

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

**ESTUDO DO EFEITO DO CONGELAMENTO E DO TEMPO DE  
ARMAZENAGEM SOB REFRIGERAÇÃO APÓS O  
DESCONGELAMENTO NAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS,  
TEXTURA E PROTEÓLISE DO QUEIJO MUSSARELA**

**Ana Carolina S. D. Chaves  
Engenheira de Alimentos**

**Prof. Dr. Carlos R. F. Grosso  
Orientador**

**Prof. Dra. Walkíria H. Viotto  
Co-orientadora**

**DISSERTAÇÃO APRESENTADA À FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS DA  
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE  
MESTRE EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS.**

**PARECER**

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por ANA CAROLINA S. DÓRIA CHAVES e aprovada pela Comissão Julgadora em 01 de agosto de 1997.

**Campinas, agosto de 1997**

Campinas, 01 de agosto de 1997.

774/330

UNIDADE	73C
N.º CHAMADA:	
T.º	Unicamp
C.º	398e
V.º	Ex
FUNDO DE	31917
PROC.	281/97
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	21/10/97
N.º CPD	

CM-00101357-0

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA F.E.A. - UNICAMP

C398e

Chaves, Ana Carolina Sampaio Dória

Estudo do efeito do congelamento e do tempo de armazenagem sob refrigeração após o descongelamento nas propriedades funcionais, textura e proteólise do queijo mussarela / Ana Carolina Sampaio Dória Chaves.

Orientador: Carlos Raimundo Grosso  
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Queijo. 2.Alimentos - textura. 3.Alimentos - congelados. 4.Descongelamento. I.Grosso, Carlos Raimundo. II.Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos. III.Título.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.

## BANCA EXAMINADORA



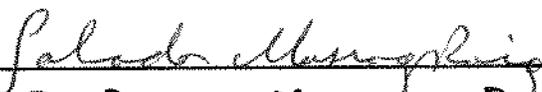
---

**Prof. Dr. Carlos R. E. Grosso**  
(Orientador)



---

**Dra. Sonia D. Silva Campos**  
(Membro)



---

**Prof. Dr. Salvador Massaguer Roig**  
(Membro)

---

**Dr. Múcio M. Furtado**  
(Membro)

Campinas, 1º de agosto de 1997

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Carlos Grosso, pelo apoio, amizade e incentivo durante todo o trabalho;

À Prof. Dra. Walkíria H. Viotto, pela supervisão e co-orientação;

Ao Prof. Dr. Ademir Petenate, pela orientação e supervisão da parte estatística deste trabalho;

À Sônia D. S. Campos, pelo apoio, pelo exame prévio do manuscrito e sugestões sobre a tese;

Ao Prof. Dr. Salvador Massaguer pelo exame prévio do manuscrito e sugestões sobre a tese;

Dr. Múcio M. Furtado pelo exame prévio do manuscrito, sugestões sobre a tese e oportunidades oferecidas;

À Liana, pelo grande auxílio na execução das eletroforeses e ao Chico, pelo auxílio na utilização do Texturômetro;

A Ana Maria, pelo apoio, amizade e confiança;

Aos técnicos do laboratório de leite Bete, Claudia e especialmente ao Armando sempre disposto a ajudar no que fosse preciso;

À Sueli, Aracilda, Valdeci e Nilo pelo auxílio;

A minha família, pelo carinho, apoio e incentivo;

Aos meus queridos amigos Zé Raimundo, Guida, Lia pela amizade e compreensão;

Ao CNPq, pela bolsa de Mestrado e a FAEP pelo auxílio dado para execução da parte prática e para Viagem à Buenos Aires para apresentação de trabalho no Congresso Pan-americano do Leites.



### **FILAGEM:**

**Etapa característica do processamento do queijo Mussarela onde a massa é submetida a um trabalho mecânico em água quente**

Da mais alta janela da minha casa  
Com um lenço branco digo adeus  
Aos meus versos que partem para a humanidade.

E não estou alegre nem triste.  
Esse é o destino dos versos.  
Escrevi-os e devo mostrá-los a todos  
Porque não posso fazer o contrário  
Como a flor não pode esconder a cor,  
Nem o rio esconder que corre,  
Nem a árvore esconder que dá fruto.

Ei-los que vão já longe como que na diligência  
E eu nem sequer sinto pena  
Como uma dor no corpo.

Quem sabe que os lerá?  
Quem sabe a que mãos irão?  
Flor, colheu-me o meu destino para os olhos.  
Árvore, arrancara-me os frutos para as bocas.  
Rio, o destino da minha água era não ficar em mim.  
Submeto-me e sinto-me quase alegre,  
Quase alegre como quem se cansa de estar triste.

Ide, ide de mim!  
Passa árvore e fica dispersa pela natureza.  
Murcha a flor e seu pó dura sempre.  
Corre o rio e entra no mar e a sua água e sempre a que foi sua.

Passo e fico, como o Universo.

Fernando Pessoa

# SUMÁRIO

Lista de Tabelas.....	i
Lista de Figuras.....	ii
Resumo.....	iv
Summary.....	vi
1. Introdução.....	1
2. Revisão Bibliográfica.....	5
2.1. Definição de Mussarela.....	5
2.2. Composição e Legislação de Mussarela.....	6
2.3. Mudanças Causadas pelo Armazenamento em Temperatura de Resfriamento e Congelamento.....	8
2.4. Proteólise.....	10
2.5. Efeito do teor de sal.....	14
2.6. Características de Textura do Queijo Cru.....	16
2.6.1. Textura de Queijo - Mussarela.....	16
2.6.2. Fatiabilidade da Mussarela Crua.....	20
2.7. Características Físico-Químicas do Queijo Cru.....	20
2.7.1. Teor de Umidade.....	20
2.7.2. Separação de Água.....	21
2.8. Propriedades Funcionais da Mussarela Derretida.....	22
2.8.1. Capacidade de Derretimento.....	22
2.8.2. Separação de Óleo Livre.....	24
3. Material e Métodos.....	26
3.1. Material.....	26
3.1.1. Processo de Fabricação da Mussarela.....	26
3.2. Métodos.....	29
Composição do Queijo.....	30
3.2.1. Determinação de Cinzas.....	30
3.2.2. Determinação de Gordura.....	30
3.2.3. Determinação de Sal.....	30
3.2.4. Determinação de Umidade.....	30
3.2.5. Determinação de Nitrogênio.....	31
3.2.6. Proteólise.....	31
3.2.6.1. Determinação de Acidez Titulável em queijos.....	31
3.2.6.2. Nitrogênio Solúvel a pH 4,6 e 12% TCA.....	31
3.2.6.3. Eletroforese.....	32
Propriedades Funcionais.....	32
3.2.7. Determinação Instrumental do Perfil de Textura da Mussarela.....	32
3.2.8. Determinação da Facilidade de Corte da Mussarela.....	34

3.2.9. Separação de Água.....	35
3.2.10. Determinação de Atividade de Água.....	35
3.2.11. Determinação da Cor.....	35
3.2.11.1. Queijo Cru .....	36
3.2.11.2. Queijo Após o Derretimento ("Browning Test").....	36
3.2.12. Determinação da Capacidade de Derretimento .....	37
3.2.13. Determinação de Óleo Livre.....	40
3.3. Planejamento Experimental e Análise Estatística.....	41
4. Resultados e Discussão.....	43
4.1. Composição.....	43
4.2. Proteólise.....	47
4.2.1. Determinação de Acidez Titulável .....	47
4.2.2. Nitrogênio Solúvel a pH 4,6 e a 12% TCA.....	48
4.2.3. Eletroforese .....	52
4.3. Perfil de Textura De Mussarela - TPA .....	55
4.4. Facilidade de Corte da Mussarela .....	67
4.5. Separação de Água .....	70
4.6. Atividade de Água.....	72
4.7. Cor do Queijo.....	73
4.7.1. Antes do Derretimento .....	73
4.7.2. Depois de Derretido - Browning Test.....	74
4.8. Capacidade de Derretimento .....	76
4.9. Óleo Livre .....	78
5. Conclusões.....	81
6. Bibliografia Consultada.....	84

## LISTA de TABELAS

Tabela 2.2.1. Composição de Mussarela fresca comercial de leite com diferentes teores de gordura EUA (KOSIKOWSKI, 1977).....	6
Tabela 2.2.2. Composição média de Mussarela - Brasil (FURTADO, 1990).....	6
Tabela 2.2.3. Requisitos Microbiológicos para a Mussarela.....	8
Tabela 3.3.1. Delineamento do experimento para cada bloco.....	42
Tabela 4.1. Composição química dos três lotes de mussarela e a média.....	43
Tabela 4.3.1. Perfil de Textura do queijo refrigerado - Amostras retiradas do centro da fatia.....	58
Tabela 4.3.2. Perfil de Textura do queijo temperado - Amostras retiradas do centro da fatia.....	58
Tabela 4.3.3. Perfil de Textura do queijo refrigerado - Amostras retiradas das extremidades da fatia de queijo.....	58
Tabela 4.3.4. Perfil de Textura do queijo temperado - Amostras retiradas das extremidades da fatia.....	59
Tabela 4.3.5. Perfil de Textura do queijo refrigerado Média das amostras retiradas do centro e das extremidades da fatia.....	59
Tabela 4.3.6. Perfil de Textura do queijo temperado - Média das amostras retiradas do centro e das extremidades da fatia.....	59
Tabela 4.4.1. Força necessária para efetuar o corte da Mussarela - teste de facilidade de corte.....	67
Tabela 4.7.1.1. Resultado da cor do queijo temperado.....	73
Tabela 4.7.1.2. Resultado da cor do queijo refrigerado.....	73
Tabela 4.7.2.1. Resultado da cor do queijo após o derretimento da amostra refrigerada.....	74
Tabela 4.7.2.2. Resultado da cor do queijo após o derretimento da amostra temperada.....	74

## LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1.1.1. Fluxograma da fabricação de queijo Mussarela.....	28
Figura 3.2.1. Vista superior da peça de Mussarela de 3.5 Kg e indicação dos locais de retirada de amostras para os diversos testes.....	29
Figura 3.2.12.1. Instrumentos utilizados para analisar a capacidade de derretimento da Mussarela.....	38
Figura 3.2.12.2. Exemplo da determinação da capacidade de derretimento da Mussarela....	39
Figura 4.2.1.1. Efeito dos tratamentos (Temperagem e Refrigeração) na acidez titulável durante 4 semanas de armazenamento (6-8°C) do queijo.....	47
Figura 4.2.2.1. Efeito dos tratamentos (Temperagem e Refrigeração) nos níveis de nitrogênio solúvel a pH 4,6 durante quatro semanas de armazenamento (6-8°C).....	48
Figura 4.2.2.2. Efeito dos tratamentos (Temperagem e Refrigeração) nos níveis de nitrogênio solúvel a 12% TCA durante 4 semanas de armazenamento a (6-8°C)....	50
Figura 4.2.3.1. Eletroforetograma da Mussarela refrigerada (Controle).....	52
Figura 4.2.3.2. Eletroforetograma da Mussarela temperada.....	53
Figura 4.3.1. TPA de queijo Mussarela, 5 amostras retiradas do centro.....	56
Figura 4.3.2. TPA de queijo Mussarela, 5 amostras retiradas da extremidade.....	56
Figura 4.3.3. Comportamento do atributo elasticidade TPA da Mussarela temperada e refrigerada ao longo do tempo de armazenamento (amostras centro + extremidade).....	62
Figura 4.3.4. Comportamento do atributo coesividade TPA da Mussarela temperada e refrigerada ao longo do tempo de armazenamento (amostras centro + extremidade).....	63
Figura 4.3.5. Comportamento do atributo mastigabilidade TPA da Mussarela temperada e refrigerada ao longo do tempo de armazenamento (amostra centro + extremidade).....	64

Figura 4.3.6. Comportamento do atributo dureza TPA da Mussarela temperada e refrigerada ao longo do tempo de armazenamento (amostras centro + extremidade).....	65
Figura 4.4.1. Comportamento da facilidade de corte (força necessária para efetuar o corte) da Mussarela temperada e refrigerada ao longo do tempo de armazenamento.....	68
Figura 4.4.2. Gráfico do resultado do Texturômetro TAXT <sub>2</sub> - Facilidade de corte da Mussarela.....	68
Figura 4.5.1. Efeito dos tratamentos (Temperagem e Refrigeração) na separação de água livre ao longo do tempo de armazenamento (6-8°C).....	70
Figura 4.6.1. Efeito dos tratamentos (Temperagem e Refrigeração) na atividade de água durante quatro semanas de armazenamento. (6-8°C).....	72
Figura 4.7.1. Cor de algumas amostras de queijo cru e de queijo após o derretimento.....	75
Figura 4.8.1. Efeito dos tratamentos (Temperagem e Refrigeração) na capacidade de derretimento ao longo do tempo de armazenamento (6-8°C).....	76
Figura 4.10.1. Efeito dos tratamentos (Temperagem e Refrigeração) na separação de óleo durante quatro semanas de armazenamento (6-8°C).....	78

## RESUMO

ESTUDO DO EFEITO DO CONGELAMENTO E DO TEMPO DE ARMAZENAGEM SOB REFRIGERAÇÃO DE MUSSARELA APÓS O DESCONGELAMENTO NAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS, NA TEXTURA E NA PROTEÓLISE.

Neste trabalho foi avaliado o efeito do tempo que a Mussarela descongelada permanece sob refrigeração ( $T=6-8^{\circ}\text{C}$ ) sobre a proteólise, a capacidade de derretimento, a formação de óleo livre, a cor antes e após o derretimento, a separação de água livre, a atividade de água, a facilidade de corte e sobre os atributos de textura TPA. Foram analisados três lotes de queijo Mussarela produzidos em condições industriais, em três diferentes dias, utilizando-se fermento mesófilo. O lote foi composto por dez peças de queijo de aproximadamente 3.5 Kg. Cada lote foi aleatoriamente dividido em duas partes sendo uma submetida ao congelamento lento em câmara ( $T= -20^{\circ}\text{C}$ ) durante quinze dias a outra parte foi mantida sob refrigeração ( $T=6-8^{\circ}\text{C}$ ) como controle; o queijo após o descongelamento foi mantido sob refrigeração por um mês, tratamento este, denominado temperagem. Analisaram-se as propriedades funcionais, os atributos de textura, a facilidade de corte e a proteólise por meio de eletroforese e pelo teor de N solúvel em tampão acetato pH 4,6 e em TCA 12% a 0, 1, 2, 3 e 4 semanas de armazenamento. Foi observado um baixo nível de proteólise; através da eletroforese constatou-se que houve desdobramento da caseína- $\alpha_{S1}$  em caseína- $\alpha_{S1.1}$  também foi evidenciada que a  $\beta$ -caseína sofreu uma pequena degradação provavelmente devido a ação da plasmina provocando o aparecimento de bandas de  $\gamma_1$ ,  $\gamma_2$  e  $\gamma_3$ -caseína. O baixo nível de proteólise deve estar associado

ao uso da alta temperatura de filagem que pode ter ocasionado a inativação de parte considerável do agente coagulante e provavelmente também inativou o fermento mesófilo resultando em queijos com baixo nível de acidez titulável. Com relação a análise do perfil de textura, foi constatado que de maneira geral, as diferenças entre dois os tratamentos foram grandes inicialmente, diminuíram ao longo do tempo, sendo praticamente insignificantes depois de duas semanas de temperagem. Os queijos submetidos ao congelamento apresentaram menor dificuldade ao corte devido a baixa coesividade e dureza TPA. Observou-se separação de água livre somente até a segunda semana de armazenamento. O óleo livre aumentou significativamente ao longo do tempo de armazenamento para os dois tratamentos sendo superior nas amostras temperadas. A capacidade de derretimento observada para as amostras de maneira geral neste experimento foi bastante baixa devido aos baixos índices de proteólise. As amostras recém descongeladas apresentaram um derretimento superior as demais. Após duas semanas de temperagem, a capacidade de derretimento, a facilidade de corte e a maioria dos parâmetros de textura das amostras submetidas ao congelamento eram muito semelhantes ao controle mantido sob refrigeração. Portanto após esse período de temperagem, o congelamento só afetou negativamente a separação de óleo livre.

Palavras chaves: Mussarela; Propriedades funcionais; Proteólise; Textura; Congelamento e descongelamento.

## SUMMARY

### THE EFFECT OF FREEZING AND STORAGE TIME AFTER THAWING ON FUNCTIONAL PROPERTIES, TEXTURE AND PROTEOLYSIS OF MOZZARELLA CHEESE

The effect of storage time ( $T=6-8^{\circ}\text{C}$ ) after thawing on proteolysis, melting capacity, free oil formation, the color before and after melting, the separation of water, water activity, ease of cutting, and texture attributes TPA (texture profile analysis) of Mozzarella cheese was evaluated. Three batches of cheese were produced under industrial conditions on three separate days, using a mesophilic starter. Each batch consisted of 10 blocks of cheese of approximately 3.5Kg. Each batch was divided into 2 parts at random, one being submitted to slow freezing ( $T=-20^{\circ}\text{C}$ ) in a cold chamber during 15 days, and other maintained refrigerated ( $T=6-8^{\circ}\text{C}$ ) as a control. After thawing, the previously frozen part was maintained refrigerated for a further month treatment referred to as tempering. After 0, 1, 2, 3 and 4 weeks of storage the samples were analysed for their functional properties, ease of cutting, texture attributes TPA and proteolysis electrophoresis as well as for the soluble N content in both, acetate buffer pH 4,6 and in 12% TCA. Only slight proteolysis was noted, electrophoresis showed a breakdown of  $\alpha_{s1}$ -casein to  $\alpha_{s11}$ -casein and a slight breakdown of  $\beta$ -casein probably due to the activity of plasmin resulting in the appearance of  $\gamma_1$ ,  $\gamma_2$  and  $\gamma_3$ -caseins bands. The low level of proteolysis was probably associated with high stretching temperature, which may have inactivated a considerable part of the coagulating agent and probably inactivated the mesophilic starter resulting in low-acid cheese. With respect to the texture profile analysis, in general great differences were noted initially

which diminished with time, being practically insignificant after 2 weeks of tempering. The previously frozen cheeses were easier to cut due to their low TPA cohesivity and TPA hardness. Separation of water was observed up to the second week of storage. Free oil formation increased with storage time significantly for both treatments and it was superior in the tempered cheese. The melting capacity of all the samples was generally low due to the low levels of proteolysis. Recently thawed samples showed greater melting capacity than the other samples. After two weeks of tempering, the melting capacity, ease of cutting, and the majority of texture parameters of the frozen cheese were similar to the controls. Thus after this period of tempering, the freezing process only negatively affected the separation of free oil.

