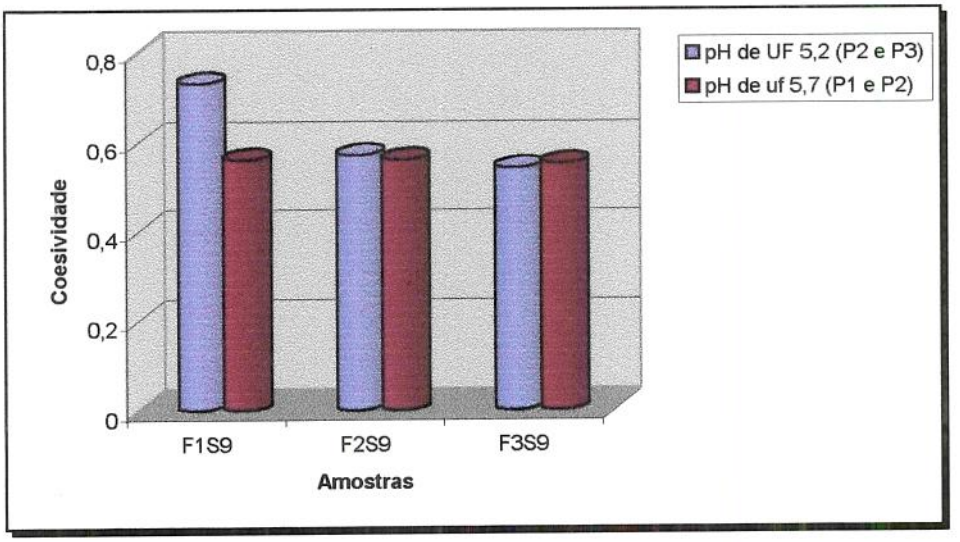

Figura 5.8. Efeito do pH de UF e da adição de CPS na coesividade média dos requeijões obtidos com sal emulsificante JOHA S9. F1S9 (sem adição de CPS), F2S9 (com adição de CPS para aumentar em 50% a relação PS/CAS) e F3S9 (com adição de CPS para aumentar em 100% a relação PS/CAS).

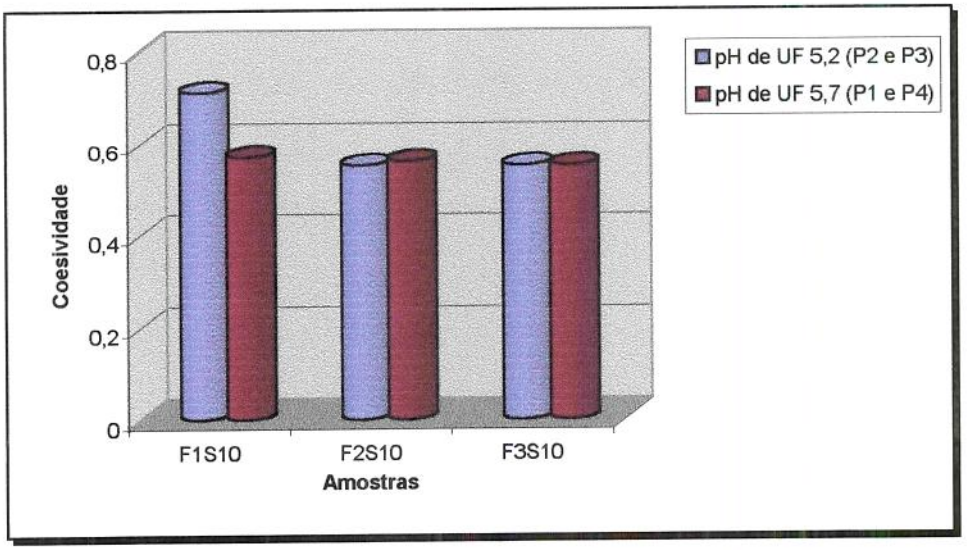

Figura 5.9. Efeito do pH de UF e da adição de CPS na coesividade média dos requeijões obtidos com sal emulsificante JOHA S10. F1S9 (sem adição de CPS), F2S10 (com adição de CPS para aumentar em 50% a relação PS/CAS) e F3S10 (com adição de CPS para aumentar em 100% a relação PS/CAS).

O tipo de sal emulsificante (p = 0,0202) e a adição de CPS (p = 0,0591) influenciaram significativamente a firmeza dos requeijões obtidos. O pH de UF (p = 0,1124), e as interações pH*sal (p = 0,5309), sal*CPS (p = 0,2192) e pH*CPS (p = 0,9481) não influenciaram significativamente a firmeza dos produtos.

A influência do tipo de sal emulsificante na firmeza dos requeijões é apresentada na Figura 5.10. Observou-se que, independentemente dos outros fatores, com o uso do sal emulsificante JOHA S9 obteve-se um requeijão cremoso aproximadamente 22% mais firme do que quando do uso de sal emulsificante JOHA S10. A firmeza média, removidos os efeitos anteriormente discutido foi 23,14g para o sal emulsificante JOHA S19 e 28,19g para o sal emulsificante JOHA S9.

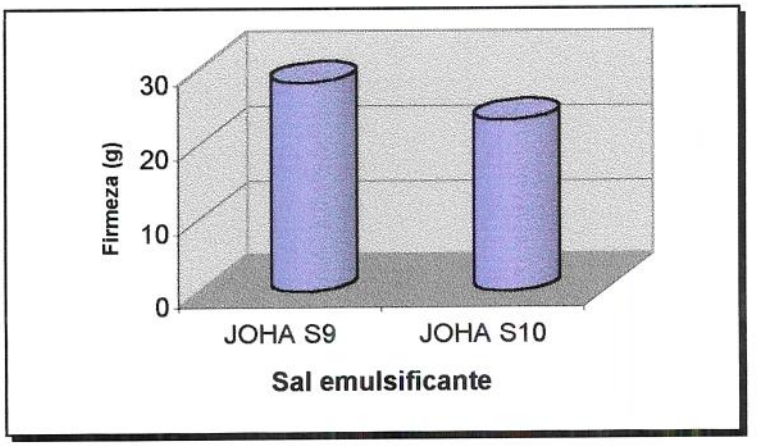

Figura 5.10. Influência do sal emulsificante na firmeza dos requeijões.

De acordo com os dados divulgados pelo fabricante, os sais emulsificantes JOHA S9 e S10 são misturas, com teores variados, de diversos polifosfatos e possuem características diferenciadas quanto à capacidade tamponante, poder de desintegração da proteína e efeito emulsificante. O sal S10 tem maiores poder de desintegração da proteína e efeito cremificante. Estas características resultam em diferentes capacidades de penetrar nos espaços intermicelares e de seqüestrar e complexar cálcio dos sistemas protéicos, promovendo diferentes graus de desagregação e de possibilidade de hidratação das proteínas do sistema. Provavelmente, estas características são responsáveis pela diferença de firmeza apresentada pelos requeijões quando do uso de um ou outro sal, mantidas constantes as demais condições.

A influência da adição de CPS na firmeza dos requeijões é apresentada na Figura 5.11. Independente dos outros fatores, a adição de CPS de forma a aumentar a relação PS/CAS em 50% resultou num aumento de 54% na firmeza do requeijão cremoso. Quando uma nova porção de CPS foi adicionada, de modo a aumentar em mais 50% a relação PS/CAS, também observou-se um aumento na firmeza dos produtos, porém de 25%. A firmeza média, removidos os efeitos já discutido, foi 17,27g quando fabricou-se requeijão sem adição de CPS, 26,61g quando se adicionou CPS de forma a aumentar em 50% a relação PS/CAS e 33,11g quando se adicionou CPS de forma a aumentar em 100% a relação PS/CAS, em relação a fabricação sem adição de CPS.

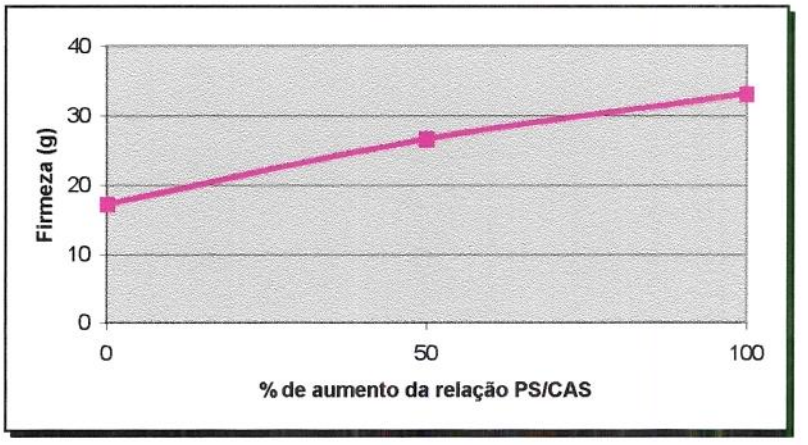

Figura 5.11. Influência da adição de CPS na firmeza dos requeijões

O aumento da firmeza observada nos produtos adicionados de CPS está, provavelmente, relacionado com a desnaturação das proteínas do soro e conseqüente aumento do seu poder de hidratação; com a formação do complexo β-lactoglobulina/κ-caseína e com a competição pela água entre as proteínas do soro e a caseína. Este conjunto de fatores resulta num sistema com menor liberdade de movimentos das partículas que o compõe, fenômeno bem conhecido nos sistemas lácteos evidenciado, por exemplo, no aumento de viscosidade que se observa no leite aquecido a temperatura maior que 90°C.

O pH de UF não influenciou significativamente ($p = 0,1124$) a firmeza dos requeijões, entretanto, afetou seu teor de cálcio (90,33mg Ca/100g de requeijão no pH 5,2 e 160,08mg Ca/100g de requeijão no pH 5,7). A não influência deste conjunto de fatores na firmeza do requeijão poderia indicar que o maior teor de Ca removido na UF a menor pH, poderia ser oriundo das porções micelares mais externas e menos envolvidos nas interações micelares.