**Key words:** Mozzarella, functional properties, proteolysis, texture, freezing and thawing.

# 1. INTRODUÇÃO

A Mussarela é um queijo de origem italiana, pertencente ao grupo de queijos de massa filada. A filagem, que consiste no tratamento mecânico da massa em água quente, confere ao queijo a sua característica estrutura fibrosa e as propriedades de derretimento e alongação. O aumento sem precedentes da produção e venda deste tipo de queijo nas duas últimas décadas tem feito com que a Mussarela seja atualmente o queijo mais consumido mundialmente (PILCHER & KINDSTEDT, 1990). No Brasil, a sua situação não é diferente, dados de 1994 estimaram a produção deste queijo em 132 mil toneladas, representando cerca de 40% do total da produção brasileira de queijo. A fabricação de Mussarela cresce mais que qualquer outro tipo de queijo no país (DATAMARK, 1994). O aumento do consumo de Mussarela no Brasil, como em outros países, deve-se à mudança do hábito alimentar da população, provocada pela proliferação do número de pizzarias, lanchonetes e aumento de venda de produtos prontos congelados onde este queijo é extensamente utilizado como ingrediente indispensável de diversos pratos da culinária italiana mundialmente difundida.

A tradicional Mussarela, de origem italiana, era produzida com leite de búfalo cru, contendo um alto teor de gordura, resultando num queijo saboroso, suculento sendo preferencialmente consumido fresco. Atualmente, o queijo Mussarela é, predominantemente, produzido utilizando-se leite bovino, com teor de gordura reduzido e com produção mecanizada. Essa mudança apontada deu origem a um produto com sabor pouco pronunciado e propriedades funcionais compatíveis com o modo como esse é normalmente consumido - derretido (APOSTOLOPOULOS, 1994).

O queijo Mussarela fresco não apresenta boa capacidade de derretimento e é inadequado para o uso em pizzas ou como ingrediente culinário. Entretanto, após um curto período de armazenamento, variando de uma a três semanas sob refrigeração (4°C), a proteólise ocorrida no queijo, pela ação do coagulante residual e do fermento láctico utilizado, resulta no desenvolvimento de características funcionais desejáveis como "corpo macio", boa capacidade de derretimento e elasticidade (KINDSTEDT, 1987).

Em grande parte da Mussarela produzida no Brasil é utilizado fermento mesófilo, ao invés do termofílico. A Mussarela utilizada em pizza e como ingrediente culinário requer uma boa capacidade de derretimento, obtida pela presença de agente coagulante residual e fermento láctico ativo, que resista ao tratamento térmico na filagem, razão pela qual se faz uso de culturas termofílicas para a produção de um tipo especial de Mussarela denominada "Pizza Cheese". O queijo produzido com fermento mesófilo é mais adequado ao consumo direto, tendo como característica funcional mais importante, a fatiabilidade. Dentro da realidade brasileira a Mussarela é comercializada basicamente fatiada, portanto é importante que este tipo de queijo não possua adesividade excessiva, evitando assim a agregação das fatias. Apesar desta diferenciação tecnológica, no Brasil, o queijo Mussarela fabricado com fermento mesófilo é utilizado indistintamente tanto para consumo direto quanto como ingrediente de uso culinário.

Devido a falta de controle de qualidade e de padronização, no mercado é encontrado uma grande variedade de Mussarelas que diferem quanto a composição e propriedades funcionais. Porém esta realidade vem mudando com as imposições de padrões por parte das grandes redes de pizzarias e "fast food", bem como pela inserção do país no MERCOSUL, o que tem exigido das indústrias brasileiras uma melhoria na qualidade de seus produtos.

O rápido crescimento do mercado de Mussarela, o aumento da produção assim como também a instabilidade de algumas propriedades funcionais (tais como a capacidade de derretimento e alongamento - "stretchability") levam os produtores e grandes consumidores a congelar este queijo (ALVAREZ, 1986; PILCHER & KINDSTEDT, 1990; NILSON & LACLAIR, 1976). No Brasil, devido à instabilidade do mercado, algumas vezes, aproveitando-se de ofertas vantajosas, grandes consumidores adquirem considerável quantidade de Mussarela e são portanto, forçados a congelar o queijo para suspender ou reduzir as modificações bioquímicas que normalmente ocorrem durante o armazenamento refrigerado.

Poucos estudos foram conduzidos no sentido de verificar o efeito do congelamento, da estocagem e das condições de descongelamento no corpo e na textura da Mussarela (CERVANTES et alli, 1983). Segundo DAHLSTROM (citado por TUNICK et alli, 1991), imediatamente após o descongelamento, a Mussarela pode apresentar baixa coesividade, presença de umidade superficial e dificuldade de derretimento. As alterações verificadas podem vir a ser parcial ou totalmente revertidas após um período duas a três semanas de estocagem refrigerada (4°C).

É importante avaliar a extensão das mudanças físicas causada pelo congelamento e pelo tempo de temperagem após o descongelamento na Mussarela produzida no país. O estudo da extensão e da profundidade da proteólise do queijo fabricado comercialmente no Brasil pode contribuir para o melhor entendimento das mudanças ocorridas durante o armazenamento refrigerado e congelado.

A literatura internacional trata pouco sobre o efeito do congelamento e do tempo de temperagem na Mussarela e não existe nenhuma informação a esse respeito com relação a Mussarela fabricada com fermento mesofílico. A grande produção nacional, a importância deste queijo no setor lácteo e as exigências cada vez maior de produtos com qualidade justificam a importância tecnológica deste estudo.

Com objetivo de estudar o efeito do congelamento lento e do tempo de temperagem (período em que o queijo após descongelamento permanece sob refrigeração) nas características do queijo Mussarela avaliou-se:

1. A proteólise ao longo do período de armazenagem através de determinações químicas do nitrogênio solúvel a pH 4,6 e 12% TCA (extensão e profundidade) e por método eletroforético;
2. As características de textura do queijo cru (análise instrumental) determinando-se o perfil de textura (TPA - Análise do Perfil de Textura) e a facilidade de corte;
3. As características físico-químicas do queijo cru, pela avaliação da composição do queijo, da separação de água livre (centrifugação), da atividade de água e da cor do queijo;
4. As propriedades funcionais do queijo após o derretimento, determinando-se a capacidade de derretimento, a separação de óleo livre e a cor do queijo ("browning").

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. DEFINIÇÃO DE MUSSARELA

A Mussarela pertence ao grupo dos queijos de massa filada no qual, também estão incluídos, o Provolone e o "Caccio Cavalo". Os queijos deste grupo, destacam-se dos demais, pela etapa característica de filagem, onde a massa é submetida a um trabalho mecânico em água quente (a massa deve atingir uma temperatura de no mínimo 55°C), nesta etapa a massa que tinha uma estrutura amorfa com abertura mecânica, torna-se elástica, com estrutura fechada, compacta e fibrilar (OLIVEIRA, 1986).

A massa da Mussarela é esbranquiçada, firme, compacta e tem sabor ligeiramente ácido. Quando fabricada para ser utilizada em pizzas e sanduíches, o formato normalmente é retangular, variando somente o peso. Quando o produto é destinado ao consumo direto, os formatos variam podendo ser de bolinha, nozinho ou palito (FURTADO & LOURENÇO NETO, 1994).

Segundo KOSIKOWSKI (1977), a massa deste queijo é plástica, macia, elástica e brilhante, preferencialmente sem orifícios internos, a superfície é branca ou ligeiramente amarelada, tenra e brilhante, o sabor é agradável, adocicado e ligeiramente ácido.

Até recentemente a única definição legal de Mussarela era a mencionada no manual do RIISPOA, do Ministério da Agricultura, Decreto 30.691, de 29/03/52, onde o artigo 621 indica ser a Mussarela um queijo obtido de leite pasteurizado, de massa filada, não prensada, pesando no máximo 2 kg e que deveria ser consumida em até cinco dias após sua fabricação. Esta definição estava incompleta e ultrapassada, não fazendo nenhuma menção a padrões microbiológicos ou físico-químicos.

Atualmente, a definição de Mussarela é a seguinte: "Art. 621. Entende-se por Queijo Mussarela, o queijo obtido pela filagem da massa acidificada (produto obtido por coagulação de leite por meio de coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas) complementada ou não pela ação de bactérias lácteas específicas.

Parágrafo único. Deverá ser atendido o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade específico, oficialmente adotado." (Decreto 2.244, de 4 de junho de 1997).

## 2.2. COMPOSIÇÃO E LEGISLAÇÃO DE MUSSARELA

No Brasil, este queijo é largamente produzido e a tecnologia aplicada é muito diversificada; portanto, os queijos apresentam variações em sua composição. A composição média para a Mussarela no Brasil varia com relação a umidade (43-46%), a gordura (22-24%), ao sal (1,6-1,8%) e ao pH (5,1-5,3). Esta grande variação da composição pode ser explicada pela diversidade na preferência dos mercados locais, pelas diferentes formas de utilização do queijo como também devido a problemas provenientes do processamento, particularmente os ligados à fermentação e filagem da massa (FURTADO & LOURENÇO NETO, 1994).

A composição de alguns tipos de Mussarela dos EUA e do Brasil se encontram nas Tabelas 2.2.1. e 2.2.2.

**Tabela 2.2.1. Composição de Mussarela fresca comercial de leites com diferentes teores de gordura - EUA (KOSIKOWSKI, 1977)**

TIPO DE MUSSARELA	GORDURA (%)	UMIDADE (%)	PROTEÍNA TOTAL (%)	LACTOSE (%)
Mussarela (3%*)	18,0	53,6	22,1	0,3
Mussarela (2%*)	13,5	57,2	21,2	0,2
Mussarela (1%*)	8,0	57,3	25,7	0,2
Mussarela baixa umidade	23,7	47,0	25,0	0,3

Queijos com 3 dias de fabricação e pH=5,2.

\* Porcentagem de gordura no leite utilizado para produzir a Mussarela

**Tabela 2.2.2. Composição média de Mussarela - Brasil (FURTADO, 1990).**

TIPO DE QUEIJO	GORDURA (%)	UMIDADE (%)	PROTEÍNA TOTAL (%)	pH
Mussarela para Pizza	23,7	47,0	25,0	5,2

A composição físico-química deste queijo é extremamente variável de acordo com a sua origem e tipo. Em países como a Itália e EUA, existem recomendações legais e cada tipo de Mussarela possui uma determinada composição, tendo que manter, dentro de limites, alguns índices tais como: extrato seco, gordura no extrato seco e umidade (CORTESE & MARANELLI, 1982); porém no Brasil, infelizmente, tais recomendações são inexistentes. Até pouco tempo, a Mussarela era considerada por muitos produtores como um queijo que poderia ser feito com leite de qualidade inferior, cru ou pasteurizado; representando desta forma, uma alternativa interessante para a utilização do leite ácido recebido nos laticínios, apesar disto estar em desacordo com a legislação vigente.

Essa visão distorcida a respeito da produção de um queijo tão complexo quanto a Mussarela está mudando rapidamente provavelmente devido ao rápido crescimento no mercado das grandes cadeias de "fast food" que possuem requerimentos muito específicos e restritos para a Mussarela que utilizam como ingrediente básico no preparo de seus produtos (pizza, sanduíches, etc.). O segundo motivo seria a integração do Brasil ao MERCOSUL, o que fez com que as normas brasileiras para fabricação de queijos, seus padrões físico-químicos e microbiológicos tivessem que ser revisadas e adequadas às exigências do mercado muito mais amplo e competitivo do que aquele contido dentro das fronteiras nacionais (FURTADO & LOURENÇO NETO, 1997).

O grupo de produtos lácteos, do sub-grupo 3 do MERCOSUL aprovou um Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) para a Mussarela e este será brevemente internalizado pelo Brasil, passando a ser então a lei vigente sobre o tema. O PIQ determina os padrões físico-químicos da Mussarela, que serão muito amplos e flexíveis considerando-se diversas variedades de Mussarela existentes no mercado, para os diferentes tipos de consumo. Por exemplo a Mussarela estará tanto na categoria dos queijos de média umidade (36 a 46%), como na de muito alta umidade (mais de 55%), além de ser classificada como queijo gordo (entre 45 e 60% de Gordura em base seca-GBS) ou semi gordo (entre 25 e 46% de GBS).

O item 7.1 das Considerações Gerais do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos, que consta na Portaria 146 do Ministério da Agricultura, afirma que somente os queijos com mais de 60 dias de cura podem ser produzidos com leite cru. A Mussarela é considerada um queijo fresco e portanto deve ser produzida com leite pasteurizado. A portaria 146 do Ministério da Agricultura (MAARA) determinou os padrões microbiológicos para Mussarela que estão mostrados na tabela 2.2.3. Para estes padrões microbiológicos, adotou-se como referência um queijo com umidade média (36 a 46%), em comum acordo pelos países-membros do MERCOSUL. Estes padrões microbiológicos estão em vigor desde maio de 1996.

**Tabela 2.2.3. Requisitos Microbiológicos para a Mussarela**

Microorganismos	n	c	m	M	Método de Análise
Coliformes/g a 30°C	5	2	1.000	5.000	FIL 73A:1985
Coliformes/g a 45°C	5	2	100	500	APHA: 1992 e 24
<i>Estafilococcus coag<sup>+</sup></i> /g	5	2	100	1.000	FIL 145:1990
<i>Salmonella sp</i> /25g	5	0	0	0	FIL 93A:1985
<i>Listéria monocytogenes</i> /25g	5	0	0	0	FIL 143:1990

n=número de amostras de cada lote

c= número máximo de amostras que podem ter valor entre o m e M

### 2.3. MUDANÇAS CAUSADAS PELO ARMAZENAMENTO EM TEMPERATURA DE RESFRIAMENTO E CONGELAMENTO

Durante as primeiras semanas de armazenamento refrigerado a Mussarela feita com fermento termofílico sofre drásticas mudanças em sua textura e capacidade de derretimento. A Mussarela recém processada quando submetida ao derretimento é dura, tem consistência "granular", possui viscosidade aparente elevada, baixa formação de óleo livre e perde água facilmente. Esta características mudam acentuadamente nas duas primeiras semanas de armazenamento refrigerado resultando em um produto com menor viscosidade aparente e melhor retenção de água, também ocorre um aumento na formação de óleo livre e quando a Mussarela é submetida ao derretimento, a consistência é mais macia e homogênea (KINDSTEDT, 1987).

O efeito de diferentes velocidade de congelamento (alta e baixa) foi estudado em Mussarela. Após o descongelamento o queijo foi mantido sob refrigeração e foram analisadas as propriedades funcionais, a proteólise e a separação de água ao longo do armazenamento e concluiu-se que as velocidades de congelamento não causaram alterações significativas no comportamento da Mussarela (ZHANG et alli, 1995).

Foi estudado o efeito da baixa velocidade de congelamento em Mussarela pois comercialmente esta é a condição mais empregada. Após o descongelamento, o queijo foi mantido sob refrigeração e foram analisadas as propriedades funcionais, a proteólise e a separação de água ao longo do armazenamento. Concluiu-se que as amostras congeladas/descongeladas não diferiam das amostras controles mantidas a 4°C. O congelamento lento resultou na suspensão temporária das mudanças que normalmente ocorre nas primeiras semanas de armazenamento refrigerado de queijo Mussarela. Após o descongelamento o processo de maturação seguiu sem qualquer alteração (ZHANG et alli, 1996).

CERVANTES et alli (1983), estudaram os efeitos do congelamento, do descongelamento e da concentração de sal na textura de Mussarela com baixa umidade e parcialmente desengordurada. O queijo foi congelado a -15°C e descongelado a 5,6°C. O período de estocagem foi de uma semana e não foram constatadas alterações na textura devido ao congelamento.

DAHLSTROM (citado por TUNICK et alli, 1991) ao estudar o efeito de condições comerciais de congelamento em peças de Mussarela, constatou que imediatamente após o descongelamento o queijo exibia pouca coesividade e derretimento, separação de gordura, sabor ácido, aparecimento de umidade na superfície e manchas brancas de descoloração. Após a armazenagem refrigerada por um período de 21 dias, as amostras temperadas não apresentaram diferença significativa das amostras que haviam permanecido sob refrigeração.

Segundo DIESER et alli (1993), o tempo de temperagem após o descongelamento permitiu que a Mussarela sofresse o amaciamento que

normalmente ocorre com o produto que é mantido sob refrigeração em função da proteólise. Ele constatou que o queijo submetido a temperagem recuperou parte das propriedades reológicas apresentadas pelo controle.

BERTOLA et alii (1996) observou que a Mussarela congelada e posteriormente temperada por período de 14 a 21 dias não perdia qualidade quando comparada com a que havia permanecido sob refrigeração.

O processo de congelamento e descongelamento não afetou de maneira significativa o derretimento mas afetou a separação de óleo livre sendo esta mais elevada após o tratamento de acordo com APOSTOLOPOULOS & MARSHALL (citado por APOSTOLOPOULOS et alii, 1994).

A forma do queijo Mussarela (blocos, cubos ou ralado) quando este é submetido ao congelamento interfere na capacidade de derretimento e na elasticidade. Para se obter um bom derretimento após o descongelamento é aconselhável manter o queijo em blocos, congelá-lo lentamente e se estocar o produto congelado pelo menor período possível (OBERG et alii, 1992).

## 2.4. PROTEÓLISE

A utilização da proteólise como um índice de maturação é comumente adotada para diversas variedades de queijos envolvendo a separação, quantificação e caracterização dos compostos nitrogenados do queijo durante a cura (FARKYE & FOX, 1990).

Os termos extensão e profundidade de proteólise foram sugeridos por BONDZYNSKI (citado por WOLFSCHOON-P, 1983). A extensão da proteólise, ou índice de maturação, caracteriza-se pela quantidade de substâncias nitrogenadas solúveis (NS), acumuladas durante o processo de degradação da proteína e expressa como porcentagem do nitrogênio total (NT):

$$\text{extensão} = \frac{\text{NS} \times 100}{\text{NT}}$$

A determinação analítica da extensão da proteólise é baseada na precipitação isoelétrica (pH = 4,6) da caseína em uma amostra diluída de queijo, seguida pela quantificação do nitrogênio solúvel através do método de Kjeldahl. Segundo LE BARS et alli (citado por DESMAZEAUD & GRIPON, 1977), 28% da fração solúvel a pH 4,6 é composta por peptídios com peso molecular inferior a 3000 Daltons (Da); 50% por peptídios com peso molecular entre 3000 e 5000 Da e 20% por peptídios com peso molecular superior a 5000 Da.

A profundidade da proteólise abrange as substâncias nitrogenadas de baixo peso molecular (como aminoácidos, oligopeptídios, aminas, etc.), acumuladas durante o processo de degradação da proteína. A profundidade pode ser quantificada pelo teor de nitrogênio não protéico (NNP), solúvel em ácido tricloroacético (TCA) com concentração de 12% e expressa como porcentagem do nitrogênio total (NT):

$$\text{profundidade} = \frac{\text{NS} \times 100}{\text{NT}}$$

A ação enzimática do coalho estende-se por todo o período de maturação do queijo, produzindo peptídios de altos e eventualmente baixos pesos moleculares, porém sem chegar a produção de aminoácidos (WOLFSCHOON-P., 1983). O coalho é responsável pela produção de grande parte do nitrogênio solúvel a pH 4,6 e somente por uma pequena parcela do nitrogênio solúvel a TCA 12% (FOX, 1988). O trabalho de DESMAZEAUD & GRIPON (1977) conclui que a extensão da proteólise deve-se principalmente à ação proteolítica do coalho sobre as caseínas do queijo.