A avaliação do influência do pH de UF, da adição de CPS e do tipo de sal emulsificante , bem como de suas interações, na adesividade dos requeijões obtidos, foi feita após a remoção do efeito das covariáveis (composição protéica do retentado, %EST e %GES), como já discutido.

Somente o pH de UF influenciou significativamente (p = 0,0186) a adesividade dos requeijões obtidos. Os demais fatores, adição de CPS (p = 0,9749), tipo de sal emulsificante (p = 0,4421), bem como suas interações, pH*CPS (p = 0,6177), pH*sal (p = 0,2411), sal*CPS (p = 0,5117) e pH*sal*CPS (p = 0,2951) não tiveram efeito significativo sobre a adesividade dos requeijões obtidos.

A influência do pH de UF na adesividade dos requeijões é apresentada na Figura 5.12. Observou-se que independentemente dos outros fatores, a mudança do pH de UF causa uma drástica variação na adesividade dos produtos obtidos, que foi aproximadamente 153% maior quando a UF foi conduzida a pH 5,7. A adesividade média, removido os efeitos das covariáveis, foi -15,52g.s no pH de UF 5,2 e -39,33g.s no pH de UF 5,7.

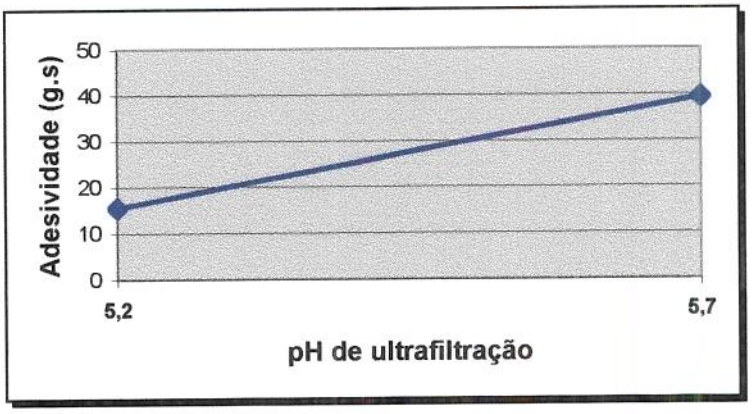

Figura 5.12. Influência do pH de UF na adesividade dos requeijões.

5.5. EFEITO DO pH DE UF, DA ADIÇÃO DE CPS E DO TIPO DE SAL EMULSIFICANTE NA CAPACIDADE DE DERRETIMENTO

A Tabela 5.10 apresenta o fluxo de queijo obtido no teste de derretimento para as amostras dos processamentos P1, P2, P3 e P4, bem como os coeficientes de variação das determinações feitas em triplicata.

Tabela 5.10. Valores médios do fluxo de queijo (mm) e coeficientes de variação (CV) dos fluxos das amostras obtidas nos processamentos P1, P2, P3 e P4.

Amostras	Fluxo de queijo (mm)	CV (%)
P1 (pH 5,7)		
P1F1S9	82,33	7,81
P1F1S10	79,00	8,86
P1F2S9	49,00	3,53
P1F2S10	54,33	3,83
P1F3S9	39,33	3,88
P1F3S10	44,33	1,30
P2 (pH 5,2)		
P2F1S9	170,00	4,16
P2F1S10	180,00	3,93
P2F2S9	86,33	4,07
P2F2S10	71,67	4,93
P2F3S9	97,67	2,13
P2F3S10	82,33	2,53
P3 (pH 5,2)		
P3F1S9	186,50	0,38
P3F1S10	183,00	--
P3F2S9	114,67	0,50
P3F2S10	108,33	1,92
P3F3S9	68,00	2,55
P3F3S10	73,67	7,48
P4 (pH 5,7)		
P4F1S9	86,67	5,69
P4F1S10	80,00	3,75
P4F2S9	60,67	1,90
P4F2S10	79,33	3,85
P4F3S9	61,33	1,88
P4F3S10	59,33	0,97

O efeito do pH de UF e da adição de CPS na característica média de derretimento das amostras, obtidas para a repetição dos experimentos (P1 e P4, P2 e P3),com sal emulsificante JOHA S9 e S10 é apresentado nas Figuras 5.13 e 5.14, respectivamente.

A avaliação do influência do pH de UF, da adição de CPS e do tipo de sal emulsificante, bem como de suas interações, na capacidade de derretimento dos requeijões, foi feita após a remoção do efeito das covariáveis (composição protéica do retentado, %EST e %GES), como já discutido.

A adição de CPS influenciou significativamente ($p = 0,0244$) a capacidade de derretimento das amostras, entretanto, esse efeito não deve ser avaliado individualmente uma vez que a interação do pH de UF e adição de CPS (pH*CPS) também influenciou significativamente ($p = 0,0253$) a capacidade de derretimento das amostras. Os demais fatores, pH ($p = 0,2298$), tipo de sal emulsificante ($p = 0,6995$), bem como as interações pH*sal ($p = 0,1595$), sal*CPS ($p = 0,9295$) não foram significantes.

O efeito da porcentagem de aumento da relação PS/CAS e diferentes pH de UF na capacidade de derretimento dos produtos obtidos é apresentado na Figura 5.15. Observou-se que a adição de CPS em quantidade que permita um aumento de 50% na relação inicial PS/CAS, diminuiu a capacidade de derretimento da amostra (representada pela redução do fluxo de queijo). Entretanto, este efeito foi mais acentuado no pH 5,2 do que no pH 5,7. No pH 5,2 o fluxo de queijo foi reduzido em aproximadamente 79%, passando de 173,90 para 97,22mm. Já no pH 5,7, esta relação foi de aproximadamente 32%, passando de 80,44 para 60,97mm.

O mesmo efeito pode ser observado, porém em menor proporção, quando se adicionou uma nova porção de CPS de forma a aumentar em mais 50% a relação PS/CAS. Nos dois níveis de pH observou-se uma redução do fluxo de queijo, porém neste caso de aproximadamente 16% para o pH 5,2 e 14% para o pH 5,7.

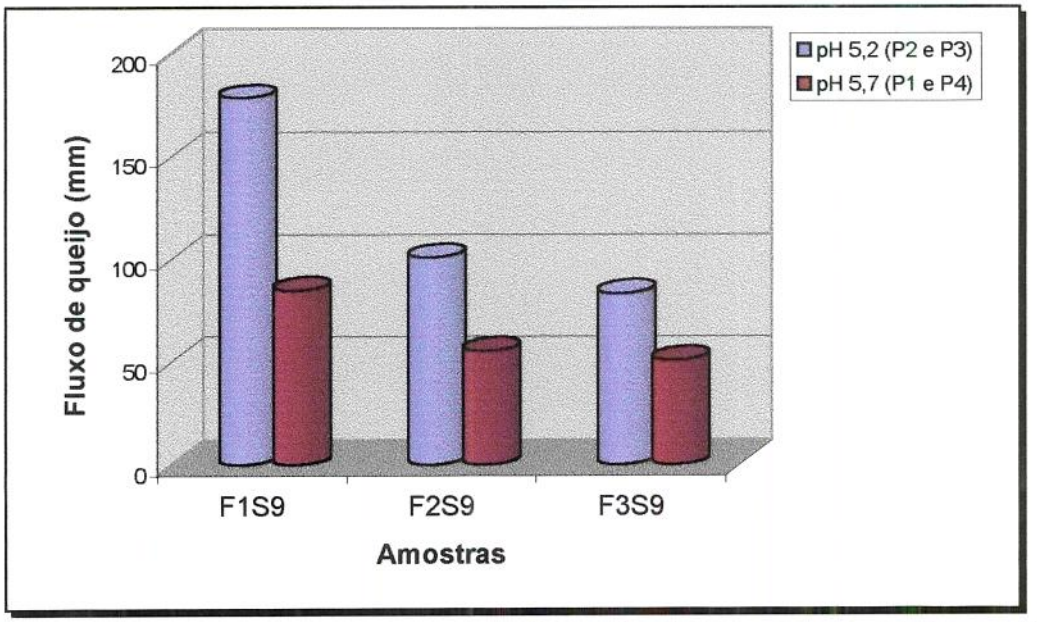

Figura 5.13. Efeito do pH de UF e da adição de CPS na capacidade média de derretimento nos requeijões obtidos com sal emulsificante JOHA S9. F1S9 (sem adição de CPS), F2S9 (com adição de CPS para aumentar em 50% a relação PS/CAS), F3S9 (com adição de CPS para aumentar em 100% a relação PS/CAS).

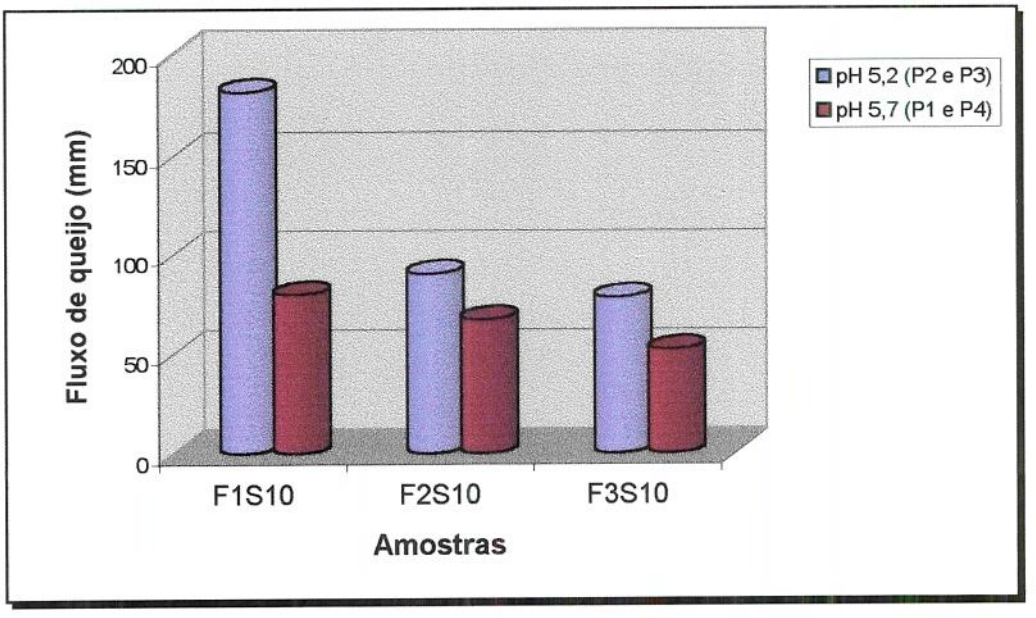

Figura 5.14. Efeito de pH de UF e da adição de CPS na capacidade média de derretimento dos requeijões obtidos com sal emulsificante JOHA S10. F1S10 (sem adição de CPS), F2S10 (com adição de CPS para aumentar em 50% a relação PS/CAS) e F3S10 (com adição de CPS para aumentar em 100% a relação PS/CAS).