Na Mussarela devido ao curto tempo de maturação, o principal agente de cura é o coalho responsável pela proteólise primária do queijo (CREAMER, 1976).

As proteinases e peptidases do fermento láctico atuam sobre os peptídios liberados, principalmente, pelo coalho, produzindo aminoácidos e compostos de baixo peso molecular. Logo o índice de profundidade de proteólise relaciona-se à atividade do proteolítica do fermento na maturação de queijo (O'KEEFFE et alli, 1978).

As várias frações constituintes da caseína e muitos de seus produtos obtidos durante a proteólise podem também ser observados através da eletroforese. Provavelmente esta técnica é a mais utilizada atualmente para acompanhar o processo de maturação de queijos (FOX, 1989).

A proteólise contribui para a cura dos queijos de, pelo menos, quatro formas: (1) pela contribuição direta no sabor ou no sabor residual como por exemplo, amargor, ou indiretamente via catabolismo de aminoácidos, aminas, ácidos, tióis, tioésteres, etc.; (2) pelo aumento da liberação de compostos com sabor durante a mastigação; (3) alterando o pH, via formação de  $\text{NH}_3$  e (4) modificando a textura através da quebra da rede protéica, aumento de pH e da ligação de água e formação de grupos amina e carboxila (VISSER, 1993).

A proteólise ocorre em função de quatro e em algumas variedades de queijo de cinco agentes de cura: (1) resíduos das enzimas coagulantes; (2) enzimas naturais do leite (plasmina); (3) fermento bacteriano e suas enzimas, que são liberadas após a lise das células; (4) fermento secundário, por exemplo, bactérias propiônicas, *Brevibacterium linens*, leveduras, mofo (*Penicillium roqueforti* e *Penicillium candidum*) e suas enzimas e (5) bactérias contaminantes, ou seja os microorganismos que sobreviveram à pasteurização do leite ou contaminaram o leite após a pasteurização (FOX, 1988).

Apenas parte do coalho adicionado ao leite permanece no queijo, em média cerca de 6% do coalho é retido. A quantidade retida é influenciada pelo tipo de coalho, pelo pH e pela temperatura de cozimento da massa (VISSER, 1993). A baixa taxa de degradação da caseína observada na Mussarela provavelmente,

deve-se a alta temperatura do tratamento térmico dado à massa do queijo durante o processamento deste (CREAMER, 1976).

O coalho representa um importante papel na degradação inicial da caseína- $\alpha_{s1}$ , esta hidrólise é influenciada pelo pH e pela concentração de NaCl do queijo. A quimosina hidrolisa prontamente a caseína- $\alpha_{s1}$ , mas é pouco efetiva na proteólise de outras frações protéicas (FARKEY & FOX, 1990; DESMAZEAUD & GRIPON, 1977). Neste processo estão envolvidos dois fatores: a especificidade da enzima e a acessibilidade das ligações peptídicas às enzimas. A quimosina cliva predominantemente as ligações nas quais estão presentes os aminoácidos leucina e fenilalanina, degradando mais extensamente a caseína- $\alpha_{s1}$  que a  $\beta$ -caseína. A  $\beta$ -caseína é muito resistente à proteólise em queijos maturados por bactérias. Embora a concentração de  $\beta$ -caseína neste tipo de queijo diminua ao longo do período de cura, os  $\beta$ -peptídios normalmente produzidos pelo coalho não aparecem, sugerindo que a plasmina e/ou proteinases bacterianas sejam as causadoras desta degradação. Na maioria dos queijos, parte da  $\beta$ -caseína permanece intacta até o final da maturação, com exceção das variedades maturadas por mofos internos (FOX, 1988).

A plasmina é a principal proteína endógena do leite, é uma protease alcalina termorresistente e causa significativa hidrólise da  $\beta$ -caseína produzindo  $\gamma$ -caseína e proteoses peptonas (GRAPPIN et alii, 1985).

Em queijos Suíços e Mussarela, as altas temperaturas utilizadas no processamento inativam quase que totalmente a quimosina presente. A plasmina entretanto é relativamente resistente ao calor e a quebra da caseína nestes queijos parece estar associada principalmente com a atividade da plasmina (LAWRENCE et alii, 1987).

Os fermentos lácticos geralmente empregados na produção de queijo não são capazes de degradar a caseína- $\alpha_{s1}$ . As proteases dos *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* são quase sem exceção, específicas para

a  $\beta$ -caseína. Especula-se que esta especificidade esteja relacionada ao alto teor de prolina desta caseína (WOLFSCHOON-P, 1983).

A deterioração da Mussarela esta altamente correlacionada à proteólise que provoca o amaciamento do produto e perda da propriedade de "ralar" do queijo. Em baixas temperatura a taxa de proteólise é lenta devido a baixa atividade enzimática (MELACHOURIS & TUCKEY, 1967).

A proteólise do queijo foi acompanhada através da técnica de eletroforese. Na Mussarela, até 45 dias de armazenamento congelado, não foi constatada degradação da caseína- $\alpha_{s1}$ . Após 60 dias de congelamento foi verificada uma pequena intensidade de proteólise e a partir deste ponto observou-se um aumento progressivo da degradação da caseína com o tempo de armazenagem (GHOSH & SINGH, 1991).

## 2.5. EFEITO DO TEOR DE SAL

O sal é utilizado na grande maioria dos queijos, e exerce uma ou mais das seguintes funções: (1) modificação direta do sabor do produto, queijos com menos de 0,8% de sal são insípidos; (2) promove a sinerese do coágulo ou do queijo, controla o teor de umidade; (3) reduz a atividade de água; (4) influencia a atividade do agente coagulante, do fermento, dos microorganismos que sobrevivem a pasteurização, também controla a atividade das enzimas proveniente dos microorganismos e as presentes no leite, como a plasmina; (5) inibe o crescimento de microorganismos contaminantes; (6) em alguns tipos de queijos, controla a atividade dos microorganismos após a fermentação, interferindo no metabolismo da lactose e conseqüentemente no pH afetando a taxa de maturação e a qualidade do queijo (FOX, 1987).

Quanto ao sal, existem dois fatores importantes que são a concentração média no produto e a uniformidade da distribuição deste no queijo. A umidade é

inversamente proporcional e o pH é diretamente proporcional ao teor de sal. Uma vez que a qualidade dos queijos é fortemente dependente do teor de umidade, teor de sal/umidade (S/U) e do pH, é razoável supor que a qualidade varie entre blocos de queijo de um mesmo lote e até entre diferentes parte de um mesmo bloco (FOX, 1987).

A atividade proteolítica tanto do coalho quanto das enzimas do fermento é fortemente influenciada pelo teor de sal do queijo. O sal pode agir na parede celular e nas estruturas da membrana dos microorganismos do fermento, diminuindo a acessibilidade das enzimas bacterianas, ou ter um efeito inibitório direto em várias enzimas proteolítica (VISSER et alli, 1983). A taxa de proteólise durante a maturação do queijo pode ser sensivelmente afetada pela relação sal/umidade (THOMAS & PEARCE, 1981).

No caso de Mussarela, parece que o desenvolvimento de sabor amargo poderia ser inibido pelo aumento do conteúdo de sal do queijo, uma vez que o sal controla a intensidade da proteólise (KELLER et alli, 1974).

A concentração de sal influencia de maneira significativa a maturação da Mussarela e as mudanças que ocorrem nas propriedades funcionais (viscosidade aparente e formação de óleo livre) ao longo do armazenamento refrigerado (KINDSTEDT et alli, 1992).

O sal influencia significativamente a separação de óleo livre, segundo RIPPE & KINDSTEDT (citado por KINDSTEDT, 1987), a separação de óleo livre em Mussarela foi superior no centro do queijo (onde o teor de sal era menor) quando comparado com a superfície deste (onde teor de sal era superior); essa determinação foi realizada logo após a fabricação e depois de 16 dias de armazenamento. Analisando da superfície dos queijos, foi observado que o conteúdo de sal era alto e o de cálcio era baixo, desta forma, os autores concluíram, que o sódio da salmoura substituiu o cálcio que se encontrava ligado a caseína provocando a migração do cálcio para salmoura. Esta substituição do Ca pelo Na na caseína provocaria um aumento na capacidade emulsificante da caseína solúvel,

deste modo gordura ficaria mais fortemente emulsificada pela proteína, implicando em uma menor separação de óleo livre durante o derretimento. Esse mesmo resultado foi observado em um outro trabalho onde foi avaliada a variação da composição e das propriedades funcionais que ocorrem em Mussarela salgada em salmoura (KINDSTEDT et alii, 1992).

Em contradição ao observado anteriormente, KOSIKOWSKI (citado por APOSTOLOPOULOS et alii, 1994), afirma que a matriz de paracaseína (formada pela perda parcial do cálcio da matriz de paracaseína monocálcica para a salmoura), possui baixa capacidade de retenção da gordura, portanto a diferença no teor de sal não influenciaria na separação de gordura.

## 2.6. CARACTERÍSTICAS DE TEXTURA DO QUEIJO CRU

### 2.6.1. TEXTURA DE QUEIJO - MUSSARELA

A matriz protéica de um queijo novo consiste em moléculas de caseína- $\alpha_{S1}$  ligadas por meio de interações hidrofóbicas entre aminoácidos terminais, inicialmente a renina hidroliza a ligação Phe<sub>24</sub> e Val<sub>25</sub> da caseína- $\alpha_{S1}$ , levando a formação da caseína- $\alpha_{S1-I}$  com a quebra da matriz protéica. Esta quebra específica é responsável pela diminuição da firmeza que ocorre no estágio inicial da maturação. A acentuada influencia do NaCl na proteólise da caseína- $\alpha_{S1}$ , justifica a sua grande importância na textura dos queijos (FOX, 1987).

Segundo LAWRENCE et alii (1987), a textura de queijos é dependente da relação caseína intacta/umidade e do pH. DE JONG (1976) observou uma boa correlação entre a firmeza e a quantidade de caseína  $\alpha_{S1}$  intacta. Esta quebra primária (caseína  $\alpha_{S1} \rightarrow$  caseína  $\alpha_{S1-I}$ ) parece ser responsável pelo amaciamento do queijo durante os primeiros estágios de maturação (CREAMER & OLSON, 1982).

Como consequência da proteólise na caseína- $\alpha_{S1}$  durante o armazenamento refrigerado da Mussarela ocorrem alterações na textura e na microestrutura. Através das fotografias (microscópio eletrônico de varredura) verificou-se que os glóbulos de gordura coalesceram ao longo do período de armazenagem e a microscopia (transmissão eletrônica) mostrou que inicialmente visualizavam-se as micelas e submicelas de caseína porém ao longo do período de estocagem foi observado a aglomeração da caseína (TUNICK et alli, 1995).

As características de textura dos queijos mudam significativamente durante a estocagem devido ao crescimento microbiano, a perda de umidade, a atividade enzimática (degradação de proteína) e a difusão do sal (CERVANTES et alli, 1983). Geralmente se não ocorre perda de umidade durante a maturação o queijo sofre um amolecimento devido a hidrólise protéica (DE JONG, 1976).

Métodos físicos (objetivos) para avaliar o corpo e a textura de queijos em substituição à análise sensorial (subjetiva) são bastante desejáveis. Entretanto, GREEN et alli (1985), adverte que as medidas instrumentais de textura de queijos só podem ser realizadas quando estas envolverem a fracturabilidade do produto e simularem um processo semelhante ao que ocorre durante o consumo do produto ou trituração deste.

A maior dificuldade em medir as propriedades reológicas de queijo consiste na retirada de amostras representativas. Muitas variedades, tais como Cheddar, Cheshire e alguns "Blue Cheese" são heterogêneos e fraturáveis, outros queijos como os suíços apresentam olhaduras que causam problemas com relação a homogeneidade (FARKYE & FOX, 1990).

CHERL-HO et alli (1978), estudando a textura de queijos, por meio da análise sensorial verificou quais eram os atributos realmente importantes concluindo que a dureza, a elasticidade e a adesividade eram os mais significantes, pois obtiveram um alto coeficiente de correlação entre análise sensorial e instrumental. Este estudo também confirmou que a dureza era a característica mais importante com relação as preferências dos consumidores e percepção sensorial. Segundo ZOON (1991) a

dureza instrumental tem sido considerada um atributo muito importante e portanto estudado na grande maioria dos trabalhos onde é avaliada a textura de queijos. DAMÁSIO et alli (1996) estudaram a textura de Mussarela (sete marcas comerciais) sensorialmente (com uma equipe treinada através da análise descritiva quantitativa para textura) e correlacionaram com a textura instrumental utilizando o TAXT<sub>2</sub>, bons coeficientes de correlação foram encontrados quando foram correlacionados os diversos atributos instrumentais com cada um dos atributos sensoriais.

As maiores inovações na análise do perfil de textura surgiram com o desenvolvimento do texturometro da General Food que simulava a mastigação comprimindo duas vezes a amostra utilizando-se um cilindro (FRIEDMAN et alli, 1963; SZCZESNIAK et alli, 1963). A força necessária para comprimir a amostra era registrada em gráficos e a partir da análise destas curvas obtidas, extraia-se sete parâmetros de textura, sendo cinco deles medidos diretamente a partir das curvas e dois calculados a partir do demais parâmetros. SZCZESNIAK (1975) definiu os parâmetros de textura:

- Fraturabilidade (originalmente denominado "brittleness") é a força significativa encontrada na primeira quebra no primeiro pico;
- Dureza ("hardness") é o pico de força na primeira compressão (primeira mordida);
- Coesividade ("cohesiveness") é a razão entre a área da segunda compressão e da primeira compressão;
- Elasticidade ("springiness") é a velocidade com que o material deformado volta a sua condição original após ser retirada a força deformante;
- Adesividade ("adhesiveness") é a área da força negativa, representa pelo trabalho necessário para "descolar" o dispositivo de compressão da amostra;
- Mastigabilidade ("chewiness") é o produto dureza X coesividade X elasticidade;
- Gomosidade ("gumminess") é o produto dureza X coesividade.

Esses parâmetros de textura instrumentais foram correlacionados com os parâmetros sensoriais de textura obtendo-se ótimos resultados (SZCZESNIAK et alli, 1963).

BOURNE (1968) adaptou o Instron para fazer a análise do perfil de textura, seguindo a interpretação de FRIEDMAN et alli (1963), só que ao invés de medir a área total abaixo das curvas para calcular a coesividade, ele mediu a área somente referente a compressão, excluindo desta forma a porção de decompressão. OLKKU & RHA (1975); PELEG (1976) fizeram mais algumas alterações para aprimorar o cálculo destes parâmetros.

Este tipo de teste consumia muito tempo, porém mostrou-se muito útil no auxílio de pesquisas no desenvolvimento de produtos e no controle de qualidade, para agilizar o processo de aquisição dos dados foi adaptado um programa de computador para auxiliar nesta função (BOURNE, 1978).

No estudo da textura instrumental, utilizando-se texturômetro determina-se o perfil de textura (TPA - Texture Profile Analysis). Nesta avaliação, a amostra deve ser submetida a dois ciclos de compressão, a resposta deste teste é gráfica e a partir da análise desta curva foram determinados os seguintes atributos (VAN VLIET, 1991):

- Dureza TPA ("TPA hardness") força necessária para atingir uma dada deformação.
- Coesividade TPA ("TPA cohesiveness") força necessária para que o dispositivo se descole da amostra.
- Elasticidade TPA ("TPA springiness") é a velocidade com que um material deformado volta a sua condição original após ser retirada a força deformante.
- Adesividade TPA ("TPA adhesiveness") é a quantidade de força para simular o trabalho necessário para sobrepor as forças de atração entre a superfície do alimento e a superfície em contato com este.
- Mastigabilidade TPA ("TPA chewiness") é a energia requerida para se mastigar um sólido até o ponto de ser engolido.
- Gomosidade TPA ("TPA gumminess") é a energia requerida para se desintegrar um alimento semi sólido ao ponto de ser engolido.

O autores deste artigo ressaltam que estes termos apresentam significados diferentes dos geralmente citados na reologia. Deve-se portanto, tomar o cuidado

de sempre que se referir a estes termos denomina-los corretamente. Por exemplo, deve-se dizer dureza TPA e não somente dureza.

## **2.6.2. FATIABILIDADE DA MUSSARELA CRUA**

A textura da Mussarela crua afeta a propriedade de "ralar" do queijo e também as propriedades funcionais do queijo derretido (KINDSTEDT, 1993).

Um problema muito sério encontrado em pizzarias e lanchonetes com relação a Mussarela é inicialmente a dificuldade em se fragmentar (ralar ou fatiar) e posteriormente existe a dificuldade na separação das fatias e no caso da mussarela ralada, pode ocorrer o reagrupamento dos fragmentos. Para a obtenção de um derretimento uniforme do queijo nas pizzas é necessário uma fragmentação homogênea para facilitar a distribuição dos pedaços durante a preparação. As Mussarelas com baixa umidade e as com baixa umidade e parcialmente desengorduradas, apresentam boa fragmentação e são as predominantemente utilizadas para o preparo de pizza (KINDSTEDT, 1991a).

Vários pesquisadores estudaram a relação entre medidas de textura de Mussarela e composição, estrutura e análise sensorial porém apesar das medidas do Instron fornecerem informações sobre as propriedades de fragmentação, não há na literatura trabalhos referentes a este assunto (KINDSTEDT, 1991).

## **2.7. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO QUEIJO CRU**

### **2.7.1. TEOR DE UMIDADE**

O teor de umidade e de gordura afetam a dureza, a mastigabilidade, a gomosidade e o derretimento. Diminuindo o teor de água no queijo obtêm-se um produto com uma textura mais firme devido a alteração na matriz protéica. A água

pode agir como lubrificante ou agente "plásticizante" entre as diferentes proteínas. Portanto abaixando-se o teor de água aumenta-se a dureza, a elasticidade, a gomosidade e a mastigabilidade e diminui-se o derretimento. A falta de água faz com que o queijo fique quebradiço e reduz a coesividade (TUNICK et alii, 1991).

Durante o armazenamento em baixas temperaturas de queijos pode ocorrer perda de umidade em função da permeabilidade do material de embalagem, da integridade do selamento, da umidade relativa entre a atmosfera interna e externa da embalagem, da temperatura de estocagem e do método de embalagem (ROSSI, 1972).

### 2.7.2. SEPARAÇÃO DE ÁGUA

Um aspecto significativo da proteólise é que conforme ocorre a hidrólise das proteínas, os peptídeos são formados. Dois novos grupos iônicos são gerados e eles irão competir pela água disponível no sistema, deste modo a água previamente disponível para a solvatação das cadeias protéicas se ligará aos novos grupos iônicos formados (LAWRENCE et alii, 1987).

Segundo GUO & KINDSTEDT (1995), em Mussarela ocorre um significativo decréscimo na separação de água ao longo das duas primeiras semanas de armazenamento o que pode ser explicado pelo substancial aumento na capacidade de retenção de água que ocorre durante este período. O aumento na capacidade de retenção de água da proteína da Mussarela, foi explicada, tomando como base a teoria de GEURTS. Na Mussarela fresca, a fase aquosa do queijo consiste basicamente, em uma salmoura diluída, contendo 3 a 4% de NaCl e 0,3 a 0.5% de Ca. Durante a maturação, é possível que a matriz de caseína insolúvel fique intumescida a nível microestrutural, formando em gel hidratado, este fato é acompanhado por uma progressiva solubilização da caseína intacta devido a ação do NaCl. Este intumescimento do gel protéico poderia resultar num aumento da

capacidade de retenção de água do queijo explicando a diminuição contínua da água livre que pode ser determinada por centrifugação.

OBERG et alli (1993) afirma que a Mussarela recém processada pode ser vista como uma esponja devido a significativa quantidade de umidade que fica fracamente retida na matriz protéica. É provável que esta característica de baixa capacidade de retenção de água da Mussarela fresca esteja associada com a passagem do soro para os grandes "canais" situados entre as fibras protéicas alongadas formadas durante a filagem. Durante a filagem ocorre a saída da água da matriz protéica em direção aos canais de gordura líquida, quando a gordura se solidifica, a água é forçada a voltar para a matriz protéica

## **2.8. PROPRIEDADES FUNCIONAIS DA MUSSARELA DERRETIDA**

A aceitação de um tipo de Mussarela para ser utilizada no preparo de Pizza é determinada tanto pelas suas propriedades funcionais quando crua quanto depois de derretida. Os parâmetros principais que devem ser controlados no processamento da Mussarela pois afetam as propriedades funcionais são: padronização do leite, condições de acidificação, processo de filagem da massa, etapas de salga/salmoura e estocagem/maturação (KINDSTEDT, 1991a).

### **2.8.1. CAPACIDADE DE DERRETIMENTO**

O derretimento está diretamente ligado a mudança de fase que ocorre com o queijo quando este é submetido ao aquecimento. Como resultado da aplicação de calor, a gordura que está no estado sólido passa ao líquido e as macromoléculas de proteína sofrem uma reorientação física. Ao mesmo tempo, a água do queijo começa a evaporar e algumas bolhas se entremeiam na matriz protéica. Portanto todos os tratamentos que afetem tanto a estrutura protéica quanto a distribuição das

gordura estão aptos a mudar o derretimento e a separação de óleo livre (APOSTOLOPOULOS et alii, 1994).

Derretimento é capacidade que as partículas de queijo tem de coalescerem formando uma massa de queijo uniforme e o alongamento ("stretchability") é a capacidade que o queijo derretido tem de formar longos filamentos que suportam pressão (KINDSTEDT, 1991a)

O derretimento e a separação de gordura aumentam com o tempo de armazenagem mais rapidamente em temperatura de refrigeração que em temperatura de congelamento, sendo o aumento do derretimento provavelmente ocorre devido a hidrólise protéica (HARVEY et alii, 1982).

PARK et alii (1984) afirmam que o derretimento é determinado essencialmente pela microestrutura e pelas características reológicas do queijo e só secundariamente por sua composição. Deste modo o derretimento foi determinado baseando-se na análise reológica e os resultados tem sempre como variáveis dependentes o tempo e a temperatura.

A determinação de algumas propriedades reológicas como elasticidade e os parâmetros convencionais de escoamento são essenciais para se medir o derretimento, porém a determinação deste parâmetros empíricos em laboratório é bastante complexa devido ao fato da inevitável separação de gordura que ocorre durante os testes (YANG & TARANTO, 1982). No estudo realizado por PARK et alii (1984) concluiu-se que os métodos usados para avaliar o derretimento forneciam parâmetros que poderiam ser usados apenas como indicadores para detectar grandes variações de derretimento entre amostras, não podendo ser utilizados para determinação de medidas quantitativas absolutas. A determinação das propriedades funcionais do queijo derretido é normalmente realizada através de métodos empíricos que fornecem resultados não muito consistentes (PARK et alii, 1984).

Comparando-se quatro métodos diferentes para avaliação da capacidade de derretimento de diversos queijos, entre eles Mussarela, chegou-se a conclusão de

que os testes Arnott (100°C, 15min.) e Schreiber (232°C, 5min.) produziram os resultados mais consistentes e reproduzíveis (PARK et alli, 1984).

### 2.8.2. SEPARAÇÃO DE ÓLEO LIVRE

A separação de gordura também conhecida como quebra de gordura ou formação de óleo livre ocorre quando a matriz de caseína se colapsa durante o aquecimento, permitindo que os glóbulos de gordura coalesçam dirigindo-se à superfície. As porcentagens de óleo livre podem ser expressas em função porcentagem de gordura ou com relação ao queijo (TUNICK, 1994).

O excesso de separação de óleo pode ser considerado como um defeito na aparência do queijo derretido. Este defeito tem adquirido uma maior importância na medida que cresce a preocupação da população em ter uma dieta saudável, com baixa ingestão de alimentos com elevados níveis de colesterol e gordura (KINDSTEDT & RIPPE, 1990).

Os teste tradicionais para medir formação de óleo livre, eram feitos com disco de queijo (com um diâmetro determinado) submetidos ao derretimento numa dada temperatura, por um determinado tempo. O óleo que se separava durante o derretimento era absorvido por um papel de filtro, formando um anel e a área deste determinada. Foi observado que este testes tradicionais consumiam muito tempo e para peças de queijo de aproximadamente 2,5 Kg os resultados não eram muito representativos, pois devido a grande variação ao longo da peça de queijo, a análise de separação de óleo livre apresentava um coeficiente de variação muito grande. Com a finalidade de obter-se resultados mais consistentes estes pesquisadores propuseram um novo método para uma determinação quantitativa, rápida e precisa do óleo livre. Este novo método implica em se retirar uma amostra significativa do queijo e homogeneiza-la adequadamente e então proceder a determinação do óleo livre (KINDSTEDT & RIPPE, 1990).

OLSON (1982), verificou que a separação de gordura foi maior no queijo estocado em baixas temperatura do que nos estocados sob refrigeração provavelmente devido a desnaturação protéica e devido a ruptura da membrana do glóbulo de gordura.

Segundo TUNICK (1994) a quantidade de óleo livre formada depende da interação entre gordura e caseína. A homogeneização do leite pode virtualmente eliminar a formação de óleo livre na Mussarela, apesar desta não ter nenhum efeito sobre a caseína foi concluído que a redução do tamanho das gotas de gordura era a chave para a redução da separação de gordura. Constatou-se que quando o leite não foi homogeneizado, a formação de óleo livre foi dependente da proteólise e da % gordura no extrato seco.

## 3. MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1. MATERIAL

Os reagentes utilizados nas análises químicas foram de grau analítico (p.a.) de diversas procedências.

Os equipamentos utilizados foram os comumente encontrados em laboratórios de controle de qualidade de laticínios.

#### 3.1.1. PROCESSO DE FABRICAÇÃO DA MUSSARELA

A matéria-prima utilizada neste experimento foi o queijo Mussarela produzido em um laticínio situado na cidade de Votuparanga, São Paulo. O queijo foi produzido de acordo com o fluxograma descrito na Figura. 3.1.1.1.

No processamento deste queijo foi utilizado fermento mesófilo R704 (*Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris*) e coalho líquido bovino Ha-la<sup>®</sup> (mistura de aproximadamente 20% de quimosina e 80% de pepsina bovina) da Christian Hansen<sup>®</sup>. É interessante ressaltar que o laticínio por medida de economia utiliza somente 0,25% de fermento, um quarto da quantidade de fermento freqüentemente utilizada que é cerca de 1% de fermento (OLIVEIRA, 1986). Após a embalagem (sacos plásticos termoencolhíveis - Grace<sup>®</sup>) os queijos foram acondicionados em recipientes isotérmicos e transportados para o Laboratório de Tecnologia Leites e Derivados da UNICAMP, durando o traslado cerca de 6 horas.

Após a chegada no Laboratório de Tecnologia Leites e Derivados, cada lote foi aleatoriamente dividido em duas partes sendo uma submetida ao congelamento lento em câmara fria (T= -20°C, simulando desta maneira a forma como o produto é comercialmente congelado) e assim mantidos durante 15 dias e a outra parte

mantida sob refrigeração ( $T=6-8^{\circ}\text{C}$ ) como controle. Após 15 dias, os queijos congelados foram transferidos para a câmara de refrigeração e mantidos por um período de 30 dias a temperatura de  $6-8^{\circ}\text{C}$ . Esse período de armazenamento refrigerado, a que os queijos foram submetidos após o congelamento, denominou-se temperagem.

Este experimento foi realizado em triplicata, a partir de três diferentes dias de fabricação, com um intervalo de uma semana entre a produção dos lotes. Cada lote foi composto por 10 peças de queijo cada um pesando aproximadamente 3.5 Kg.

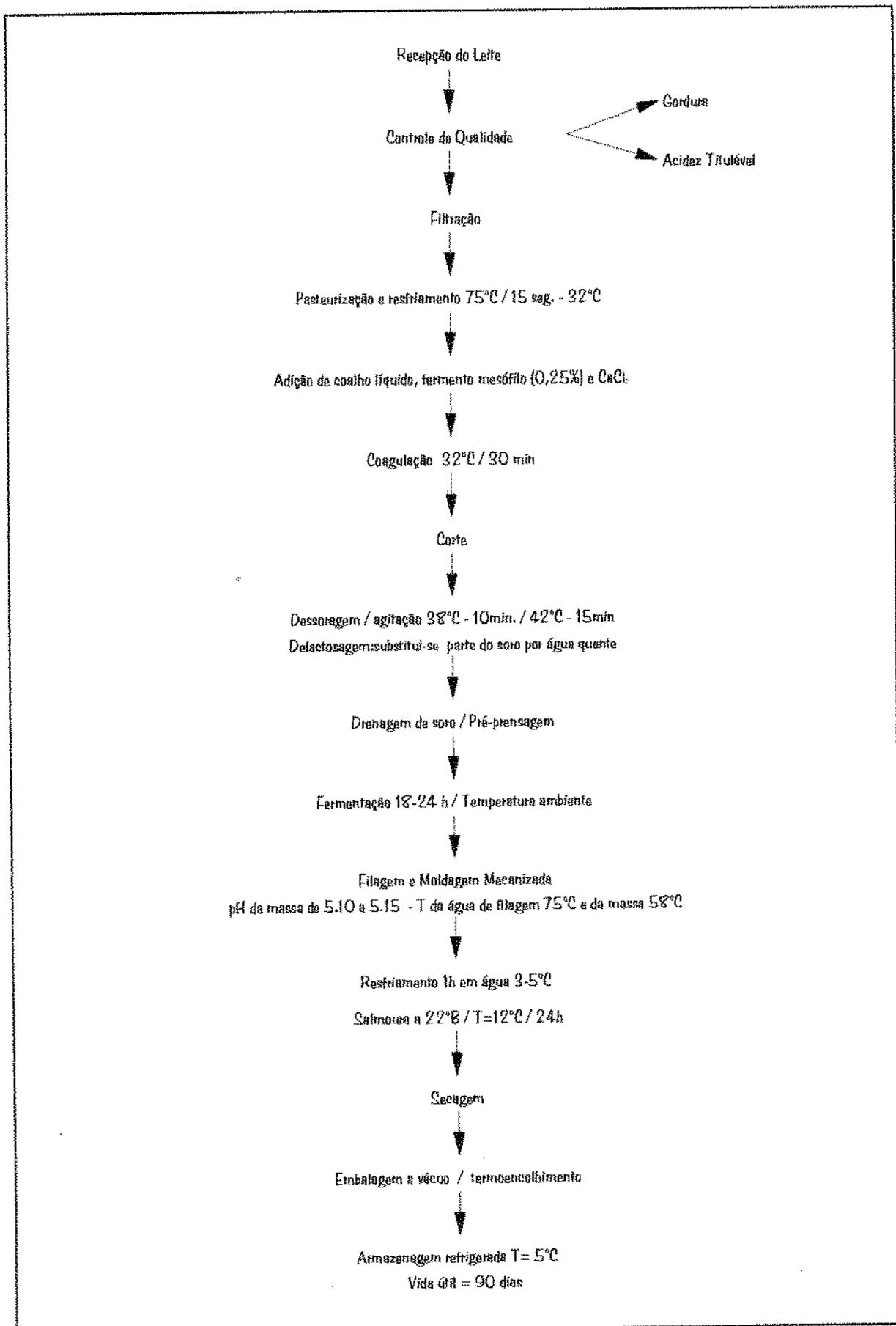
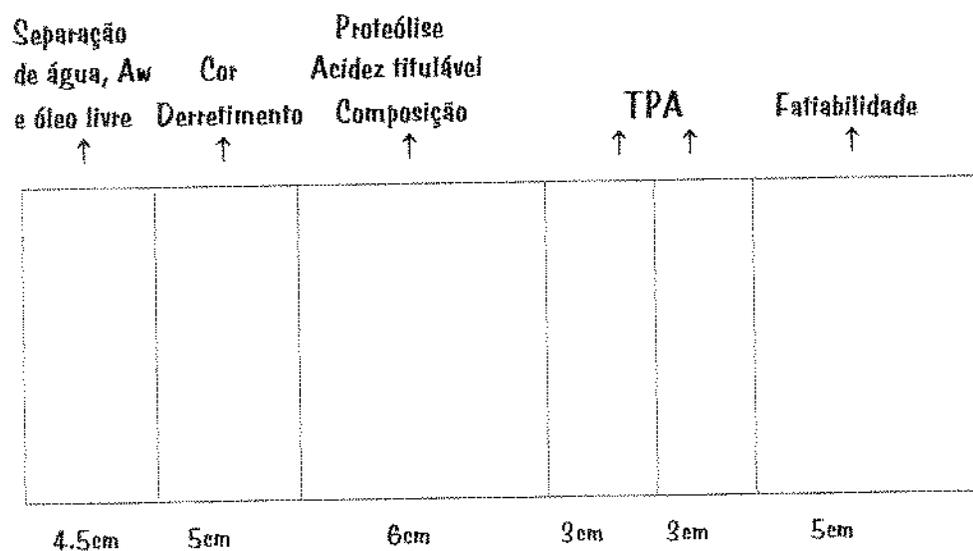


Figura 3.1.1.1: Fluxograma da fabricação de queijo Mussarela

## 3.2. MÉTODOS

As peças de Mussarela foram divididas como mostrado na Figura 3.2.1., onde estão indicadas as posições de retirada de amostras para a realização das análises de composição e dos testes para a avaliação da proteólise, do perfil de textura, da fatiabilidade e das propriedades funcionais dos queijos. Determinou-se a composição química do queijo fresco (3 dias). Os testes de acompanhamento da proteólise, do perfil de textura, da fatiabilidade e das propriedades funcionais da Mussarela foram determinados a 0, 1, 2, 3 e 4 semanas de armazenamento refrigerado, para as amostras controle e para as temperadas.



**Figura 3.2.1. Vista superior da peça de Mussarela de 3.5Kg e indicação dos locais de retirada de amostras para os diversos testes.**

## COMPOSIÇÃO DO QUEIJO

Amostras para as análises químicas (composição), acidez titulável e proteólise foram preparadas como descrito a seguir. De cada peça de queijo foi retirada uma fatia de aproximadamente 600g, (conforme indicado na Figura 3.2.1.), cortada em cubos pequenos, triturada em multiprocessador até as partículas atingirem tamanho entre 2-3 mm. As amostras foram então homogeneizadas manualmente e acondicionadas em frascos plásticos, sem espaço livre para minimizar alterações de umidade e mantidas em geladeira (6-8°C) até o momento da análise.

### 3.2.1. DETERMINAÇÃO DE CINZAS

As cinzas foram determinadas pelo método oficial da AOAC 935.42 (1995). O teste foi realizado com cinco repetições.

### 3.2.2. DETERMINAÇÃO DE GORDURA

O teor de gordura foi determinado pelo método volumétrico de Gerber conforme KOSIKOWSKI (1977), em triplicata. A gordura no extrato seco (GBS), foi calculada pela fórmula:

$$\% \text{ GBS} = \frac{\% \text{ de gordura}}{\% \text{ EST (Extrato Seco Total)}} \times 100$$

### 3.2.3. DETERMINAÇÃO DE SAL

A porcentagem de sal foi determinada pelo método de Volhard, em duplicata (RICHARDSON, 1985).

### 3.2.4. DETERMINAÇÃO DE UMIDADE

Foi determinada por gravimetria, em estufa a 105°C, segundo procedimento oficial da AOAC 925.23 - Sólidos Totais. O teste foi realizado em quadruplicata.

### **3.2.5. DETERMINAÇÃO DE NITROGÊNIO**

O Nitrogênio total foi determinado pelo método de macro Kjeldahl segundo o método oficial da AOAC 991.20. A proteína total foi calculada pela multiplicação da porcentagem de nitrogênio total por 6,38. O teste foi realizado em triplicata.

### **3.2.6. PROTEÓLISE**

#### **3.2.6.1. DETERMINAÇÃO DE ACIDEZ EM QUEIJOS**

Foi realizada em triplicata, segundo RICHARDSON (1985).

Neste teste aproximadamente 10g de Mussarela ralada foi homogeneizada por 35 segundos, com 95 ml água destilada a 60°C, para a extração do ácido láctico. A amostra foi filtrada em papel de filtro Whatman número 1 e se determinou a acidez pela titulação de 25 ml do filtrado com NaOH 0,1N, sendo o resultado expresso em % de ácido láctico.

#### **3.2.6.2. NITROGÊNIO SOLÚVEL A pH 4,6 E 12% TCA**

Os teores de nitrogênio solúvel em tampão acetato a pH 4,6 e em 12%TCA foram determinados para medir a extensão e a profundidade da proteólise no queijo ocorrida a 0, 1, 2, 3 e 4 semanas de armazenamento a 6-8°C. Os teores de N solúveis foram determinados por macro Kjeldahl e convertidos a proteína solúvel multiplicando-se pelo fator de conversão (N x 6,38). Os resultados foram expressos como porcentagem dos teores de proteína total da Mussarela. O teste foi realizado em triplicata, de acordo com BYNUM & BARBANO (1985).

### 3.2.6.3. ELETROFORESE

Amostras foram preparadas do seguinte modo: 0,1000g de queijo ou 0.0500g de caseinato de sódio em 5ml de tampão de amostra, de acordo com SHALABI & FOX (1988). Aplicou-se 7 $\mu$ l de amostra e 5 $\mu$ l de padrão no gel.

A eletroforése em gel de uréia foi realizada em uma unidade Mini-Protean BioRad, de acordo com o método modificado por FARKYE et alli (1991) a partir do método de ANDREWS (1983), utilizando-se 12% de concentração em acrilamida. Em todas as preparações foi feita uma pré-corrída por 30 minutos a 120 V e corrída a 120 V com 2h de duração. Caseinato de sódio foi utilizado como padrão. Os géis foram corados utilizando-se Coomanssie Brilliant Blue G250, de acordo com método de BLAKESLEY & BOEZI (1977).

O acompanhamento da proteólise por meio de eletroforese foi realizado com as amostras (controle e temperada) com 0, 1, 2, 3 e 4 semanas de armazenamento refrigerado.