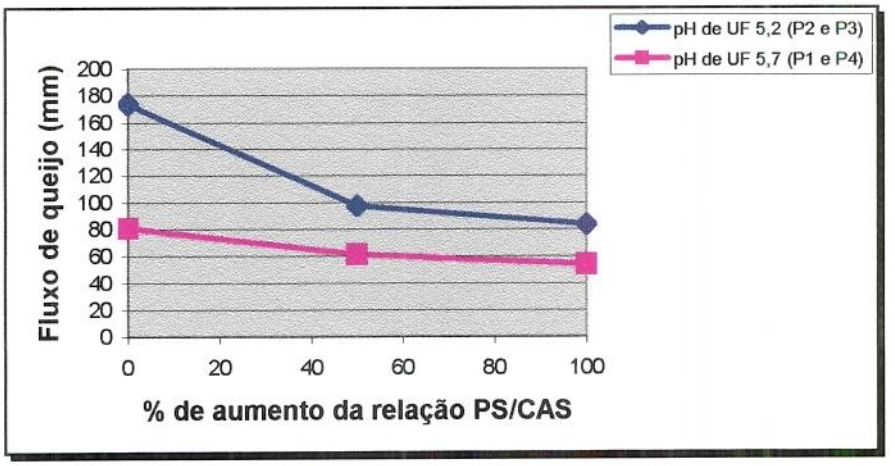

Figura 5.15. Efeito da porcentagem de aumento da relação PS/CAS a diferentes pH na capacidade de derretimento dos produtos obtidos.

A diminuiçao da capacidade de derretimento observada quando se adiciona CPS pode estar relacionada com o fato de que com o aumento da concentração de CPS nas formulações houve uma concomitante diminuição da concentração relativa das proteínas caseicas, que são as principais responsáveis pelas propriedades de fusão dos queijos.

Diversos autores (ERNSTRON *et al.*, 1980; SAVELLO *et al.*, 1989; KALÁB *et al.*, 1991; GUPTA & REUTER, 1992, 1993) observaram que a capacidade de derretimento é negativamente afetada pela presença de proteínas do soro no produto. Entretanto, a diminuição da capacidade de derretimento não pode ser atribuída a um simples constituinte ou condição de processo. Tipo de caseína, concentração de cálcio, concentração de proteínas do soro, tipo e quantidade de sal emulsificante e condições de pH são fatores que afetam o derretimento dos queijos.

5.6. EFEITO DO pH DE UF, DA ADIÇÃO DE CPS E DO TIPO DE SAL EMULSIFICANTE NA COR

Embora a cor seja definida através de uma escala tridimensional (L*, a*, b*), para a avaliação do requeijão cremoso somente os parâmetros L* (luminosidade, variando do branco ao negro) e b* (+b, amarelo e –b, azul) foram utilizados. Observa-se na Tabela 5.11, que apresenta os valores médios da avaliação instrumental da cor das amostras obtidas nos processamentos P1, P2, P3 e P4, que os valores de a* (+a, vermelho e –a, verde) são muito baixos, o que indicou uma variação na região cinza do sólido de cores e, portanto, nada indicaram sobre a cor do produto.

Tabela 5.11. Valores médios dos resultados da avaliação instrumental da cor das amostras obtidas nos processamentos P1, P2, P3 e P4.

Amostras	L*		a*		b*	
P1	**Média**	**CV (%)**	**Média**	**CV (%)**	**Média**	**CV (%)**
P1F1S9	82,16	0,46	0,12	35,36	14,67	0,43
P1F1S10	82,00	0,33	0,16	26,52	15,17	0,70
P1F2S9	82,10	0,30	0,17	21,43	15,42	0,50
P1F2S10	81,63	0,09	0,26	2,77	15,83	0,49
P1 F3S9	80,60	0,25	0,21	51,74	15,22	0,42
P1F3S10	81,35	0,14	0,29	2,48	15,97	1,15
P2						
P2F1S9	82,40	0,45	0,04	35,36	13,55	0,89
P2F1S10	82,41	0,08	0,03	28,28	12,75	0,61
P2F2S9	81,56	0,52	0,17	4,29	14,79	0,24
P2F2S10	82,45	0,66	0,16	13,69	15,13	0,70
P2F3S9	81,87	0,24	0,22	3,29	15,42	0,32
P2F3 S10	81,72	0,36	0,22	3,29	15,73	0,72
P3						
P3F1S9	82,69	0,11	0,06	0,00	13,47	0,10
P3F1S10	79,78	0,04	0,20	0,00	12,96	0,05
P3F2S9	81,23	0,00	0,02	0,00	14,50	0,10
P3F2S10	81,29	0,37	0,00	0,00	15,16	1,26
P3F3S9	81,64	0,13	0,11	6,73	14,56	0,29
P3F3S10	80,75	0,04	0,07	0,00	15,49	0,14
P4						
P4F1S9	79,87	0,20	0,14	10,10	15,09	0,23
P4F1S10	80,32	0,37	0,12	18,45	16,51	0,51
P4F2S9	78,90	1,49	0,09	0,00	16,26	0,00
P4F2S10	79,71	0,60	0,07	0,00	16,99	0,25
P4F3S9	80,28	0,19	0,06	0,00	15,94	0,27
P4F3S10	79,45	0,25	0,07	10,88	16,78	0,13

Os resultados demonstraram que somente a %GES (p = 0,0261) influenciou significativamente a luminosidade dos produtos. Eliminando-se a influência desta covariável, observou-se que o pH de UF (p = 0,6257), a adição de CPS (p = 0,5287) e o tipo de sal emulsificante (p = 0,5119) não influenciaram significativamente a luminosidade dos produtos obtidos. O mesmo foi observado com relação a interação destas variáveis: pH de UF*sal (p = 0,3272), sal*CPS (p = 0,5013), pH de UF*CPS (p = 0,7477).

A cor amarela (parâmetro b*), característica do requeijão cremoso, foi significativamente influenciada pela %EST e %GES do produto (p = 0,0014 e 0,0001, respectivamente). Eliminando-se a influência destas covariáveis, observou-se que a cor característica do produto foi também influenciada pelo tipo de sal emulsificante utilizado (p = 0,0051) e ela interação das variáveis pH de UF e adição de CPS (p = 0,0205). Os demais fatores, bem como suas interações, pH de UF (p =0,6908), pH de UF*sal (p = 0,4330), sal*CPS (p = 0,1650), pH*sal*CPS (p = 0.0979), não influenciaram significativamente a cor característica do produto.

Observa-se na Figura 5.16, que apresenta a influência do tipo de sal emulsificante na cor do produto, que com o uso do sal JOHA S10 obteve-se produtos ligeiramente mais amarelo do que com o uso do sal JOHA S9 (b* =15,38 e 14,9 para JOHA S10 e S9, respectivamente).

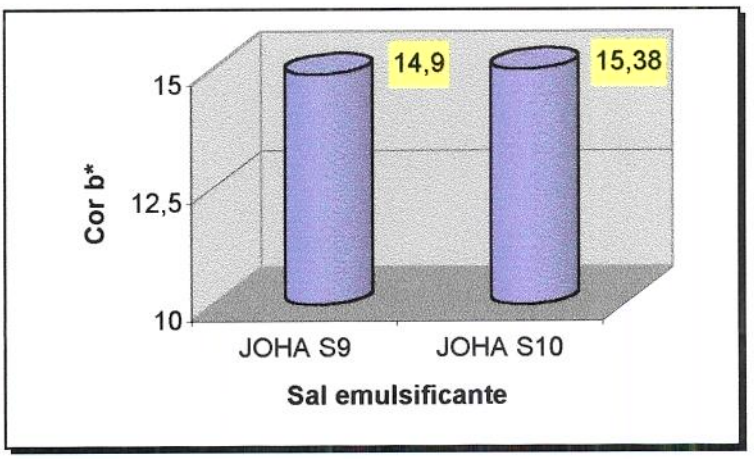

Figura 5.16. Influência do sal emulsificante na cor b* (amarela) dos produtos.

Observa-se na Figura 5.17, que apresenta a influência da interação pH*CPS na cor amarela do produto, que quando adicionou-se CPS de forma a aumentar em 50% a relação PS/CAS obteve-se um produto ligeiramente mais amarelo (aumento no valor de b*). Este aumento foi de 4% no pH 5,7 e de 10% no pH 5,2. Porém, quando adicionou-se CPS para aumentar em mais 50% a relação PS/CAS, observou-se um comportamento diferente nos dois pH. No pH 5,7 o produto tornou-se ligeiramente menos amarelo (redução de 2% no valor de b*) e no pH 5,2, ligeiramente mais amarelo (aumento de 1,5 no valor de b*).