## PROPRIEDADES FUNCIONAIS

### 3.2.7. DETERMINAÇÃO INSTRUMENTAL DO PERFIL DE TEXTURA DE MUSSARELA

A textura da Mussarela foi avaliada através da Análise do Perfil de Textura ("TPA"-Texture Profile Analysis) utilizando-se o texturômetro TAXT<sub>2</sub> (analisador de textura) Stable Micro Systems (SMS). O equipamento foi operado pelo programa Texture Expert<sup>®</sup>, que recebeu, construiu gráficos e analisou os resultados de textura, trabalhando em ambiente Windows Microsoft<sup>®</sup>.

### Preparo das amostras para TPA

1. De cada peça de mussarela 2 fatias de 30 mm de espessura foram destinadas a este teste. Destas fatias retirou-se 12 cilindros sendo 6 deles da região externa do queijo e os restantes da região central. O teste foi realizado com 10 cilindros, sendo 5 de cada uma das regiões.
2. As amostras tinham formato cilíndrico com diâmetro = 20mm e altura = 20mm.
3. O corte dos cilindros foi realizado com uma lâmina cilíndrica afiada fabricada sob encomenda para este teste.
4. As amostras foram embaladas em pequenos sacos plásticos e estes acondicionados dentro de saco plástico devidamente fechado para evitar o ressecamento das amostras. Com o objetivo de equilibrar a temperatura das amostras e mantê-la constante durante todo o teste, para se evitar alterações na textura, as amostras foram mantidas em banho térmico, com água e gelo dentro de um recipiente isotérmico por uma hora antes do início do teste e imediatamente avaliadas.
5. Foi verificada a homogeneidade e uniformidade das amostras durante o teste. Quando a amostra se desintegrou durante a medida, o resultado foi desconsiderado e o teste repetido.

As condições utilizadas no programa do texturômetro universal TAXT<sub>2</sub> ("Texture Analyser") Stable Micro System foram:

#### Teste de compressão: Força x Tempo

- Força tempo threshold = 20seg.
- Velocidade pré teste = 2.0mm/seg.
- Velocidade do teste = 1.0mm/seg.
- Velocidade pós teste = 2.0mm/seg.
- Distância que o dispositivo comprime a amostra = 10mm, equivalente a 50% de compressão
- Força de contato = 5.0g
- Dispositivo utilizado: cilindro metálico com 55mm de diâmetro (SMS P/55)

### 3.2.8. DETERMINAÇÃO DA FACILIDADE DE CORTE DA MUSSARELA

O teste foi realizado no texturômetro (analisador de textura) TAXT<sub>2</sub> Stable Micro Systems (SMS). O equipamento foi operado pelo programa Texture Expert<sup>®</sup>, que recebeu, construiu gráficos e analisou os resultados de textura, trabalhando em ambiente Windows Microsoft<sup>®</sup>.

#### Preparo das amostras

1. A partir de uma fatia de 5cm da peça de queijo cortou-se um bloco com as seguintes dimensões comprimento = 12cm, largura = 5cm e altura = 4cm e na parte superior deste foram marcados os seguintes pontos a partir de uma das extremidades: 3, 5, 7, 9 e 11cm. Nestes pontos foram efetuados os cortes.
2. Os blocos foram embalados em filme de PVC e acondicionados dentro de saco plástico devidamente fechado para evitar a desidratação das amostras. Com o objetivo de equilibrar a temperatura das amostras e mantê-la constante durante todo o teste para evitar alterações na textura, as amostras foram mantidas em banho térmico, com água e gelo dentro de um recipiente isotérmico por uma hora antes do início do teste e imediatamente avaliadas.

As condições utilizadas no programa do texturômetro universal TAXT<sub>2</sub> ("Texture Analyser") Stable Micro System foram:

#### Medida de força em compressão

- Tempo de permanência: 60seg.
- Velocidade pré teste = 2.0mm/seg.
- Velocidade do teste = 1.0mm/seg.
- Velocidade pós teste = 2.0mm/seg.
- Distância que o dispositivo penetra no bloco a partir da superfície = 20mm
- Força de contato = 5.0g
- Foi utilizado o dispositivo de cortar manteiga ("butter cutter").

As amostras para as avaliações de separação de óleo, separação de água, atividade de água e cor após o derretimento foram preparadas conforme descrito a seguir. De cada peça de queijo foi retirada uma fatia (conforme indicado na Figura 3.2.1.), cortada em cubos pequenos, triturada em multiprocessador até partículas atingirem tamanho entre 2-3 mm. As amostras foram então homogeneizadas manualmente e acondicionada em frascos plásticos, sem espaço livre para minimizar alterações de umidade e mantidas em geladeira (6-8°C) até o momento da análise.

### **3.2.9. SEPARAÇÃO DE ÁGUA**

O teste foi realizado em triplicata segundo GUO & KINDSTEDT (1995). O método consistiu na determinação da quantidade de água desprendida do queijo ralado, centrifugado a 12.500 x g (8780 rpm) por 75 minutos, a 25°C. A % de água livre foi expressa em relação % de umidade total da amostra.

### **3.2.10. DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE DE ÁGUA**

Foi determinada em duplicata utilizando-se um Aqualab CX-2 Decagon Devices. O queijo ralado foi acondicionado em cápsulas plásticas e a temperatura equilibrada a 20°C em banho térmico.

### **3.2.11. DETERMINAÇÃO DA COR**

A avaliação de cor de queijos pode ser realizada através de uma medida subjetiva via análise sensorial e através de uma medida objetiva a análise instrumental. A avaliação objetiva da cor visa acompanhar a maturação da Mussarela.

O sistema Hunter Lab desenvolvido por R.S. Hunter (1948) consiste em um sistema de cor lido diretamente por meio de um colorímetro fotoelétrico. Neste sistema, a variação de cor era definida em termos de três parâmetros o "L" Luminosidade (variando de branco → negro), "a" variando vermelho (+a) a verde (-a) e o "b" variando amarelo (+b) a azul (-b).

#### 3.2.11.1. QUEIJO CRU

Para avaliar a cor do queijo cru foi utilizado o colorímetro Minolta portátil acoplado a um processador de dados DP-301, determinou-se os valores de L, a e b (Hunter Lab color space) das amostras ao longo do tempo de armazenamento. Avaliou-se a cor em três pontos da superfície do queijo.

#### 3.2.11.2. QUEIJO APÓS O DERRETIMENTO ("BROWNING TEST")

A cor do queijo depois de derretido foi determinada segundo o método de BARBANO et alli, (1993), em triplicata. O teste consistiu em se ralar o queijo, colocar 20g deste em uma forma de Teflon redonda (com aproximadamente 5 cm de diâmetro), manter esta em estufa a 104°C por uma hora e a temperatura ambiente, por meia hora. O teste foi realizado em triplicata.

Para avaliar a cor dos discos de queijo derretido foi utilizado o colorímetro Minolta portátil acoplado a um processador de dados DP-301, determinou-se os valores de L, a e b (Hunter Lab color space) das amostras ao longo do tempo de armazenamento.

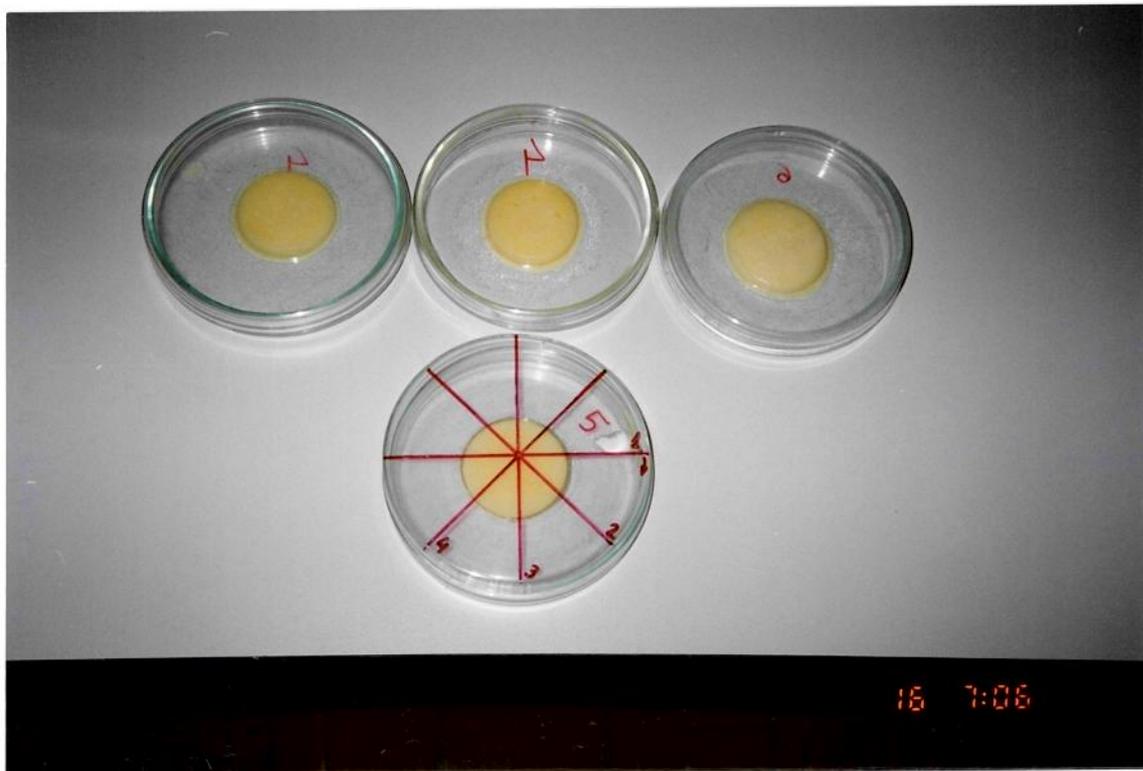
### 3.2.12. DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE DE DERRETIMENTO

A capacidade de derretimento da Mussarela foi determinada pelo método modificado de Schreiber's conforme descrito por KOSIKOWSKI (1982). O teste foi realizado em quadruplicata.

O teste consistiu em se retirar uma fatia de queijo com espessura de 35mm (temperatura 6-8°C), e desta um cilindro de 36mm de diâmetro com o auxílio de uma sonda de aço inox. O cilindro foi cortado em fatias de 7 mm de espessura com um fatiador de ovo modificado. A primeira e a última fatia cortadas do cilindro foram desprezadas. Cada fatia de queijo foi colocada no centro de uma placa de Petri, tampada e deixada a temperatura ambiente por 30 minutos. As placas foram então levadas à estufa a 104°C por 7 minutos e posteriormente permaneceram por 30 minutos a temperatura ambiente. O diâmetro do queijo derretido foi determinado em quatro direções representadas por quatro linhas dispostas com ângulo de 45°, o diâmetro de cada amostra foi calculado como a média dos diâmetros nas quatro direções. Os instrumentos utilizados nesta análise e um exemplo da mesma podem ser observados na Figura 3.2.12.1. e na Figura 3.2.12.2. respectivamente.



**Figura 3.2.12.1. Instrumentos utilizados para determinar a capacidade de derretimento**



**Figura 3.2.12.2. Exemplo da determinação da capacidade de derretimento da Mussarela**

### 3.2.13. DETERMINAÇÃO DE ÓLEO LIVRE

Foi utilizado o método de Gerber modificado para determinação do óleo livre em Mussarela derretida, em quadruplicata, segundo KINDSTEDT & FOX (1991b).

Este teste consistiu na determinação da quantidade de óleo separado a partir de 6g de queijo ralado (tamanho da partícula  $\leq 5$  mm, mantido a 4°C por 2h), após o derretimento durante 4 minutos a 100°C (banho com água em ebulição) em tubos com tampa rosqueada. O óleo separado do queijo foi emulsionado com água acidificada e posteriormente com solução de água-metanol. Utilizando pipeta Pasteur, esta fase água-óleo livre foi então separada quantitativamente e transferida para butirômetros de queijo (3g), que foram centrifugados, sendo a altura da coluna de gordura medida diretamente na escala dos butirômetros. Nos resultados a porcentagem de óleo livre foi expressa em relação ao teor total de gordura da amostra em base seca (GBS = Gordura em Base Seca).

A % de óleo livre foi calculada utilizando-se a seguinte fórmula:

$$\% \text{ de óleo livre} = \frac{\text{altura da coluna medida na escala dos butirômetros}}{2}$$

2

### 3.3. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento deste experimento foi do tipo Fatorial Completo com dois fatores estudados (1) condições de estocagem (tratamento dado as amostras) e (2) tempo de armazenamento refrigerado (6 a 8°C). No caso da análise do perfil de textura instrumental (TPA) foi também estudado um outro fator, o local de retirada da amostra na fatia de queijo. Esse experimento foi aleatorizado em blocos (cada dia de fabricação = um bloco).

1. Condições de estocagem (2 níveis):
  - 1 - Peças congeladas (temperadas)
  - 2 - Peças resfriadas (controle)
  
2. Tempo de armazenagem (5 níveis):
  - 0 - semana zero
  - 1 - semana um
  - 2 - semana dois
  - 3 - semana três
  - 4 - semana quatro
  
3. Local de retirada da amostra (2 níveis):
  - 1 - Amostra retirada do centro
  - 2 - Amostra retirada da extremidade
  
4. Bloco: cada lote de queijo proveniente de cada um dos dias de fabricação foi representado por um bloco.

A influência da variação da composição do leite dos três dias de fabricação sobre os parâmetros estudados nos queijos, foi removida do erro experimental no planejamento estatístico utilizando-se o dia de fabricação como fator de bloco ("blocagem" - "blocking"). Procedendo desta forma removeu-se do erro experimental a variabilidade dos blocos, ou seja no planejamento do experimento, foram consideradas as diferenças entre os lotes para deste modo diminuir o erro experimental.

A aleatorização do experimento foi realizada pelo sorteio das peças. Para cada um dos blocos (lotes) foram realizados dez ensaios, cada peça de Mussarela foi submetida a um dos ensaio cuja as condições estão descritas na tabela 3.3.1.

**Tabela 3.3.1: Delineamento do experimento para cada bloco**

Ensaio	Condição de estocagem	Tempo de armazenamento	Resposta
1	1	0	
2	1	1	
3	1	2	
4	1	3	
5	1	4	
6	2	0	
7	2	1	
8	2	2	
9	2	3	
10	2	4	

A análise estatística foi feita utilizando-se o pacote estatístico SAS System versão 6.11 (SAS Institute, Inc., Cary, NC). Os resultados da acidez titulável, derretimento, separação de óleo livre, separação de água, atividade de água, cor antes e depois do derretimento, TPA e fatiabilidade do queijo foram analisados utilizando-se o PROC GLM "General Linear Models Procedure", para verificar os efeitos e as interações do tempo, da condição de armazenamento (refrigerada e congelada/temperada) e dos blocos. Também foi verificado se os efeitos lineares ou quadráticos no tempo de armazenamento foram significantes.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. COMPOSIÇÃO

A tabela 4.1. apresenta os valores de pH, teor de umidade, gordura, gordura em base seca (GBS), proteína, sal, sal/umidade (S/U) e cinzas dos três lotes de Mussarela estudados.

Tabela 4.1. Composição química dos três lotes de Mussarela e a média geral

	LOTE 1		LOTE 2		LOTE 3		MÉDIA GERAL	
	M1	CV(%)	M2	CV(%)	M3	CV(%)	MÉDIA	CV (%)
pH	5.27	0.19	5.20	0.38	5.11	0.00	5.19	1.54
Umidade (%)	44.23	0.18	43.99	0.32	44.55	1.01	44.26	0.63
Gordura (%)	29.88	2.84	27.17	1.07	30.00	0.17	29.02	5.52
GBS (%) *	52.90	NC	49.27	NC	51.93	NC	51.37	3.66
Proteína (%)	21.92	0.05	23.32	1.67	23.60	0.21	22.95	3.92
Sal (%)	1.62	0.70	1.49	0.67	1.22	1.16	1.44	14.14
S/U (%) **	3.71	NC	3.39	NC	2.74	NC	3.28	15.07
Cinzas (%)	3.04	1.64	3.16	1.90	2.95	0.34	3.05	3.45

Gordura em Base Seca

\*\*Sal /Umidade

M1, M2 e M3 = média da amostra retirada de uma peça de queijo

MÉDIA GERAL = média dos 3 lotes

NC = Valor não calculado

C.V. = coeficiente de variação =  $\frac{D.P. \times 100}{Média}$  D.P. = desvio padrão

Os resultados evidenciam a esperada variação entre os lotes, consequência da variação da composição do leite e também da falta de padronização de algumas etapas do processamento. A composição físico-química do leite influencia, obviamente, a composição final do queijo.

O teor de sal e de gordura foram os componentes do queijo que mais variaram; como pode ser comprovado pelos maiores coeficientes de variação (C.V.), que foram 14,14% e 5,52%, respectivamente.

Em relação ao elevado teor de gordura observado, o problema consiste na ausência de padronização do leite utilizado para se produzir a Mussarela, ou seja o queijo foi produzido com leite integral (mistura de diversos produtores). A gordura é sabidamente o componente do leite que apresenta maior variação e o uso de leite integral na fabricação do queijo resultou em um produto final, cujo teor gordura também variou e foi mais elevado que a média normalmente encontrada no mercado. Segundo FURTADO & LOURENÇO NETO (1994), o teor de gordura médio, encontrado para a Mussarela no Brasil varia geralmente de 22 a 24%. Para os diferentes tipos de Mussarela, os teores de gordura variam de 8 a 23.7% (KOSIKOWSKI, 1977).

No Brasil, muitas indústrias utilizam o leite integral para produzir queijos pois isto é mais vantajoso em termos financeiros ou seja a gordura no queijo tem um valor maior do esta na forma de manteiga ou creme portanto, muitos laticínios, não padronizam o teor de gordura do leite para a produção de Mussarela. Entretanto, essa prática leva a produção de queijos sem padronização, ou com excesso de gordura, o que pode acarretar em problemas no manuseio e na utilização do produto. No caso da Mussarela, que é comercializada fatiada e extensamente utilizada como ingrediente culinário, a textura, a capacidade de derretimento e a separação de óleo são propriedades funcionais muito importantes que podem ser influenciadas pelo teor de gordura.

A porcentagem média de sal da Mussarela estudada foi de 1.44% encontrando-se na faixa comumente citadas pela literatura de 1,33 a 1,72% (BARBANO et alli, 1993). Quando comparada com teores de sal da Mussarela brasileira, o teor de sal médio do queijo estudado foi ligeiramente baixo, segundo FURTADO & LOURENÇO NETO (1994), o teor de sal se encontra entre 1,6 e 1,8%.

Entre os três lotes estudados, houve grande variação com relação ao teor de sal da Mussarela, provavelmente devido a falta de controle nas condições de salga (tempo de permanência do queijo na salmoura, falta de padronização e manutenção da concentração de sal na salmoura). Diferenças com relação ao teor de sal afetam bastante as propriedades funcionais e os índices de proteólise (KINDSTEDT et alli,

1992; FARKYE et alli, 1991). O índice S/U afeta de maneira marcante a proteólise do queijo, especialmente com relação a atividade do coagulante e do fermento láctico (KELLY et alli, 1996). A proteólise é consideravelmente mais extensa em queijos com baixo teor de sal/umidade e conseqüentemente, o "corpo" deste produto é menos firme (LAWRENCE et alli, 1987). Neste trabalho, os elevados teores de sal/umidade dos queijos podem ter influenciado na baixa taxa de proteólise verificada durante o armazenamento refrigerado.

O teor de umidade do queijo estudado situa-se dentro da faixa que normalmente encontra-se a Mussarela brasileira variando entre 43 e 46% (FURTADO & LOURENÇO NETO, 1994). SCHIFTAN & IAMATO (1979) analisaram 120 marcas comerciais de Mussarela do estado de São Paulo e o máximo de umidade encontrada foi de 60%, o mínimo foi de 30.6% e o teor médio foi de 47.3%.

O teor de proteína encontrado neste trabalho (22,95%) foi ligeiramente superior aos citados na literatura para Mussarela fresca (21,2 a 22,1%), e inferior segundo KOSIKOWSKI (1977), ao teor de proteína encontrada em Mussarela com baixo teor de umidade (25,0%) assim como também foi inferior ao teor de proteína (25,0%) encontrada em Mussarela do tipo "pizza cheese" (FURTADO, 1990).

SCHIFTAN & IAMATO (1979) analisaram 120 marcas comerciais de Mussarela no estado de São Paulo e concluíram que essas apresentavam uma grande variação nos teores de umidade, GBS, gordura, cinzas e sal; porém a maioria das amostras encontravam-se de acordo com a legislação vigente.

Desde 1979 até hoje não houve muito progresso no sentido de padronizar o processamento da Mussarela produzida no Brasil. A legislação brasileira não descrimina Mussarela para consumo direto e Mussarela destinada a pizza, como em outros países que tem padrões de composição para cada tipo de Mussarela. Os E.U.A., por exemplo, tem claramente definido em sua legislação quatro padrões de Mussarela para diferentes fins. Atualmente, existe uma preocupação da ABIQ (Associação Brasileira das Indústrias Queijeiras) em se recomendar a padronização

da composição dos principais queijos produzidos no país, para deste modo melhorar a qualidade dos mesmos.

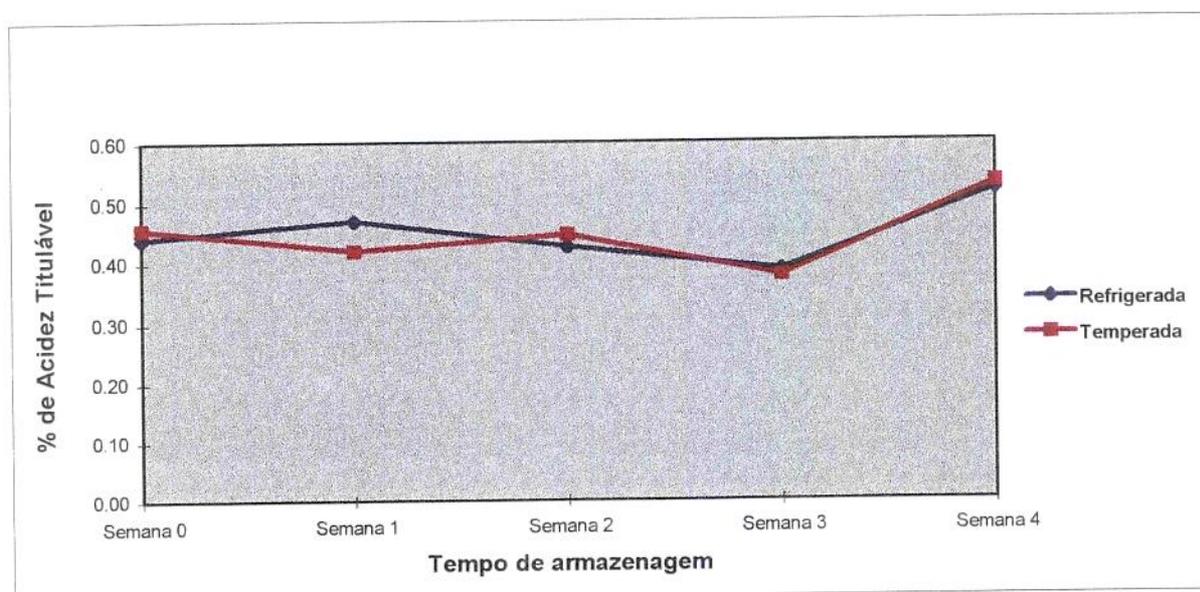
No Brasil, a Mussarela é consumida fatiada (crua) e como ingrediente culinário em pizza e sanduíches (derretida). Para que o produto tenha as características de textura adequadas, uma boa capacidade de derretimento e baixa separação de óleo livre durante o derretimento é necessário que se padronize a composição e as etapas de processamento para viabilizar a produção de Mussarela com a composição e as propriedades funcionais adequadas ao uso final deste produto.

A variação da composição do leite nos três dias de processamento poderia ter implicado em diferenças nas características e na composição dos queijos obtidos em cada lote. A influencia desta variação, sobre os parâmetros estudados nos queijos, foi removida no planejamento estatístico, utilizando-se o dia de fabricação como um fator de bloco e realizando-se assim um experimento aleatorizado em blocos (Cada dia de fabricação=lote=bloco). Quando a variável bloco foi significativa para um determinado atributo, isto significa que para este atributo a blocagem foi efetiva e caso ela não tenha sido significativa para aquele atributo não haveria a necessidade de se fazer a blocagem. Foi constado que para vários dos atributos estudados a blocagem foi efetiva.

## 4.2. PROTEÓLISE

### 4.2.1. DETERMINAÇÃO DE ACIDEZ TITULÁVEL

A Figura 4.2.1.1. mostra o comportamento da acidez titulável ao longo do tempo de estocagem para os dois tratamentos. A análise estatística indicou não haver diferença significativa entre as condições de estocagem ( $p=0.986$ ) ou com o tempo de armazenamento ( $p=0.304$ ) porém foi verificada a existência de diferenças significativas com relação aos blocos ( $p=0.054$ ).



**Figura 4.2.1.1. Efeito dos tratamentos (Temperagem e Refrigeração) na acidez titulável durante quatro semanas de armazenamento (6-8°C) do queijo.**

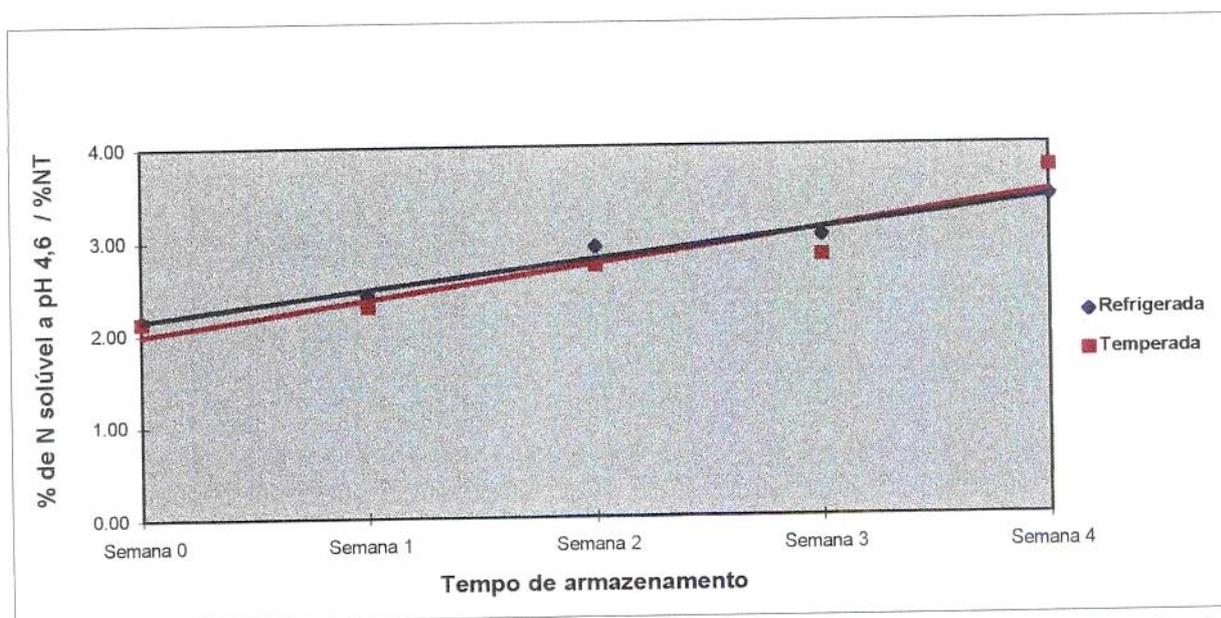
Os valores de acidez podem ser considerados baixos, tendo variado de 0,38 a 0,53% ao longo do tempo de armazenagem. Segundo SCHIFTAN & IAMATO (1979) em 120 marcas comerciais de Mussarela analisadas no estado de São Paulo o máximo de acidez titulável encontrado foi 1,42%, o mínimo foi de 0,21% e o teor médio foi de 0,66%

Os baixos valores de acidez titulável encontrados ao longo do armazenamento evidenciaram que o fermento láctico não estava muito ativo, isto

pode ter ocorrido devido: (1) a baixa porcentagem de fermento utilizado no processamento (0,25%); (2) a inativação do fermento durante a filagem. Segundo OLIVEIRA (1986) quando a cultura mesófila é utilizada na produção de Mussarela essa tem a finalidade de promover a acidificação da massa em condições ambientais uma vez é destruída pelo aquecimento durante a filagem. A cultura termófila, atua na cura da Mussarela, pois essa é capaz de sobreviver a filagem.

#### 4.2.2. NITROGÊNIO SOLÚVEL A PH 4,6 E A 12% TCA

As Figuras 4.2.2.1. e 4.2.2.2. mostram como foi a evolução dos níveis de Nitrogênio (N) solúvel a pH 4,6 e a 12% TCA, respectivamente.



**Figura 4.2.2.1. Efeito dos tratamentos (Temperagem e Refrigeração) nos níveis de Nitrogênio Solúvel a pH 4,6 durante quatro semanas de armazenamento (6-8°C).**

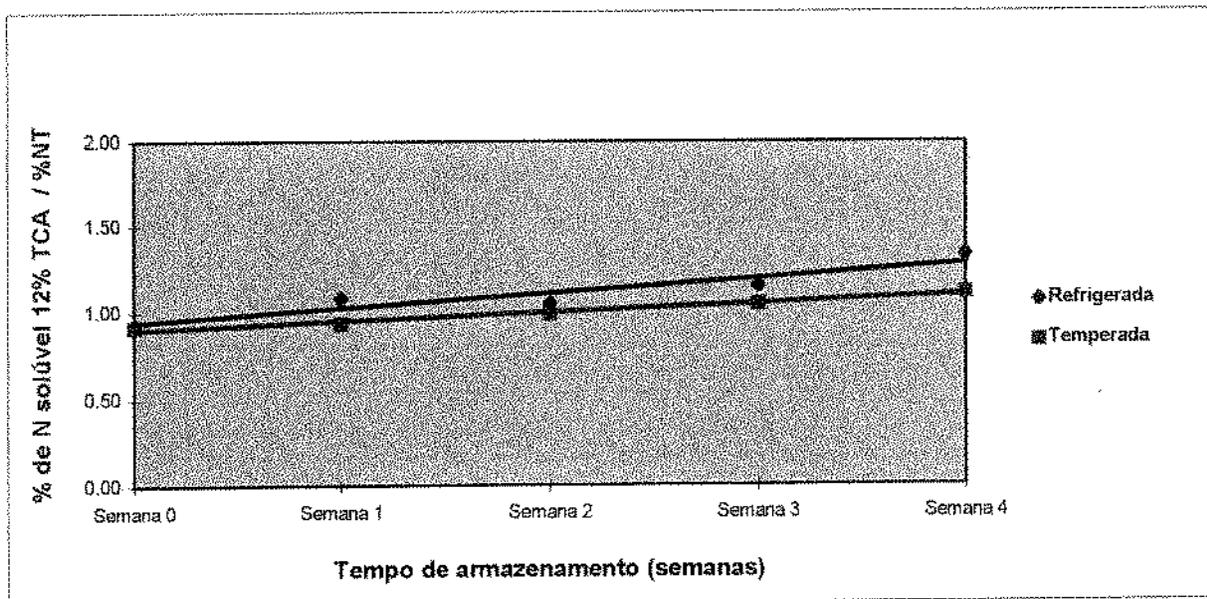
A formação de nitrogênio solúvel (N solúvel) a pH 4,6 é um bom indicador da atividade proteolítica devido a ação do agente coagulante. Foram determinados os peptídeos de peso molecular alto e médio proveniente da hidrólise da caseína- $\alpha_{S1}$  e

$\beta$ -caseína, podendo também estar incluídos peptídeos de baixo peso molecular e aminoácidos (CHRISTENSEN et alli, 1991; FARKEY & FOX, 1990). A porcentagem de N solúvel a pH 4,6 em relação ao N total, indica a extensão da proteólise.

Através da análise estatística foi observado um aumento significativo ( $P=0,005$ ) nos níveis de N solúvel a pH 4,6 com o tempo de armazenamento, indicando que ocorreu degradação das cadeias protéicas podendo esta ser devido a ação do agente coagulante. Não foi observada diferença significativa entre os tratamentos ( $P=0,676$ ), o que era esperado, uma vez que os queijos dos dois tratamentos eram provenientes do mesmo processamento.

O baixo índice de proteólise (2 a 4%) observado neste trabalho pode estar associado a filagem (temperatura da água = 75°C), tratamento térmico que pode ter ocasionado a inativação de parte considerável do agente coagulante. O resultado encontrado esta de acordo com estudos anteriores, segundo MATHESSON (1981), na Mussarela, a quimosina residual foi inativada pelo tratamento térmico (filagem). CREAMER (1976) constatou que o aquecimento da massa durante a filagem por cinco minutos com água a 70°C, provocou a inativação do coagulante. FOX & GUINEE (1987), afirmam que em queijo Mussarela apesar de existir uma atividade residual do agente coagulante, esta é bastante restrita se comparada com atividade residual em outros queijos. Por outro lado GANGOPADHYAY & THAKAR, observaram atividade do coalho mesmo após a filagem da Mussarela por cinco minutos com a água numa temperatura igual a 80°C.

Valores semelhantes, de N solúvel a pH 4,6 (extensão de proteólise) foram encontrados por BARBANO et alli (1993) para Mussarela feita sem fermento, com mesmo tempo de armazenamento (30 dias).



**Figura 4.2.2.2. Efeito dos tratamentos (Temperagem e Refrigeração) nos níveis de nitrogênio solúvel a 12% TCA durante 4 semanas de armazenamento (6-8°C).**

A formação de nitrogênio solúvel a 12% TCA é um bom indicativo da atividade proteolítica ocasionada pelo fermento láctico, que, através das endo e exopeptidases, hidrolisam os peptídios de peso molecular alto e médio formados predominantemente pela ação do coalho. Neste caso determina-se somente os peptídeos de baixo peso molecular (abaixo de 3000 Daltons) e os aminoácidos (CHRISTENSEN et alli, 1991; FARKEY & FOX, 1990) e portanto a porcentagem de N solúvel a 12% TCA em relação a % de N total é utilizada como um indicador da profundidade de proteólise no queijo.

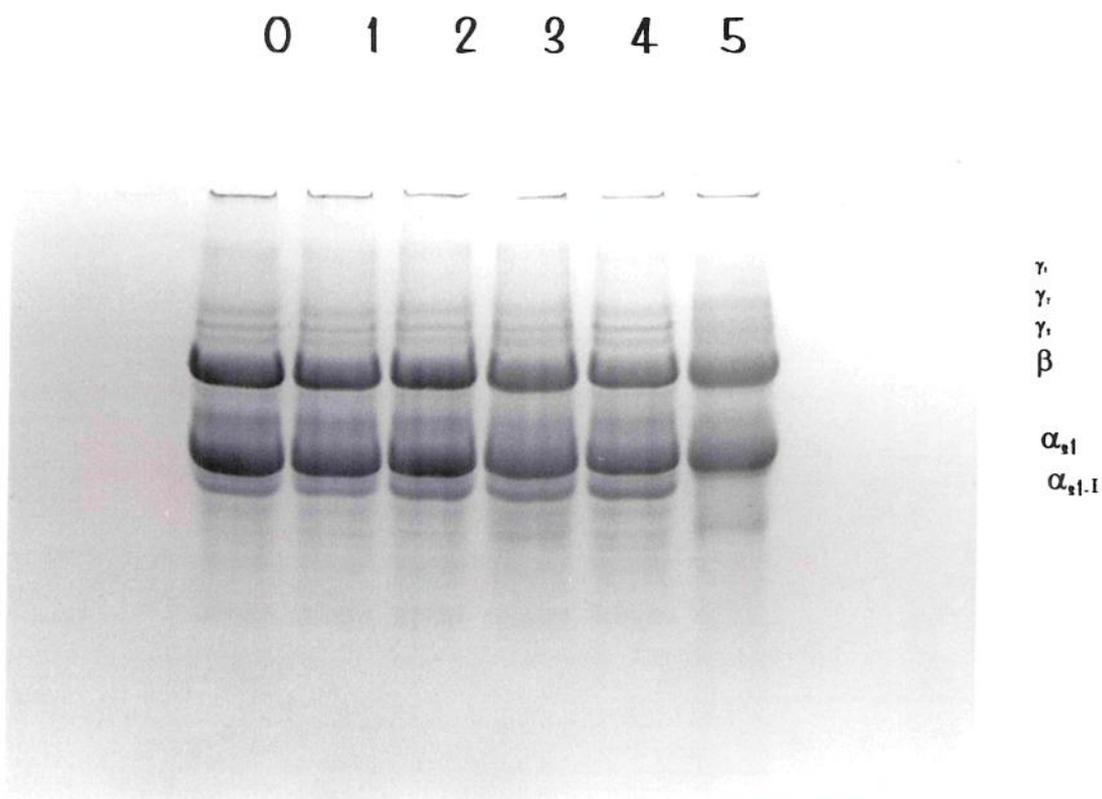
A análise estatística mostrou que para os teores de N solúvel a 12% TCA houve diferença significativa com relação ao tempo de armazenagem ( $P=0,005$ ) e com os tratamentos ( $P<0.01$ ), observou-se que nas amostras refrigeradas a profundidade da proteólise foi ligeiramente mais elevada. Apesar da constatação da diferença estatística entre os tratamentos, em termos práticos a profundidade da proteólise foi pouco intensa para os dois tratamentos ao longo do período de estocagem, variando de 0,93-1,33 para as amostras refrigeradas e de 0,92-1,11 para as amostras temperadas.