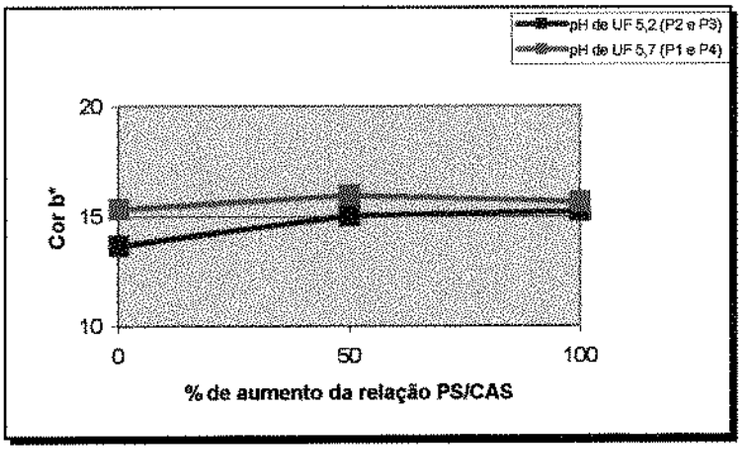

Figura 5.17. Interação pH*CPS na cor b* (amarela) dos produtos.

Escurecimento por reação de Maillard ou caramelização que, segundo MEYER (1973) e FURTADO & LOURENÇO NETO (1994), são defeitos comuns quando do uso de condições não adequadas de processamento ou de matéria prima com muita lactose; ou provenientes da adição de CPS que, segundo MORR (1979), contém níveis variáveis de *off flavor* e cor, presumivelmente derivados da reação de Maillard e deterioração do lípide residual durante a estocagem, não foram observados.

5.7. AVALIAÇÃO DO PERFIL ELETROFORÉTICO DAS PROTEÍNAS

Observou-se nas Figuras 5.18 e 5.19, que apresentam o perfil eletroforérico do retentado e dos requeijões obtidos nos processamentos P1 (pH de UF 5,7) e P3 (pH de UF 5,2), respectivamente, que os diferentes tratamentos para a obtenção dos requeijões não alteraram o comportamento eletroforético das proteínas. Os principais componentes da fração caséica (β-caseína e α-caseína), são claramente visíveis.

Os produtos derivados da β-caseína (γ_1, γ_2 e γ_3-caseína), via hidrólise pós-secreção por proteinases do leite (FOX & MULVIHILL, 1982), também podem ser observados nas Figuras 5.18 e 5.19. Não se observou diferença entre estes produtos nos processamentos P1 (pH de UF 5,7) e P3 (pH de UF 5,2). Considerando que não se determinou o perfil eletroforético das proteínas do leite utilizado, não se pode avaliar a influência dos tratamentos utilizados na presença dos produtos derivados da β-caseína.

A formação do complexo β-lactoglobulina/κ-caseína é evidente em todos os tratamentos. Este complexo localiza-se, na separação eletroforética, entre as bandas correspondentes às frações β e α-caseínas. Mesmo nos tratamentos onde não se adicionou o CPS a sua formação é observada. Sabe-se que tratamentos térmicos como pasteurização e esterilização causam alterações na estrutura e propriedades das proteínas do leite, as quais irão influenciar o comportamento funcional e nutricional dessas proteínas. Em temperaturas elevadas, as proteínas do soro se desnaturam e interagem preferencialmente com κ-caseína das micelas de caseína com trocas sulfidrila-dissulfeto entre as proteínas do soro e κ-caseína (SMITS & VAN BROUWERSHAVEN, 1980; SINGH & FOX, 1987; JANG & SWAISGOOD, 1990). Na medida em que aumentou-se a quantidade de CPS, ocorreu um correspondente aumento da formação do complexo β-lactoglobulina/κ-caseína.

Os resultados sugerem que não houve influência dos sais emulsificantes nas características eletroforéticas das proteínas existentes no sistema. O mesmo foi observado por RICE *et al.* (1996) e RAPACCI (1997).

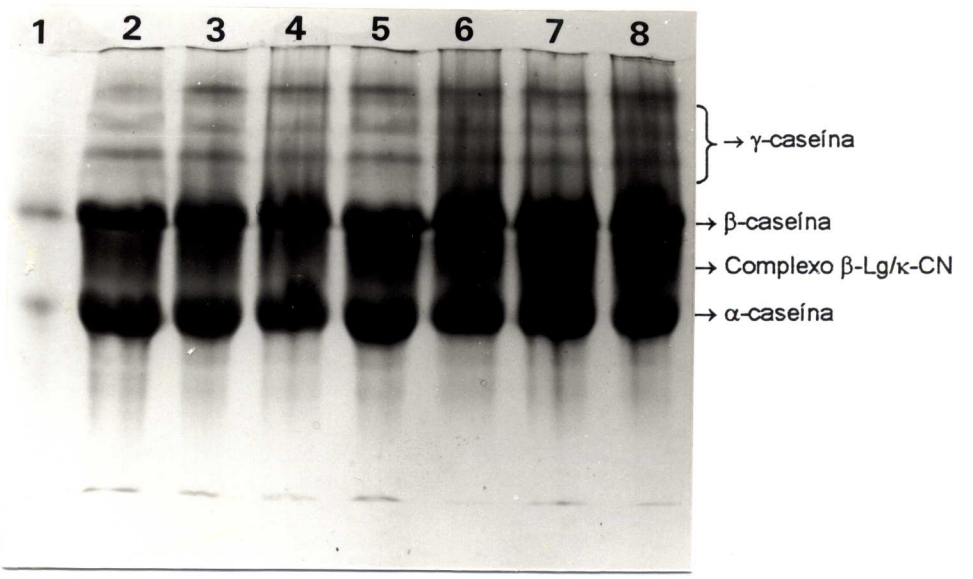

Figura 5.18. Perfil eletroforético do retentado e dos requeijões obtidos no processamento P1. (Banda 1: padrão de α e β-caseínas; banda 2: retentado; banda 3: P1F1S9, banda 4: P1F1S10, banda 5: P1F2S9; banda 6: P1F2S10; banda 7: P1F3S9; banda 8: P1F3S10).

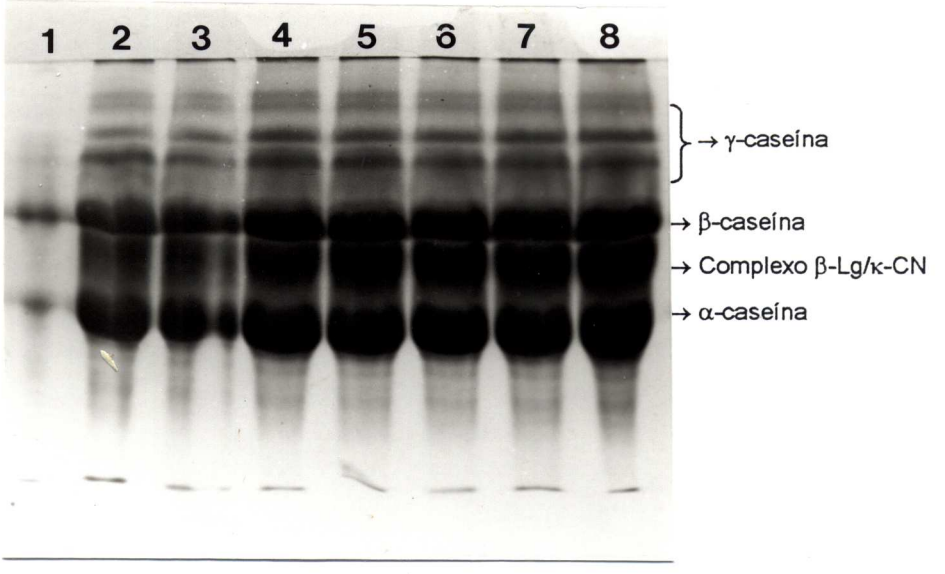

Figura 5.19. Perfil eletroforético do retentado e dos requeijões obtidos no processamento P3. (Banda 1: padrão de α e β-caseínas; banda 2: retentado; banda 3: P3F1S9, banda 4: P3F1S10, banda 5: P3F2S9; banda 6: P3F2S10; banda 7: P3F3S9; banda 8: P3F3S10).

5.8. AVALIAÇÃO SENSORIAL

5.8.1 LEVANTAMENTO DOS TERMOS SENSORIAIS

Dos 70 consumidores pesquisados, 4 (5,7%) não consumiam requeijão e 66 (94,3%) eram consumidores. Destes, 27,3% consumiam o produto diariamente, 25,8% duas vezes por semana, 13,6% uma vez por semana, 18,2% uma vez a cada 15 dias e 12,1% uma vez por mês. Os demais, 3,0% dos consumidores, informaram que a freqüência de consumo era variável e dependente de fatores pessoais.

Os termos utilizados pelo consumidor para descrever o produto foram relativos a aparência, sabor, odor e textura e são apresentados na Tabela 5.12, juntamente com o número de vezes em que foram citados.

Com base nos termos utilizados pelos consumidores para descrever o produto definiu-se que os atributos avaliados seriam aceitação global, sabor, espalhabilidade, cremosidade, firmeza e cor.

5.8.2 AVALIAÇÃO DE ACEITABILIDADE

Os resultados da avaliação sensorial dos produtos obtidos no processamento P1 são apresentados na Tabela 5.13.

Quanto a aceitação global (quanto você gostou ou desgostou do produto), as amostras apresentaram médias entre 6 (gostei ligeiramente) e 7 (gostei moderadamente) da escala hedônica. As amostras P1F3S9 e P1F3S10 apresentaram as maiores médias, 7,10 e 7,30 respectivamente, diferindo significativamente ($p \leq 0,05$) da amostra P1F1S9, que obteve a menor média (6,12), porém não diferindo das demais amostras (P1F1S10, P1F2S9 e P1F2S10).

Tabela 5.12. Termos utilizados pelo consumidor para descrever o requeijão.