O baixo teor de N solúvel a 12% TCA deve ser consequência da baixa porcentagem inicial de fermento láctico utilizada associada a alta temperatura de filagem que deve ter inativado o fermento mesófilo utilizado, consequentemente, depois da filagem, os microorganismos foram incapazes de fermentar a lactose em ácido láctico, resultando em queijos com baixo nível de acidez titulável. Mussarelas produzidas utilizando-se fermento termofílico apresentaram valores mais elevados para N solúvel a 12% TCA (YUN et alli, 1993a; YUN et alli, 1993b), quando comparadas com a Mussarela feita com cultura mesofílica. Isto se deve ao fato do fermento termofílico ter uma maior resistência as altas temperatura de filagem, sobrevivendo a este tratamento e produzindo enzimas proteolíticas. Portanto, caso se deseje, as mudanças nas características funcionais que ocorrem basicamente devido a proteólise no queijo Mussarela, é aconselhável a utilização um fermento termofílico e a realização de um tratamento térmico (filagem) pouco severo.

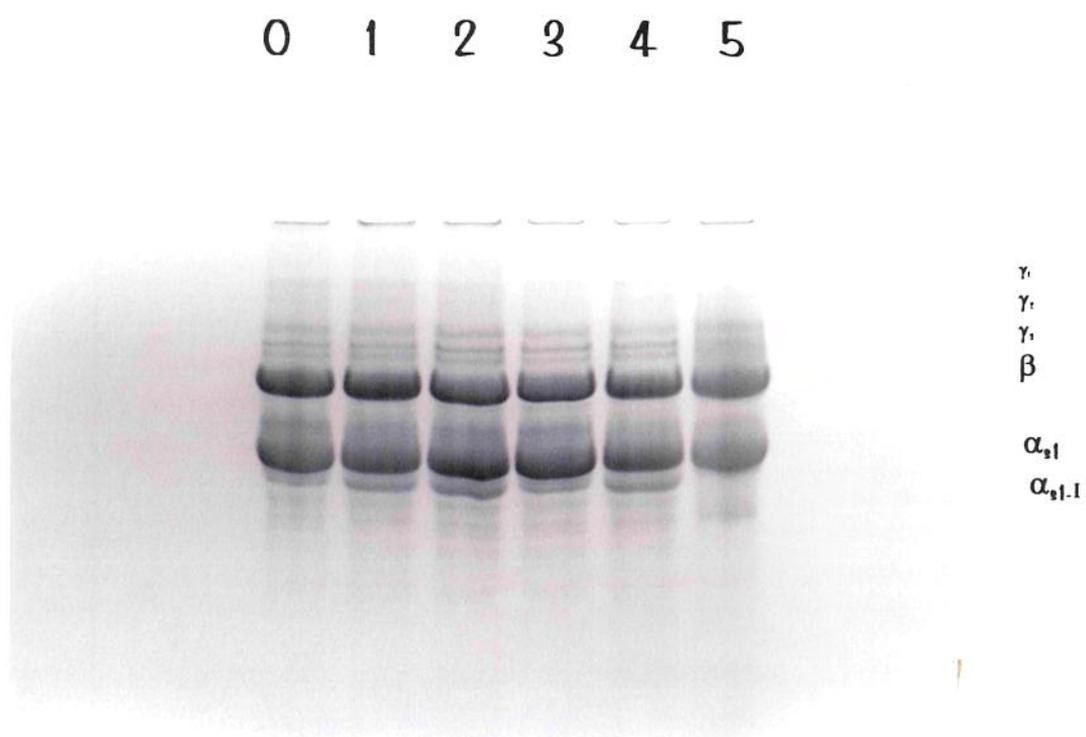
O pequeno aumento observado com relação ao teor de nitrogênio solúvel a 12% TCA ao longo do tempo de armazenamento pode ter sido ocasionado pelo desenvolvimento de uma flora láctica secundária que tenha sobrevivido a pasteurização. No produto submetido ao congelamento/temperagem o teor de N solúvel a 12% TCA foi menor, o que sugere que este tratamento, possa ter de alguma forma, inibido o desenvolvimento desta flora, justificando os teores mais elevados de N solúvel a 12% TCA observados para as amostras refrigeradas.

### 4.2.3. ELETROFORESE

A degradação das proteínas durante a maturação dos queijos foi avaliada através da eletroforese. As Figuras 4.2.3.1. e 4.2.3.2. mostram respectivamente os eletroforetogramas da Mussarela refrigerada (controle) e da temperada a 0, 1, 2, 3 e 4 semanas de armazenamento refrigerado.



**Figura 4.2.3.1. Eletroforetograma da Mussarela refrigerada (Controle)**  
**Banda 0-4 = 0-4 semanas de armazenamento da Mussarela**  
**Banda 5 = Caseinato de sódio (padrão)**



**Figura 4.2.3.2. Eletroforetograma da Mussarela temperada**  
**Banda 0-4 = 0-4 semanas de armazenamento da Mussarela**  
**Banda 5 = Caseinato de sódio (padrão)**

Através da eletroforese foi constatado que houve desdobramento da caseína- $\alpha_{S1}$  em caseína- $\alpha_{S1-I}$ , evento este que já havia sido anteriormente observado por FARKEY et alli (1991). Apesar de ter sido evidenciando este desdobramento, não se consegue observar claramente nenhuma diferença com relação ao tempo de armazenamento ou com relação aos tratamentos através do perfil eletroforético obtido. O resultado da eletroforese, estão de acordo com o observado com relação aos teores de nitrogênio solúvel a pH 4,6 indicando que a proteólise pode ter ocorrido devido a ação do coalho, que no caso de Mussarela é o principal agente de cura. A proteólise é o principal evento bioquímico que ocorre durante a maturação de diversos tipos de queijo e no caso da Mussarela ela é bastante limitada (KELLY et alli, 1996).

Através da eletroforese também foi constatado o aparecimento de bandas de  $\gamma_1$ ,  $\gamma_2$  e  $\gamma_3$  evidenciando uma possível ação da plasmina atuando na degradação da  $\beta$ -caseína. O resultado encontrado concorda com o observado por FARKEY et alli (1991) que em seu estudo constatou que na Mussarela com 14 dias de armazenamento ocorria um decréscimo na intensidade da banda correspondente a  $\beta$ -caseína, acompanhado por um aumento na intensidade das bandas correspondentes as  $\gamma$ -caseínas; consequentemente a hidrólise da  $\beta$ -caseína foi atribuída em parte à ação plasmina, pois com um dia de armazenamento já era possível a visualização das  $\gamma$ -caseína. A plasmina é a principal proteína endógena do leite e é uma protease alcalina termorresistente que causa significativa hidrólise da  $\beta$ -caseína produzindo  $\gamma$ -caseína e proteoses peptonas (GRAPPIN et alli, 1985). Segundo LAWRENCE et alli (1987), em Mussarela, as altas temperaturas utilizadas no processamento inativam quase que totalmente a quimosina presente, a plasmina entretanto é relativamente resistente ao calor e a hidrólise da caseína nestes queijos parece estar associada principalmente com a atividade da plasmina.

### 4.3. PERFIL DE TEXTURA DE MUSSARELA - TPA

No estudo do perfil de textura instrumental, TPA (Texture Profile Analysis - Análise do perfil de textura), foram determinados a dureza TPA, a coesividade TPA, a elasticidade TPA, a adesividade TPA e a mastigabilidade TPA.

A adesividade TPA, apesar de ser um atributo muito importante, principalmente no que diz respeito a manipulação da Mussarela comercializada fatiada, teve que ser desconsiderada neste trabalho uma vez que os coeficientes de variação deste atributo foram muito elevados chegando em alguns casos perto de 100%. A adesividade é dificilmente detectada como um estímulo sensorial isoladamente (CHERL-HO et alli, 1978). IMOTO et alli (1979) testando diferentes tipos de queijo, concluiu que este atributo era muito difícil de ser medido tanto por meio de instrumentos como também utilizando-se um painel sensorial, devido ao alto coeficiente de variação. O número de estudos neste tópico é limitado, portanto, é difícil se estabelecer as condições mais adequadas para realização de um teste para determinação da adesividade (ZOON, 1991).

As Figuras 4.3.1. e 4.3.2. mostram um exemplo do resultado do TPA de amostras retirada do centro e da extremidade de uma fatia de queijo, respectivamente. Nos gráficos do resultado do TPA existem dois picos, sendo que cada pico corresponde a uma compressão, análogo a uma mordida. Nos gráficos, cada repetição (=cilindro de queijo) está representada por uma cor diferente, a curva em rosa (magenta) representa a média das cinco repetições.

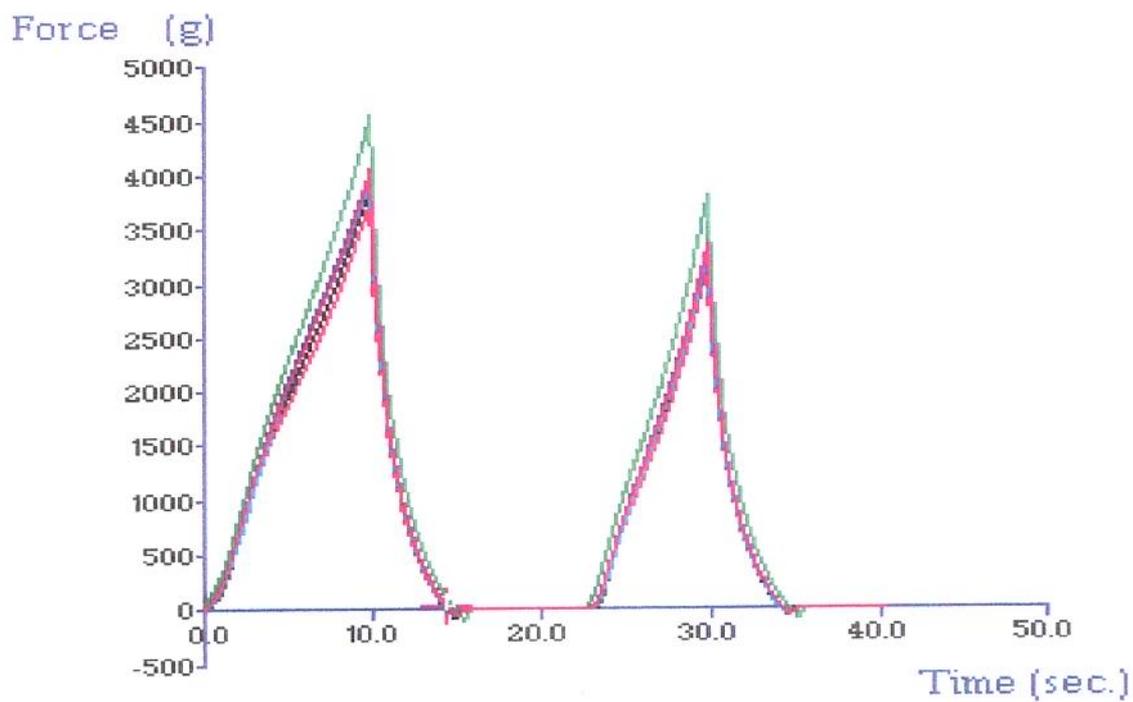


Figura 4.3.1. TPA de queijo Mussarela, 5 amostras retiradas do centro

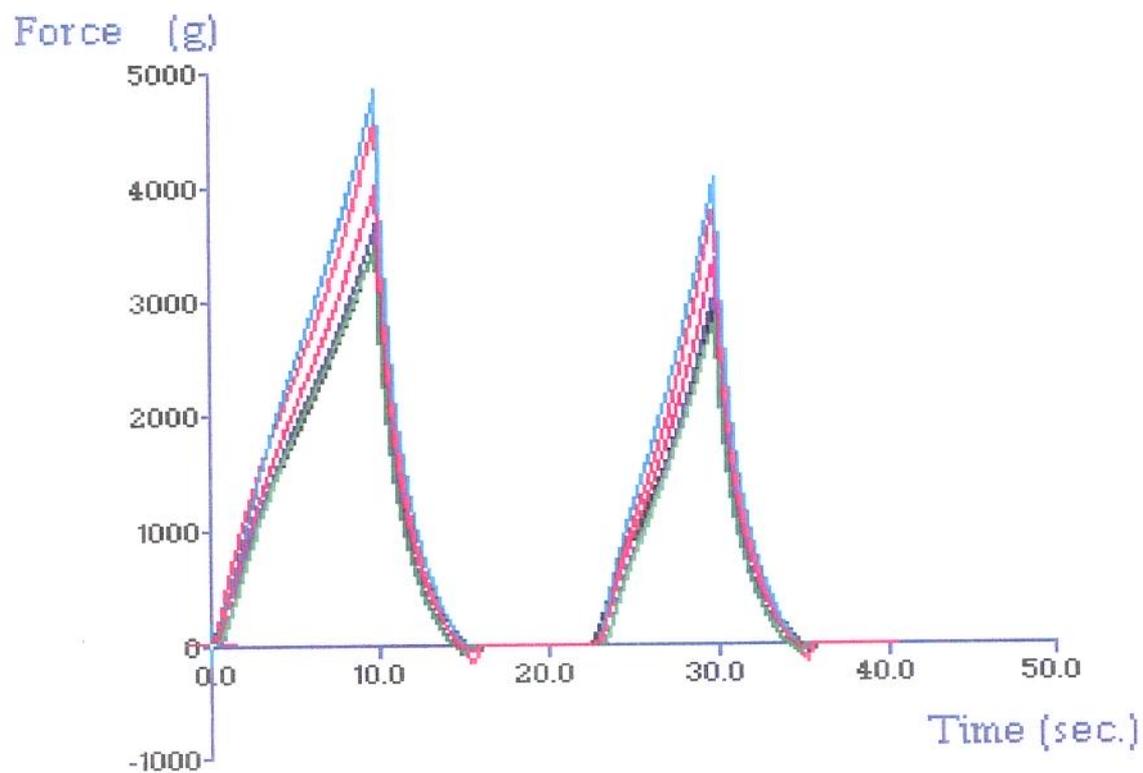


Figura 4.3.2. TPA de queijo Mussarela, 5 amostras retiradas da extremidade

Analisando as Figuras 4.3.1. e 4.3.2. observa-se que o resultado obtido nesta determinação fornece uma curva típica de TPA exibida por queijo do tipo Mussarela conforme resultado obtido por KONSTANCE & HOLSINGER (1992) utilizando o Instron.

A análise dos gráficos do TPA indicam que as amostras não apresentaram fraturabilidade, que é a força na primeira quebra significativa no primeiro pico. A dureza TPA é a força máxima durante a primeira compressão, representada pela a altura do primeiro pico. A adesidade TPA é representada pela área negativa após o primeiro pico. A elasticidade TPA é a altura que a amostra recupera após a primeira compressão antes da segunda. A coesividade TPA é a razão entre a área do segundo pico e a área do primeiro. A mastigabilidade TPA é o produto da dureza TPA X coesividade TPA X elasticidade TPA. A dureza TPA e a mastigabilidade TPA foram determinada em gramas (g) e a elasticidade TPA e a coesividade TPA são atributos adimensionais.

Nos testes preliminares foi constatado uma grande variação entre as amostras retiradas da fatia como um todo, então com o intuito de diminuir o coeficiente de variação, na avaliação da textura do queijo, foram retiradas amostras de centro e extremidades da fatia separadamente. Os resultados do TPA foram mostrados nas tabelas 4.3.1. 4.3.2. 4.3.3. 4.3.4. 4.3.5. 4.3.6. Calculou-se separadamente a média e o C.V. das amostras retiradas do centro, da extremidades e também foi calculada a média e C.V. do queijo como um todo centro+extremidades.

**Tabela 4.3.1. Perfil de Textura do queijo refrigerado - Amostras retiradas do centro da fatia de queijo,**

	Dureza		Mastigabilidade		Coesividade		Elasticidade	
	Média	CV (%)	Média	CV (%)	Média	CV (%)	Média	CV (%)
<b>Semana 0</b>	4367.78	27.72	2180.62	13.93	0.64	6.93	0.77	6.51
<b>Semana 1</b>	3564.71	15.37	1349.04	16.59	0.55	2.49	0.69	2.75
<b>Semana 2</b>	3792.12	19.16	1442.51	10.22	0.55	7.84	0.70	2.04
<b>Semana 3</b>	4125.81	18.90	1718.98	22.22	0.59	5.82	0.71	2.87
<b>Semana 4</b>	4163.98	17.85	1630.87	24.04	0.57	4.44	0.69	3.75

**Tabela 4.3.2. Perfil de Textura do queijo temperado - Amostras retiradas do centro da fatia de queijo.**

	Dureza		Mastigabilidade		Coesividade		Elasticidade	
	Média	CV (%)	Média	CV (%)	Média	CV (%)	Média	CV (%)
<b>Semana 0</b>	3356.30	16.23	1393.76	11.13	0.58	3.04	0.72	1.39
<b>Semana 1</b>	3453.08	12.97	1380.51	9.01	0.58	2.61	0.70	2.52
<b>Semana 2</b>	4161.95	12.79	1598.66	11.89	0.56	5.28	0.68	1.48
<b>Semana 3</b>	4581.28	15.94	1727.85	2.80	0.56	7.97	0.69	0.50
<b>Semana 4</b>	4190.15	25.57	1487.06	29.87	0.53	6.54	0.68	5.19

**Tabela 4.3.3. Perfil de Textura do queijo refrigerado - Amostras retiradas das extremidades da fatia de queijo.**

	Dureza		Mastigabilidade		Coesividade		Elasticidade	
	Média	CV (%)	Média	CV (%)	Média	CV (%)	Média	CV (%)
<b>Semana 0</b>	6519.90	32.62	3040.93	36.34	0.60	4.99	0.78	4.52
<b>Semana 1</b>	4532.78	28.39	1959.29	34.42	0.58	4.79	0.73	3.94
<b>Semana 2</b>	4492.51	8.88	1836.51	6.88	0.57	3.67	0.72	1.80
<b>Semana 3</b>	5130.98	3.75	2192.19	6.11	0.59	6.29	0.72	4.26
<b>Semana 4</b>	5165.95	14.88	2020.66	26.85	0.56	6.33	0.69	5.28

**Tabela 4.3.4. Perfil de Textura do queijo temperado - Amostras retiradas das extremidades da fatia de queijo.**

	Dureza		Mastigabilidade		Coesividade		Elasticidade	
	Média	CV (%)	Média	CV (%)	Média	CV (%)	Média	CV (%)
<b>Semana 0</b>	4437.22	14.82	2019.88	8.28	0.56	1.92	0.75	2.68
<b>Semana 1</b>	5024.72	13.78	2135.70	13.22	0.56	2.05	0.76	1.53
<b>Semana 2</b>	4089.97	7.79	1608.22	6.60	0.57	1.02	0.70	2.16
<b>Semana 3</b>	4942.72	8.40	1811.18	2.05	0.54	7.41	0.68	1.57
<b>Semana 4</b>	4693.10	24.15	1724.17	32.91	0.53	4.78	0.68	4.43

**Tabela 4.3.5. Perfil de Textura do queijo refrigerado - Média das amostras retiradas do centro e das extremidades da fatia de queijo.**

	Dureza		Mastigabilidade		Coesividade		Elasticidade	
	Média	CV (%)	Média	CV (%)	Média	CV (%)	Média	CV (%)
<b>Semana 0</b>	5443.84	28.87	2610.78	24.62	0.62	4.51	0.62	4.51
<b>Semana 1</b>	4048.75	22.11	1654.17	27.15	0.56	1.77	0.56	1.77
<b>Semana 2</b>	4142.32	14.48	1639.51	7.91	0.56	4.54	0.56	4.54
<b>Semana 3</b>	4628.40	9.25	1955.58	12.44	0.59	4.95	0.59	4.95
<b>Semana 4</b>	4664.97	18.05	1825.76	25.59	0.56	4.39	0.56	4.39

**Tabela 4.3.6. Perfil de Textura do queijo temperado - Média das amostras retiradas do centro e das extremidades da fatia de queijo.**

	Dureza		Mastigabilidade		Coesividade		Elasticidade	
	Média	CV (%)	Média	CV (%)	Média	CV (%)	Média	CV (%)
<b>Semana 0</b>	3700.08	10.04	1714.85	7.08	0.57	2.87	0.74	1.71
<b>Semana 1</b>	4053.30	19.51	1681.87	17.24	0.57	3.06	0.73	0.66
<b>Semana 2</b>	4193.20	6.79	1640.16	10.34	0.57	3.49	0.69	1.03
<b>Semana 3</b>	4499.02	13.05	1759.07	2.76	0.56	7.56	0.69	1.31
<b>Semana 4</b>	4289.71	27.78	1547.45	34.74	0.53	5.74	0.68	4.83

Ao se proceder a comparação entre os valores das tabelas 4.3.1 com 4.3.3 e da 4.3.2 com 4.3.4. verifica-se que para os atributos dureza, elasticidade e mastigabilidade TPA os valores das amostras retiradas do centro foram sempre (com uma única exceção), inferiores aos das amostras retiradas das extremidades.