		Número de Citações
Aparência	Cor branca, clara, suave, amarelada, amarelo claro branco amarelado, branco leitoso, creme, marfim	36
	Homogêneo, liso	8
	Brilhante	7
	Presença ou ausência de soro, de bolhas, de água na superfície	5
Sabor	Característico, suave, ácido, adocicado, azedo, amargo	23
	Salgado, levemente salgado	12
	Sabor de queijo, de queijo fresco, de queijo fundido	10
	Sabor estranho, de plástico, químico, de sabão	4
Odor	Característico, de nada, de leite, cheiroso	12
Textura	Cremoso, cremosidade	48
	Espalhável, pastoso, para untar	22
	Firme, viscoso, mole, duro, consistente, não escorre na faca, espesso	21
	Grudento, solta da faca após espalhar, puxa quando espalha	4
	Textura amanteigada	4
	Macio	4
	Derrete na boca	1

Quanto ao sabor as amostras também apresentaram notas entre 6 (gostei ligeiramente) e 7 (gostei moderadamente) da escala. As amostras P1F3S9 e P1F3S10 apresentaram as maiores médias, 7,30 e 7,14 respectivamente, diferindo significativamente ($p \leq 0,05$) das amostras P1F1S9 e P1F2S10 que obtiveram médias 6,10 e 6,56 respectivamente, porém não diferindo das demais amostras.

Nos atributos espalhabilidade, cremosidade e firmeza observou-se que as amostras P1F3S9 e P1F3S10, que apresentaram as maiores médias, não diferiram significativamente entre si, porém, diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) das demais amostras.

Tabela 5.13. Resultados da avaliação sensorial dos produtos obtidos no processameto P1.

Amostras	Atributos Avaliados*					
	Aceitação global	Sabor	Espalhabilidade	Cremosidade	Firmeza	Cor
P1F1S9	$6,12^{b}$	$6,10^{c}$	$5,60^{c}$	$5,80^{c}$	$5,36^{c}$	$6,74^{a}$
P1F1S10	$6,68^{ab}$	$6,68^{abc}$	$6,22^{bc}$	$6,72^{b}$	$6,14^{bc}$	$7,20^{a}$
P1F2S9	$6,62^{ab}$	$6,62^{abc}$	$6,78^{b}$	$6,64^{b}$	$6,70^{b}$	$7,16^{a}$
P1F2S10	$6,68^{ab}$	$6,56^{bc}$	$6,38^{b}$	$6,68^{b}$	$6,42^{b}$	$7,12^{a}$
P1F3S9	$7,10^{a}$	$7,30^{a}$	$7,86^{a}$	$7,78^{a}$	$7,76^{a}$	$7,06^{a}$
P1F3S10	$7,30^{a}$	$7,14^{ab}$	$7,86^{a}$	$7,76^{a}$	$7,60^{a}$	$6,96^{a}$

*Médias com a mesma letra na vertical não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Pode-se observar na Tabela 5.13 que não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as amostras no atributo cor.

Observou-se que a amostra P1F1S9 apresentou as menores médias em todos os atributos, enquanto as amostras P1F3S9 e P1F3S10 apresentaram as maiores média em todos os atributos.

Uma análise dos comentários dos provadores indicou uma boa aceitação de todas as amostras, o que também pode ser observado na Tabela 5.14 que apresenta as porcentagens de aprovação e rejeição com relação a aceitação global das amostras.

Comentários como: "todas as amostras são ótimas", "todas boas e saborosas" ou "amostras saborosas e com ótima aparência" foram comuns. Por outro lado, foi também praticamente unânime o comentário sobre o teor de sal das amostras, que foram consideradas salgadas pelos provadores.

Tabela 5.14. Porcentagem de aprovação e rejeição das amostras do processamento P1.

Amostra	Aceitação Global	
	% de Aprovação*	% de Rejeição**
P1F1S9	70	24
P1F1S10	80	12
P1F2S9	80	14
P1F2S10	82	16
P1F3S9	88	8
P1F3S10	94	4

* Nota maior do que 5 na escala hedônica
** Nota menor do que 5 na escala hedônica

A avaliação sensorial do processamento P3 foi realizada apenas com 4 amostras (P3F2S9, P3F2S10, P3F3S9 e P3F3S10). As amostras P3F1S9 e P3F1S10, produtos obtidos pela fusão do retentado sem adição de CPS, apresentaram-se muito fluidas, sem características similares aos produtos comerciais. Por isso não foram incluídas na avaliação. A opção de não apresentá-las aos provadores foi em função de não supervalorizar as demais amostras. Embora o teste não tenha a intenção de compará-las, as amostras foram apresentadas 3 a 3, e, comparações por parte dos provadores são inevitáveis.

A Tabela 5.15 apresenta os resultados da avaliação sensorial dos produtos obtidos no processamento P3.

Quanto a aceitação global (quanto você gostou ou desgostou do produto) as amostras apresentaram médias próximas de 6 (gostei ligeiramente) e 7 (gostei moderadamente) da escala hedônica. As amostras P3F3S9 e P3F3S10 apresentaram as maiores médias, 7,37 e 7,35 respectivamente, diferindo significativamente ($p \leq 0,05$) das demais amostras e não diferindo entre si.

Tabela 5.15. Resultados da avaliação sensorial dos produtos obtidos no processamento P3.

Amostras	Atributos Avaliados*					
	Aceitação global	Sabor	Espalhabilidade	Cremosidade	Firmeza	Cor
P3F2S9	6,33^{b}	6,18^{b}	6,26^{b}	6,28^{b}	5,62^{b}	7,90^{a}
P3F2S10	6,59^{b}	6,72^{ab}	6,28^{b}	6,10^{b}	5,14^{b}	7,60^{a}
P3F3S9	7,37^{a}	7,00^{a}	7,60^{a}	7,48^{a}	7,20^{a}	7,58^{a}
P3F3 S10	7,35^{a}	7,00^{a}	7,72^{a}	7,64^{a}	7,46^{a}	7,08^{b}

*Médias com a mesma letra na vertical não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

O mesmo pode ser observado quanto aos atributos espalhabilidade, cremosidade e firmeza. Nestes atributos as amostras P3F3S9 e P3F3S10 apresentaram as maiores médias, não diferiram entre si e diferiram significativamente ($p < 0,05$) das demais amostras.

Quanto ao sabor as amostras também apresentaram notas entre 6 e 7. A amostra P3F2S9, que obteve a menor média (6,18), não diferiu da amostra P3F2S10 que apresentou média igual a 6,72 e diferiu significativamente ($p \leq 0,05$) das amostras P3F3S9 e P3F3S10 que apresentaram ambas média 7. As amostras P3F2S10, P3F3S9 e P3F3S10 não diferiram significativamente entre si.

Na avaliação da cor observou-se que a amostra P3F3S10 apresenta a menor média (7,08) e difere significativamente ($p \leq 0,05$) das demais amostras, as quais não diferiram entre si.

Os comentários dos provadores também indicaram uma boa aceitação das amostras que pode ser observada na Tabela 5.16 que apresenta as porcentagens de aprovação e rejeição das amostras. Também neste caso os provadores consideram todas as amostras salgadas.

Tabela 5.16. Porcentagem de aprovação e rejeição das amostras obtidas no processamento P3.

Amostra	Aceitação Global	
	% de Aprovação*	% de Rejeição*
P3F2S9	77,55	14,28
P3F2S10	85,71	10,22
P3F3S9	97,95	2,04
P3F3S10	95,91	0,00

* Nota maior do que 5 na escala hedônica
** Nota menor do que 5 na escala hedônica

A avaliação instrumental indicou que a adição de CPS provocou um aumento na firmeza do produto. Na avaliação sensorial, observou-se que houve um aumento das médias do atributo firmeza (quanto gostou ou desgostou da firmeza do produto) com a adição de CPS. As amostras P1F3S9, P1F3S10, P3F3S9 e P3F3S10 (adição de CPS para aumentar em 100% a relação PS/CAS) obtiveram médias significativamente maiores, indicando a preferência do consumidor pelo produto mais firme.

A avaliação instrumental indicou que o tipo de sal emulsificante afetou a firmeza do produto, que se apresentou mais firme com o uso do sal JOHA S9. Sensorialmente, amostras com o mesmo aumento da relação PS/CAS e diferentes tipos de sais, não apresentaram diferença significativa na firmeza (Tabelas 5.13 e 5.15). Estes resultados indicam que a influência do tipo de sal emulsificante na firmeza observada instrumentalmente não foi observada sensorialmente.

Apesar de se ter observado instrumentalmente a influência do tipo de sal emulsificante e da interação pH*CPS na cor dos produtos, os resultados da avaliação sensorial não indicaram diferença significativa nas médias da cor dos produtos do processamento P1 (pH 5,7). Entretanto, a amostra P3F3S10, do processamento P3 (pH 5,2) obteve média significativamente menor que as demais, porém ainda um bom resultado, pois a média 7,08 corresponde a gostei moderadamente na escala hedônica.

6. CONCLUSÕES

- Os resultados obtidos demonstraram a viabilidade do uso de retentado de leite pré-acidificado, adicionado de CPS, na fabricação do requeijão cremoso;
- Nos retentados obtidos nos dois níveis de pH obteve-se 100% de retenção da gordura e 99% de retenção da proteína. No pH 5,2 observou-se uma menor retenção de Ca, P e cinzas. Os requeijões obtidos nos processamentos a pH 5,2, consequentemente, apresentaram menor conteúdo de Ca;
- A adição de CPS de forma a aumentar a relação de PS/CAS do retentado em 50 e 100% resultou no aumento da firmeza e na diminuição da capacidade de derretimento dos produtos. A maior redução na capacidade de derretimento foi observada quando o leite foi pré-acidificado a pH 5,2;
- O tipo de sal emulsificante influenciou a firmeza dos produtos. Os produtos obtidos com sal JOHA S9 apresentaram maior firmeza do que os obtidos com o sal S10. A avaliação sensorial indicou que a aceitabilidade da firmeza não foi influenciada pelo tipo de sal emulsificante;
- O pH de UF influenciou significativamente a adesividade do produto que foi maior a pH 5,7;
- O tipo de sal emulsificante e a interação pH de UF*CPS influenciaram a cor do produto. A avaliação sensorial indicou uma boa aceitabilidade da cor em todos os produtos.
- Os diferentes tratamentos não alteraram o comportamento eletroforético das proteínas e foi evidente a formação do complexo β-lactoglobulina/κ-caseína em todos os tratamentos. Não se observou influência dos sais emulsificantes no perfil eletroforético das proteínas existentes no sistema;
- A avaliação sensorial indicou boa aceitabilidade dos produtos quanto a aceitação global, sabor, espalhabilidade, cremosidade, firmeza e cor. Os produtos apresentaram, em todos os atributos, médias entre 6 (gostei ligeiramente) e 8 (gostei muito) da escala hedônica.
- A avaliação sensorial indicou uma excelente porcentagem de aprovação dos produtos. Os produtos adicionados de CPS de forma a aumentar em 100% a relação PS/CAS obtiveram a maior porcentagem de aprovação, que foi em média 94%.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALAIS, C. Ciencia de la leche: principio e tecnica lechera. Barcelona: Compañia Comercial e Editorial Continental, 1970. 539 p.

2. ANUÁRIO ESTATÍSTICO: Matérias-primas e produtos de origem animal. Brasília: Serviço de Inspeção Federal, 1089. 329 p.

3. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJOS. Produção brasileira de produtos lácteos de estabelecimentos sob inspeção federal. São Paulo, 1986.

4. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of AOAC international. 16. ed. Washington, 1995. v. 1-2.

5. ATHERTON, H,V.; NEWLANDER, J. A Chemistry and testing of dairy products. 2. ed., Westport: AVI, 1981. 396 p.

6. BALDWIN, K.A.; BAER, R.J.; PARSONS, J.G.; SEAS, S.W.; SPURGEON, K.R.; TORREY, G.S. Evaluation of yield and quality of cheddar cheese manufactured from milk with added whey protein concentrate. Journal of Dairy Science, Chicago, v. 69, n. 10, p. 2543–2550, 1986.

7. BARBERÁ, R.; FARRÉ, R. ; MESADO, D.. Determination of Cd, Co, Cu, Fe, Pb, Mn, Ni and Zn in diets: development of a method. Die Nahrung, Berlin, v. 35, n. 7, p. 683–687, 1991.

8. BASTIAN, E. D.; COLLINGE, S. K.; ERNSTROM, C. A Ultrafiltration: partitioning of milk constituents into permeate and retentate. Journal of Dairy Science, Chicado, v. 74, p. 2423–2434, 1991.

9. BEATON, N. C. Ultrafiltration and reverse osmosis in dairy industry. And introduction to sanitary considerations. Journal of Food Protection, Ames, v. 42, n. 7, p. 584–590, 1979.

10. BERGER, W.; KLOSTERMEYER, H.; MERKENICH, K. UHLMANN, G. Processed cheese manufacture: a Joha Guide. BK Landenburg, 1989, 238 p.

11. BIRD, J. The application of membrane systems in the dairy industry. Journal of the Society of Dairy Technology, London, v.49, n.1, p.16–23, 1996.

12. BLEY, M.E.; JOHNSON, M.E.; OLSON, N.F. Factors affecting nonenzymatic browning of process cheese. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 68, n. 3, p. 555-561, 1985.

13. BOURNE, M.C. Texture profile Analysis. Food Technology, Chicago, v.32, n.7, p.62–72, 1978.

14. BRASIL. Minstério do Estado da Agricultura e do Abastecimento. Aprova o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de queijo processado ou fundido, processado pasteurizado ou fundido U.H.T. (UAT). Portaria nº 356, de 4 de setembro de 1997. In: Nova legislação de produtos lácteos e de alimentos para fins especiais – diet, light e enriquecido. São Paulo: Fonte Comunicações e Ed., 1998. P. 90-95.

15. BRULÉ, G. ; MAUBOIS, J. L.; FAUQUANT, J. Etude de la teneur en éléments minéraux des produits obtenus lors de l'ultrafiltration du lait sur membrane. Le Lait, Paris, n. 539–540, p. 600–615, 1974.

16. BRULÉ, G.; MAUBOIS, J.-L. VANDEWEGHE, J. FAUQUANT, J.J. GOUDÉDRANCHE, H. Utilization de l'ultrafiltration sur membrane pou la fabrication de fromage de type pâtes fraîches. Revue Laitière Française, Paris, v. 328, p. 117–122, 1975.

17. BRULÉ, G. ; FAUQUANT, J. Mineral balance in skim-milk and milk retentate: effect of physicochemical characteristics of the aqueous phase. Journal of Dairy Research, Cambridge, v. 48, n. 1, p. 91–97, 1981.

18. BUCHBJERG, E. ; DJERRE, P. A process for increasing the capacity of systems for membrane filtration of milk or milk products. UK Patent Application GB 2128464 A, 1984.

19. CAMPOS, S.D.S. Reologia de requeijão e outros queijos fundidos. In: MARTINS, J.F.P. & FERNANDES, A.G. (Ed.), Processamento de requeijão cremoso e outros queijos fundidos, Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1981. cap. 11, p. 1–8.

20. CARIC', M.; GANTAR, M.; KALÁB, M. Effects of emulsifying agents on the microstruture and other characteristics of process cheese. A review. Food Microstructure, Chicago, v. 6, p. 297–312, 1985.

21. CASIRAGHI, E.M.; PERI, C. & PIAZZA, L. Effect of calcium equilibria on the rate of syneresis and on the firmness of curds obtained from milk UF retentates. Milchwissenschaft, Munich, v. 4, n. 42, p.232-235, 1987.

22. CHANDAN, R. Membrane technology – Can ultrafiltration give cheesemakers the cutting edge? Dairy Record, Mount Morris, v. 83, n. 12, p. 144–145, 1982.

23. CHEFTEL, J.-C.; CHEFTEL, H. BESANÇON, P. Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos. Zaragoza: Ed. Acribia, 1989. v. 1–2.

24. CHERYAN, M. Membrane properties. In: CHERYAN, M., Ed. Ultrafiltration Handbook. Lancaster: USA, Technomic, 1986. Cap. 2, p. 27–52.

25. CHIANG, B. H.; CHERYAN, M. Ultrafiltration of skimmilk in hollow fibers . Journal of Food Science, Chicago, v.51, n. 2, p. 340–344, 1986.

26. CONDACK, J. Ultrafiltração de soro de queijos: parâmetros operacionais e utilização do concentrado protéico na fabricação de requeijão cremoso. Viçosa, Faculdade de Engenharia de Alimentos–Universidade Federal de Viçosa, 1993. 120p. Tese de mestrado.

27. COVACEVICH, H. R.; KOSIKOWSKI, F. V. Cream cheese by ultrafiltration. Journal of Food Science, Chicago, v. 42, n. 5, p. 1362–1364, 1372, 1977a.

28. COVACEVICH, H. R.; KOSIKOWSKI, F. V. Skim milk concentration for cheesemaking by alternative ultrafiltration procedures. Journal of Food Science, Chicago, v. 42, n. 5, p. 1359–1361, 1379, 1977b.

29. COVACEVICH, H. R.; KOSIKOWSKI, F. V.. Cottage cheese by ultrafiltration. Journal of Dairy Science, Champagn, v. 61, n. 5, p. 529–535, 1978.

30. DAUFIN, G.; MERIM, U. ;KERHERVER, F.; LABBE, J.; QUEMERAIS, A , BOUSSER, C. Efficiency of cleaning agentes for an inorganic membrane after milk ultrafiltration, Journal of Dairy Research, London, v.59, p.29–38, 1992.

31. DELANEY, H.A.M. Composition, properties and uses of whey protein concentrate, Journal of Society of Dairy Technology, London, v. 29, n. 2, p. 91–101, 1976.

32. DELISA, R. The effect of expectation on sensory perception and acceptance. ThD. Tesis. The University of Reading, UK, 198 p., 1996.

33. DICKINSON, E. Protein-stabilized emulsions. Journal of Food Engineering, Champaign, v. 22, p. 59–74, 1994.

34. DUXBURY, D. D. NDM & WPC – versatile dairy proteins in economical forms. Food Processing, Chicago, v.53, n.5, p.124–128,132, 1992

35. EIGEL, W.N.; BUTLER, J. E.; ERNSTROM, C.A.; FARREL, H.M.; HARWALKAR, V. R.; JENNESS, R.; WHITNEY, R. McL. Nomemclature of proteins of cow's milk: fifth revision. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 67, p. 1599–1631, 1984.

36. ERIKSEN, J. New technology applied to cheese production. Food Technology in New Zealand, Auckland, v. 20, n. 16, p. 29–36, 1985.

37. ERNSTROM, C. A.; SUTHERLAND, B. J.; JAMESON, G. W. Cheese base for processing. A high yeld product from whole milk by ultrafiltration. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 63, n. 2, p. 228–234, 1980.

38. FERNANDES, A. G.; MARTINS, J. F. P. Fabricação de requeijão cremoso a partir de massa obtido por preciptação ácida a quente de leite de búfala e de vaca. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, v. 35, n. 212, p. 7–13, 1980.

39. FERNANDES, A G. Parâmetros fundamentais para processamento de queijos fundidos. In: MARTINS, J.F.P.; FERNANDES, A.G. (Ed.). Processamento de requeijão cremoso e outros queijos fundidos. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1981* cap.5, p. 1–11.

40. FERNANDES, A G. Sais emulsificantes In: MARTINS, J.F.P.; FERNANDES, A.G. (Ed.). Processamento de requeijão cremoso e outros queijos fundidos. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1981b. cap.4, p.1–7.

41. FERNANDES, A G. Principais defeitos do requeijão cremoso e outros queijos fundidos. In: MARTINS, J.F.P.; FERNANDES, A.G. (Ed.). Processamento de requeijão cremoso e outros queijos fundidos. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1981c. cap.12, p. 1–14.

42. FERNANDES, A .G.; VALLE, J. L. E. , CAMPOS, S. D. S. ; MORI, E. E. M. Formulação de sais emulsificantes para a elaboração de requeijão cremoso e outros tipos de queijos fundidos. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, v. 40, n. 237, p. 27–39, 1985a.

43. FERNANDES, A .G.; VALLE, J. L. E. , CAMPOS, S. D. S. ; MORI, E. E. M. Formulação de sais emulsificantes para a elaboração de requeijão cremoso e outros tipos de queijos fundidos. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, v. 40, n. 238, p. 27–39, 1985b.

44. FERNANDES, F. Consumo de queijo cresce 33% em 1995. Folha de São Paulo, São Paulo, 12 de fevereiro de 1996.

45. FIL-IDF Membrane processes guidelines for testing of equipment : terms and definitions. Bulletin International Dairy Federation, Brussels, n. 134, p.1–11 1981.

46. FOLEGATTI, M. I. S. ; ANTUNES, A . J.; ROIG, S. M. Influence of three rennet types on the ripening process of the brazilian prato cheese. Milchwissenschaft, Munchen, v. 52, n. 6, p. 318–322, 1997.

47. FOX, P. F.; MULVIHILL, D. M. Milk proteins: molecular, colloidal and funcional properties. Journal of Dairy Research, Cambridge, v. 49, n. 4, p. 679–683, 1982.

48. FOX, P. F. ed. Advanced dairy chemistry, London: Blackie Academic & Professional, 1992. V. 1: Proteins.

49. FRIEDMAN, H. H.; WHITNEY, J. E.; SZCZESNIAK, A S. The texturometer – A new instrument for objective measurement. Journal of Food Science, Chicago, v. 28, p. 390–396, 1963.

50. FRIIS, T. Production of quark by membrane filtration. Nordeuropaeisk Mejeri-Tidsskrift, v.47, n. 6,p. 165–170, 1981a.

51. FRIIS, T. Production of mazzarela cheese bases on ultrafiltration. Nordeuropaeisk Mejeri-Tidsskrift, v.47, n. 7, p. 220–223, 1981b.

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

53. GAROUTTE, C. A ; AMUNDSON, C.H.; HILL, C.G. Ultrafiltration of whole milk with hollow fiber membrane. Journal of Food Engineering, Essex, v. 5, p.191–202, 1982.

54. GIESE, J. Proteins as ingredients: types, functions, applications. Food Technology, Chicago, v. 48, n. 10, p. 49-54, 56, 58, 60, 1994.

55. GIESE, J. Measuring physical properties of food. Food Technology, Chicago v., n.2, p. 54–63, 1995.

56. GHITTI, C.; SALVADORI, B. B. Pastes fresches. Parte III – Tecnologia com l'applicazione dell'ultrafiltrazione. Journal of the Italian Dairy Science Association, v. 31, n. 3, p. 195–212, 1980.

57. GLOVER, F.A .; SKUDDER, P. J.; STOTHART, P. H.; EVANS, E. W. Reviews of the progress of dairy science: reverse osmose and ultrafiltration in dairying. Journal of Dairy Research, Cambridge, v. 45, n. 2, p. 291–318, 1978.

58. GOUDÉDRANCHE, H.; MAUBOIS, J.-L.; DUCRUET,P.; MAHAUT, M. Utilization of new mineral ultrafiltration membranes for making semi-hard cheese. Desalination, Amsterdam, v. 35, p. 243–258, 1980.

59. GOUDÉDRANCHE, H.; MAUBOIS, J.-L.; DUCRUET,P.; MAHAUT, M. Utilisation de nouvelles membranes minérales d'ultrafiltration pour la fabrication de fromages du type Saint-Paulin. La techinique Laitiere, Renner, n. 950, 1981.

60. GREEN, M. L.; SCOTT, K. J.; ANDERSON, M.; GRIFFIN, M. C. A .; GLOVER, F. A . Chemical characterization of milk concentrated by ultrafiltration. Journal of Dairy Research, London, v. 51, n. 2, p. 267–278, 1984.

61. GUPTA, S. K.; KARAHADIAN, C.; LINDSAY, R.C. Effect of emulsifier salts on textural and flavor properties of processed cheeses. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 67, n. 4, p. 746–778, 1984.

62. GUPTA, S. K.; THAPA, T.B..Application of whey protein concentrates in food industry – A Review. Indian Journal Dairy Science, New Delhi, v. 44, n. 1, p. 104–110, 1991.

63. GUPTA, V. K.; REUTER, H. Processed cheese food with added whey protein concentrates. Le Lait, Paris, v.72, n. 2, p. 201–212, 1992.

64. GUPTA, V. K.; REUTER, H. Firmness and melting quality of processed cheese foods whith added whey protein concentrate. Le Lait, Paris , v. 73, n. 4, p. 381–388, 1993.

65. HANSEN, M. Ultrafiltration of milk for production of feta cheese. Cultured Dairy Products Journal, Washington, v.19, n. 1, p.16–17, 1984.

66. HARPER, W. J.; SEIBERLING, D.A. General processing for manufactured products. In: HARPER, W.J.; HALL, C.W. (Ed.) Dairy technology and engineering, Westport: AVI, 1976. Cap. 5, p.185–212.

67. HARPER, W. J. Whey proteins. Food Technology in New Zealand, Auckland, v. 19, n. 3, p. 21–27, 1984.

68. HOLTORFF, F. ; MULARZ, V.; TRAISMAN, E. A study of process cheese emulsifier. Journal of Dairy Science, Champaign, v.34, n. 6, p.486, 1951.

69. JANG, H.D.; SWAISGOOD, H.E. Disulfide bond formation between thermally denatured β-lactoglobulin and κ-casein in casein micelles. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 73, p. 900, 1990.

70. JELEN, P. Physico-chemical properties of milk and whey in membrane processing. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 62, n.8, p.1343–1351, 1979.

71. JENSEN, L. A.; JOHNSON, M. E.; OLSON, N. F. Composition and properties of cheeses from milk concentrated by ultrafiltration and reverse osmose – a review of literature. Cultured Dairy Products Journal, Washington, v. 22, n. 6, p. 6–14, 1987.

72. JEPSEN, S. The economic foundation of the ultrafiltration of milk. Nordeuropaeisk Mejeri-Tidsskrift, v.40, n. 11/12, p. 413–416, 1974.

73. JEPSEN, S. Production of camembert cheese by ultrafiltration according to MMV-process. Nordeuropaeisk Mejeri-Tidsskrift, v.41, n. 3, p. 101–105, 1975.

74. JOHN, P. W. M. Statistical design and analysis of experiments. New York: Macmillan, 1971. 356 p.

75. KALÁB, M.; MODLER, H. W.; CARIC, M.; MILANOVIC, S. Structure, meltability, and firmnees of processed cheese containing white cheese. Food Structure, Chicago, v.10, p. 193–201, 1991.

76. KESSLER, H.G. Food engineering and dairy technlogy. Freising: House Ferlag A. Kessler, 1981. 619 p.

77. KINSELLA, J. E.; WHITEHEAD, D.M. Proteins in whey: chemical, physical and functional properties. Advance in Food and Nutrition Research, San Diego, v. 33, p. 343–438, 1989.

78. KOSIKOWSKI, F. V. Cheesemaking by ultrafiltration. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 57, n. 4, p. 488–491, 1974.

79. KOSIKOWSKI, F. V. Cheese and fermented milk food. 2.ed. New York: Kosikowski F. V. and Associates, Brooktondale, 1978. Chap. 17: Process cheese and related types: p. 290–303.

80. LOWRY, O H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A L.; RANDAL, R. J. Protein measurement with the Folin reagent. The Journal of Biological Chemistry, Bethesda, v. 193, p. 265–275, 1951.

81. MABON, T.J. Color measurement of food. Cereal Foods World, Minneapolis, v. 38, n. 1, p. 21–25, 1993.

82. MAHAUT, M.; MAUBOIS, J.-L., ZINK, A .; PANNETIER, R.; VEYRE, R. Eléments de fabrication de fromages frais par ultrafiltration sur membrane de coagulum de lait. La Techinique Laitière, Renner, v. 961, p. 9–13, 1982.

83. MAHAUT, M.; MAUBOIS, J.-L, Transformation du lait en fromage grace a l'emploi de l'ultrafiltration sur membrane. Renner: I.N.R.A., Laboratoire de Recherches de Tecnologie Laitière, 1985. 34 p.

84. MAHAUT, M.; KOROLCZUK, J. Effect of whey protein addition and heat treatment of milk on the viscosity of UF fresh cheeses. Milchwissenschaft, Munchen, v. 37, n. 3, p. 157–159, 1992.

85. MANGINO, M. E.; HUFFMAN, L. M.; REGESTER, G. O.; Changes in the hydrophobicity and functionality of whey during the processing of whey protein concentrates. Journal of Food Science, Chicago, v. 53, n. 6, p. 1684–1686, 1693, 1988.

86. MANN, E. A. Ultrafiltration of milk for cheesemaking. Dairy Industries International, London, v. 47, n. 12, p. 11–12, 1982.

87. MANUAL de referência para produtos de soro dos EUA. Arlington: U.S. Dairy Export Council, 1997. paginação irregular.

88. MARCHESSEAU, S.; GASTALDI, E.; LAGAUDE, A.; CUQ, J.-L. Influence of pH on protein interations and microstructure of process cheese. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 80, n. 8, p. 1483–1489,1997.

89. MAUBOIS, J. L.; KOSIKOWSKI, F.V. Making ricota cheese by ultrafiltration. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 61, n. 7, p. 881–884, 1978.

90. MAUBOIS, J. L,; MOCQUOT, G. VASSAL, L. Procédé de traitement du lait et de sous produits leitiers. Patente Française 2.052.121, Paris, França, 1969.

91. MEYER, A. Process cheese manufacture. London: Food Trade Press, 1973. 360 p.

92. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Serviço de Inspeção Federal. Anuário Estatístico. 1986. Matérias-primas de Origem Animal, Brasília, DF, Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária, 1989. 329 p.

93. MODLER, H. W. Funcional properties of nonfat dairy ingredients – a review. Modification of lactose and products containing whey proteins. Journal of Food Science, Chicago, v. 68, n. 9, p. 2206–2214, 1985.

94. MORR, C. V. Functionality of whey protein products. New Zealand Journal of Dairy Science and Technology, Palmerston North, v. 14, n.2, p. 185–194, 1979.

95. MORR, C. V.; HA, Y. W. Production and use of milk proteins in food. Food Technology, Chicago, v. 38, n. 7, p. 39–48,1984.

96. MORR, C. V.; HA, Y. W. Whey proteins concentrates and isolates: processing and functional properties. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, Florida, v. 33, n. 6, p. 431–476,1993.

97. NEVES, B. S.; DUCRET, P. Emprego da ultrafiltração na fabricação de requeijão cremoso. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, v. 43, n. 257, p. 3–8, 1988.

98. NIELSEN, P. S. Chesse production by ultrafiltration. Scandinavian Dairy Industry, Helsingbag, v. 1, p. 34–35, 1987.

99. OLIVEIRA, J.S. Queijo: fundamentos tecnológicos. Campinas: Ícone, 1986. 146p. (Tecnologia de Alimentos).

100. OLSON, N. F.; PRICE, W.V. A melting test for pasteurized process cheese spreads. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 41, n. 7, p. 999–1000, 1958.

101. OLSON, N. F.; VAKALERIS, D.G.; PRICE, W.V.; KNIGHT, S.G. Acidity and age of natural cheese as factors affecting the body of pasteurized process cheese spread. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 41, n. 8, p.1005–1016, 1958.

102. OLSON, N. F.; PRICE, W.V. Composition and bacterial growth as factors affecting the body of pasteuterized process spread. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 44, n. 8, p.1394–1404, 1961.

103. PALMER, H. J. ; SLY, W. H. Cheese melting salts and their properties. Society of Chemistry Industry, Wembley, v. 63, p. 363–367, 1944.

104. PATART, J.P. Process cheeses. In: ECK, ª (Ed.) Cheese making: Thomson. New York: Lavoisier, 1987. Chap. 19; p. 387-401. Translated from the french: Le fromage.

105. PATEL, R. S.; REUTER, H. ; PROKOPEK, D. Production of quarg by ultrafiltration. Journal of the Society of Dairy Technology, Wembley, v. 39, n. 1, p. 27–31, 1986.

106. PEDERSEN, P. J. ; OTTOSEN, N. Manufacture of fresh cheese by ultrafiltration. In: INTERNATONAL DAIRY FEDERATION. New applications of membrane processes, Belgium, IDF, 1991, p. 67–76 (Special Issue, 9201).

107. PERES, L.; ROIG, S. M.; BITTENCOURT, E. Ultrafiltração usando membranas minerais – aplicação na área de laticínios. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 9., Salvador. Trabalhos Técnicos, 1992, p. 173–182.

108. PERES, L. Estudo da ultrafiltração por membranas minerais de leite coagulado enzimaticamente. Campinas, 1997 Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, 1997.

109. PIERRE, A .; BRULE, G.; FAUQUANT, J.; PIOT, M. Influence des traitements thermiques sur les propiétés physicochimiques des retentats obtenus par ultrafiltration de lait de vache et de lait de chèvre. I. desnaturations des proteines solubles. Le Lait, Paris, n. 569/570; p. 646–662,1977.

110. PREGO, J.M. Manteigas e queijos. Lisboa, Liv. Ferin, 1906. 544 p.

111. RAO, D.V.; RENNER, E. Studies on the application of ultrafiltration for the manufacture of cheddar cheese. 3. Ripening characteristics. Milchwissenschaft, v. 44, n. 5, p. 351–354, 1989.

112. RAPACCI, M. Estudo comparativo das características físicas e químicas, reológicas e sensoriais do requeijão cremoso obtido por fermentação láctica e acidificação direta. Campinas, 1997. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia de Almentos, Universidade Estadual de Campinas.

113. RIBEIRO, E. P. Aplicação de ultrafiltração de leite no processo de fabricação de queijo tipo prato. Campinas, 1996. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia de Almentos, Universidade Estadual de Campinas.

114. RICE, B.O.; ALVAREZ, V.B.; ANTUNES, A.J.; HARPER, J.W. . Effect of emulsifying salts on the textural properties of low fat processed cheese. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 79, Suppl. 1, p. 115, 1996.

115. SACHDEVA, S.; REUTER, H. Production of chhana by ultrafiltration. Journal of the Society of Dairy Technology, London, v. 44, n. 4, p. 95–98, 1991.

116. SAVELLO, P.A. ; ERNSTRON, C. A.; KALÁB, M. Microstructure and meltability of model process cheese made with rennet and acid casein. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 72, n. 1, p. 1–11, 1989.

117. SHET, H.; JELEN, P.; SHAH, N. Lactose hidrolisys in ultrafiltration-treated cottage cheese whey with various whey protein concentrations. Journal of Food Science, Chicago, v. 53, n. 3, p.746–748, 1988.

118. SHIMP, L. A. Processed cheese principles. Food Technology, Chicago, v. 39, n. 5, p. 63, 64, 66, 68, 69, 1985.

119. SINGH, H.; FOX, P.F. Heat stability of milk: role of β-lactoglobulin in the pH-dependent dissociation of micellar κ-casein. Journal of Dairy Research, Cambridge, v. 54, p. 509, 1987.

120. SMITS, P.; VAN BROUWERSHAVEN, J.H. Heat-induced association of β-lactoglobulin and casein micelles. Journal of Dairy Research, Cambridge, v.47, p. 313, 1980.

121. SUTERLAND, B. J.; JAMESON, G.W. Composition of hard cheese manufactured by ultrafiltration. The Australian Journal of Dairy Technology, Highett, v. 36, n. 4, p. 136–143, 1981.

122. SZCZESNIAK, A S. General food texture profile revisited-ten years perspective. Journal of Texture Studies, Connecticut, v. 6, p. 5–17, 1975.

123. TAMIME, A .Y.; KALÁB, M. ; DAVIES, G.; YOUNIS,M. F. Microstructure and firmness of processed cheese manufatured from cheddar cheese and skim milk powder cheese base. Food Structure, Chicago, v. 9, n. 1, p. 23–37, 1990.

124. THOMAS, M.A.; NEWELL, G. ; ABAD, G. A.; TURNER, A.D. Effect of emulsifying salts on objective and subjective properties of processed cheese. Journal of Food Science, Chicago, v. 45, n. 3, p. 458–459, 466, 1980.

125. THOMPSON, S. J.; MANN, J.M. Concentration and fractionation of milk by ultrafiltration. Journal de l'Institute Canadian Science et de Technologie Alimentaire, Otawa, v. 8, n. 2, p.113–116, 1975.

126. VAGHELA, M. N.; KILARA, A. Foaming and emulsifying properties of whey protein concentrates as affected by lipid composition. Journal of Food Science, Chicago, v. 61, n. 2, p. 275–280, 1996.

127. VALLE, J.L.E. Qualidade físico-química da matéria prima e produto acabado. In: MARTINS, J.F.P.; FERNANDES, A.G. (Ed.) Processamento de requeijão cremoso e outros queijos fundidos. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1981, cap.2, p.1–5.

128. VAN DENDER, A. G. F.; DUCRET, P.; MAUBOIS, J.-L. Estudo da fabricação de queijo prato utilizando ultrafiltração. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, v. 41, n. 249, p. 7–14, 1987.

129. VAN DENDER, A G.F. Contribuição ao estudo do uso de ultrafiltração de leite na fabricação de queijo minas frescal. Campinas, 1995. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

130. VEINOGLOU, B. C.; BOYAZOGLU, E. S. Improvement in the quality teleme cheese produced from ultrafiltred cow's milk. Journal of Society of Dairy Technology, London, v. 35, n. 2, p. 54–56, 1982.

131. VENTURA, R. F. Requeijões do nordeste: tipos e fabricações. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, v. 42, n. 234, p. 3–21, 1987.

132. VEYSSEIRE, R. Lactologia tecnica: composición, recogida, tratamiento y transformacion de la leche. Barcelona: Ed. Acribia, 1980. 629 p.

133. VIEIRA, S. D. A .; GOUDEDRANCHE, H.; DUCRET, P. MAUBOIS, J.-L. Parâmetros para a fabricação de queijo minas frescal por meio de ultrafiltração. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, v. 39, n. 235, p. 53–58, 1984.

134. VIOTTO, W. H. Ultrafiltração de soro doce de queijo minas frescal: efeito de pré-tratamentos do soro no desempenho da membrana e na composição e solubilidade do concentrado protéico de soro. Campinas, 1993. 212 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

135. WINSTON HO, W.S.; SIRKAR, K.K. Membrane handbook. New York: Van Nostrand Rheinhold, 1992.

136. WONG, D. W. S.; CAMIRAND, W. M.; PAVLATH, A E. Structures and functionalities of milk proteins. Critical Reviews in Food Science and Nutririon, Florida, v. 36, n. 8, p. 807–844, 1996.

137. YAN, S.H.; HILL, J.R.; AMUNDSON, C.H. Ultrafiltration of whole milk . Journal of Dairy Science, Champaign, v.62, n. 1, p. 23–40, 1979.

138. ZEHREN, V.L.; NUSBAUM, D.D. Process cheese. New Holstein: Cheese Reporter, 1992. 364 p.