Os atributos dureza e mastigabilidade TPA apresentaram os coeficientes de variação mais altos variando entre 10 e 20% ou um pouco mais em alguns casos. A coesividade e elasticidade obtiveram coeficientes de variação, na maioria dos casos, inferiores a 5%. De acordo com a literatura os coeficientes de variação, para determinações de textura de queijo utilizando o Instron, num teste de compressão, foram na faixa de 10 a 20% (CHU & PELEG, 1985). Deste modo observou-se que as medidas de textura utilizando o TAXT<sub>2</sub> apresentam a mesma faixa de variação da obtida quando foi utilizando o Instron.

O queijo de maneira geral tem constituição pouco homogênea e esta falta de homogeneidade ocorre em função de vários fatores. No caso da Mussarela, um possível problema seria uma massa na qual as fibras não permanecem na mesma direção. Existem também os defeitos estruturais, como pequenas bolhas e problemas de fusão da massa. Um outro problema comum em queijos que sofrem baixa proteólise, como no caso da Mussarela, é o preparo de amostra de maneira reprodutível. No momento em que se efetua a retirada da amostra, ocorre deformação desta, uma vez que o queijo possui uma pequena deformação elástica e as amostras tendem a ter um diâmetro inferior em uma das extremidade, como uma rolha (VAN VLIET & PELEG, 1991). Todos estes fatores anteriormente citados, contribuem para a variação observada na determinação de textura.

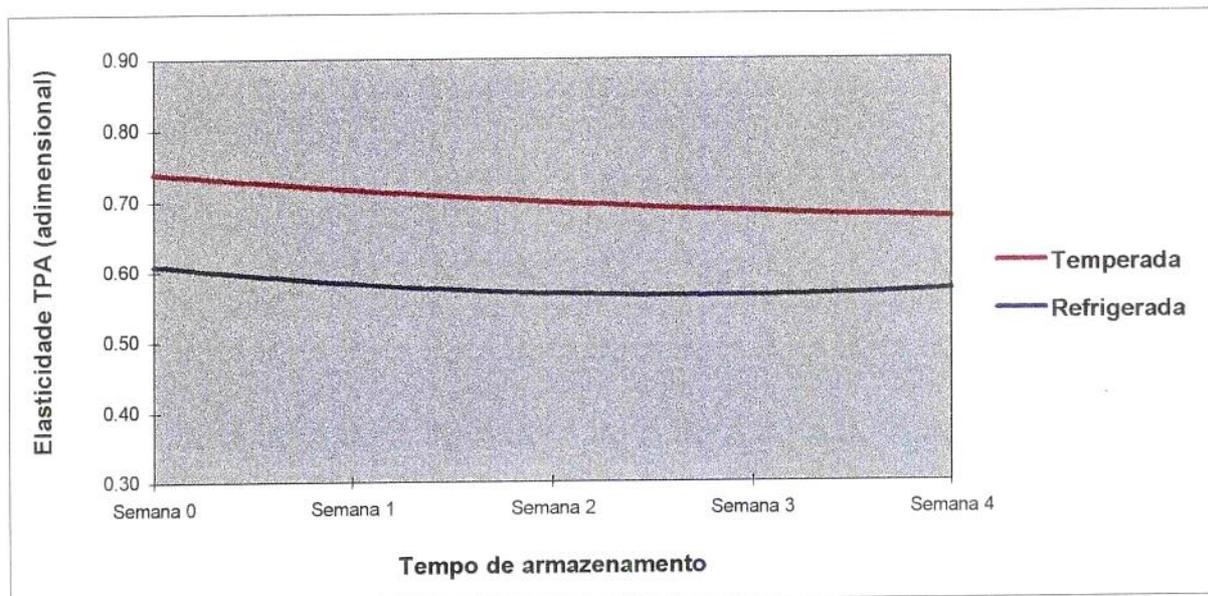
Observando-se os resultados e comparando-se os C.V. de cada lote entre amostras retiradas do centro, das extremidade e centro+extremidade verificou-se que em geral para os atributos avaliados nas amostras retiradas das extremidades os C.V. foram superiores aos demais ou seja nas amostras retiradas das extremidades foi encontrada uma maior variação, provavelmente devido ao fato da

salga da Mussarela ser realizada em salmoura o que implica em variações no teor de umidade, no teor de sal e na relação S/U.

Foi verificado que, em geral, para os atributos dureza TPA, elasticidade TPA e mastigabilidade TPA os valores das amostras retiradas das extremidade foram superiores aos das amostras retiradas do centro.

Para os atributo dureza TPA e mastigabilidade TPA o menor C.V. encontrado foi o das amostras retiradas do centro tanto nas temperadas como as refrigeradas. Já com relação ao atributo coesividade TPA, o menor C.V. encontrado foi no caso da Mussarela refrigerada as amostras retiradas do centro e no caso da Mussarela temperada as amostras centro+extremidade. Para o atributo elasticidade TPA o menor C.V. encontrado foi o das amostras retiradas do centro+extremidade; tanto para a Mussarela refrigerada como para a temperada.

As Figuras 4.3.3., 4.3.4., 4.3.5. e 4.3.6. mostram o comportamento do atributos de textura com o tempo de armazenagem para amostras de centro+extremidade.

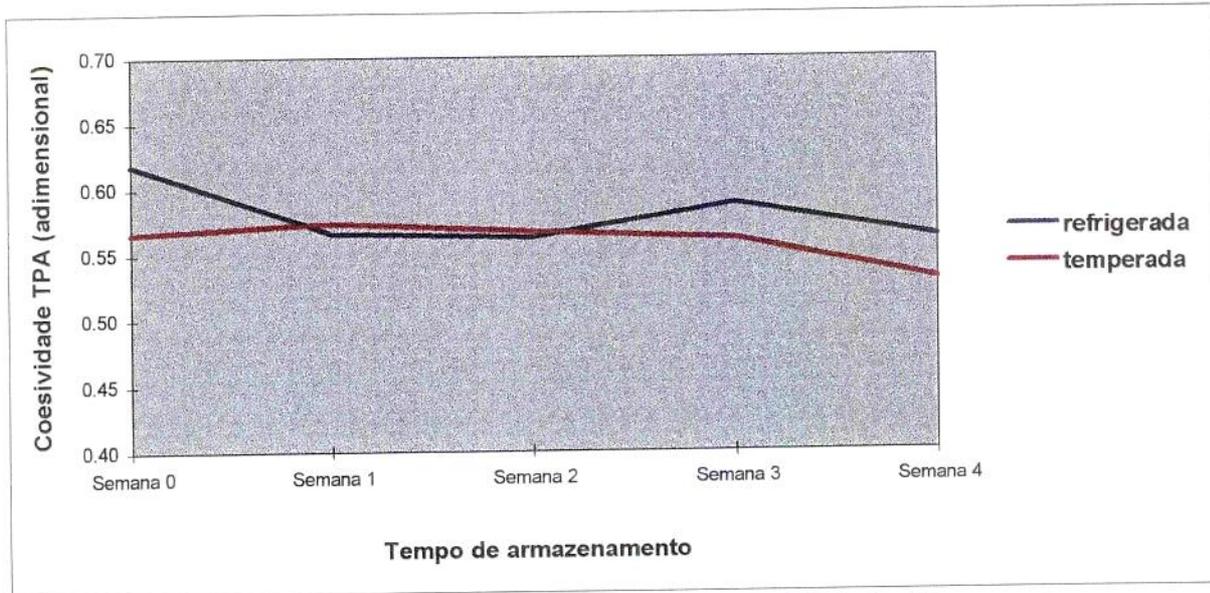


**Figura 4.3.3. Comportamento atributo elasticidade TPA da Mussarela temperada e refrigerada ao longo do tempo de armazenamento (amostras centro + extremidade).**

Através da análise estatística do SAS constatou-se que para a elasticidade TPA houve diferença significativa com relação aos blocos ( $p=0,0001$ ), ao local de retirada das amostras centro e extremidade ( $p=0,0007$ ), a interação condição de estocagem \* tempo de armazenamento ( $p=0,02$ ) e a interação local de retirada da amostra \* tempo de armazenamento ( $p=0,031$ ). O comportamento deste atributo com o tempo foi aproximado por um modelo quadrático ( $p=0,002$ ).

Avaliando os dados apresentados na Figura 4.3.3. foi constatado que o valor de elasticidade TPA diminuiu ao longo do tempo de estocagem para os dois tratamentos sendo inferior para as amostras refrigeradas. O fato da interação condição de estocagem \* tempo de armazenamento ( $p=0,02$ ) ter sido significativa significa que a taxa de diminuição da elasticidade com o tempo foi diferente para os dois tratamentos.

O resultado deste experimento está de acordo com o observado por TUNICK et alli (1991) que estudou o efeito de diferentes condições de estocagem (refrigerada e congelada) na textura de Mussarela e constatou que a Mussarela congelada apresentou maior elasticidade que a mantida sob refrigeração.



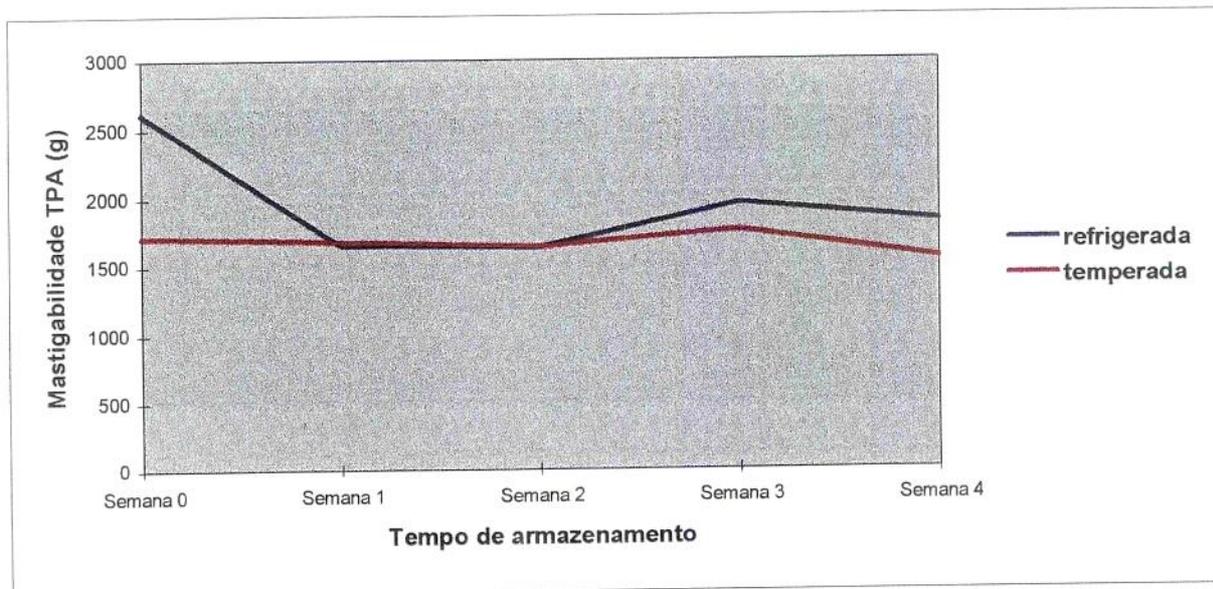
**Figura 4.3.4. Comportamento atributo coesividade TPA da Mussarela temperada e refrigerada ao longo do tempo de armazenamento (amostras centro + extremidade)**

Através da análise estatística do SAS constatou-se que para a coesividade TPA houve diferença significativa com relação aos blocos ( $p=0,0001$ ) e com as interações, condição de estocagem \* tempo de armazenamento ( $p=0,005$ ) e local de retirada da amostra \* tempo de armazenamento ( $p=0,03$ ).

Avaliando os dados apresentados na Figura 4.3.4. foi constatado que o valor da coesividade TPA diminuiu com o tempo de estocagem para os dois tratamentos sendo em geral inferior para as amostras temperadas, com exceção, entre as semanas 1 e 2 (período em os valores de coesividade dos dois tratamentos ficam muito próximos).

O fato da interação condição de estocagem \* tempo de armazenamento ( $p=0,005$ ) ter sido significativa revela que a taxa de diminuição da coesividade TPA com o tempo foi diferente para os dois tratamentos, o que provavelmente pode ser atribuído a maior diferença observada na semana zero, a partir da primeira semana de armazenagem os valores de coesividade dos dois tratamentos ficam muito próximos até a terceira semana e a partir deste ponto as amostras temperadas permanecem com coesividade menor que as amostras refrigeradas.

O resultado deste experimento está de acordo com o de DAHLSTROM (citado por TUNICK et alii, 1991) que observou uma baixa coesividade na Mussarela após o descongelamento. No trabalho de DAHLSTROM (citado por CERVANTES et alii, 1983) a velocidade de congelamento e descongelamento utilizada foi muito baixa, o que pode ter ocasionado a recristalização e o crescimento de cristais de gelo provocando alterações na textura do queijo. Por outro lado, CERVANTES et alii (1983), estudando a textura de Mussarela não verificou alterações na coesividade com o congelamento isto foi atribuído ao congelamento rápido do produto o que evitou a recristalização e o crescimento de cristais de gelo.

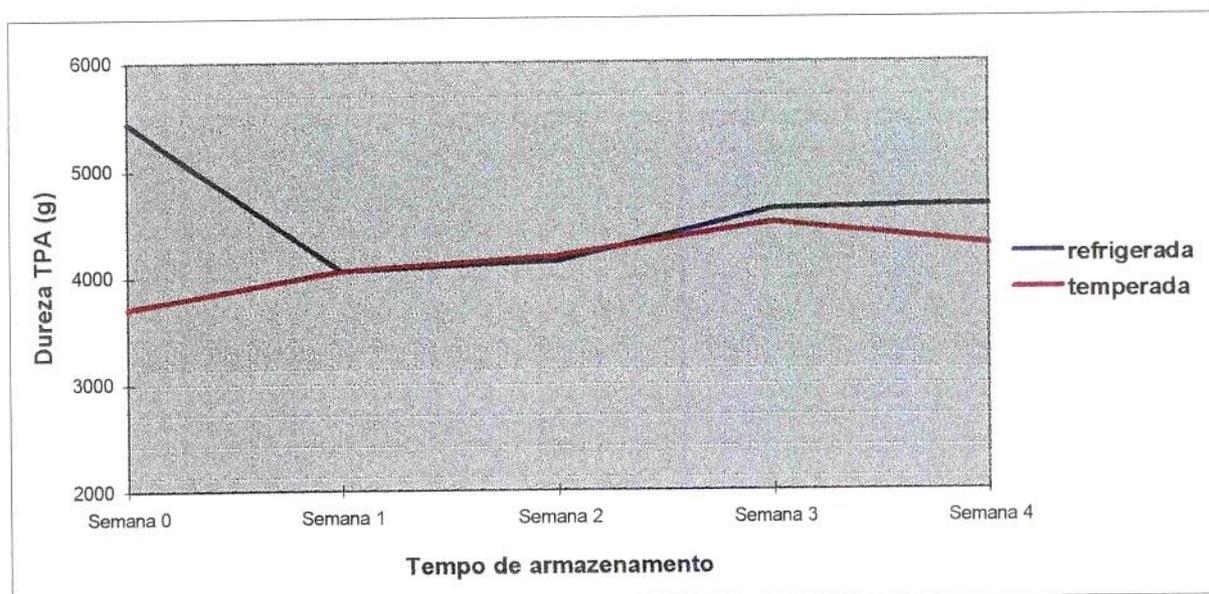


**Figura 4.3.5. Comportamento atributo mastigabilidade TPA da Mussarela temperada e refrigerada ao longo do tempo de armazenamento (amostras centro + extremidade)**

Através da análise estatística do SAS constatou-se que para a mastigabilidade TPA houve diferença significativa com relação aos blocos ( $p=0,001$ ), ao local de retirada das amostras centro e extremidade ( $p=0,0001$ ) e a interação condição de estocagem \* tempo de armazenamento ( $p=0,003$ ).

Avaliando os dados apresentados na Figura 4.3.5, foi constatado que o valor da mastigabilidade TPA de maneira geral, diminuiu com o tempo de estocagem para os dois tratamentos sendo inferior para as amostras temperadas, com exceção entre semana 1 e 2 (quando os valores de mastigabilidade ficam iguais para os dois tratamentos). Para as amostras temperadas este atributo permaneceu praticamente inalterado com o tempo de armazenamento.

O fato da interação condição de estocagem \* tempo de armazenamento ( $p=0,003$ ) ter sido significativa revela que a taxa de diminuição da mastigabilidade TPA com o tempo foi diferente para os dois tratamentos, o que provavelmente pode ser atribuído a maior diferença observada na semana zero. A partir da primeira semana de armazenagem os valores de mastigabilidade dos dois tratamentos tendem a ficar próximos até a terceira semana quando foi observado um ligeiro aumento da mastigabilidade TPA.



**Figura 4.3.6. Comportamento atributo dureza TPA da Mussarela temperada e refrigerada ao longo do tempo de armazenamento (amostras centro + extremidade)**

Através da análise estatística do SAS constatou-se que para a dureza TPA houve diferença significativa com relação aos blocos ( $p=0,03$ ). Foram significativas as seguintes interações condição de estocagem \* tempo de armazenamento ( $p=0,02$ ), condição de estocagem \* local de retirada da amostra ( $p=0,04$ ), local de retirada da amostra \* tempo de armazenamento ( $p=0,04$ ).

Avaliando os dados apresentados na Figura 4.3.6. foi constatado que para as amostras refrigeradas o valor do atributo dureza TPA diminuiu na primeira semana e depois permaneceu praticamente inalterado com o tempo de armazenagem. Para as amostras temperadas este atributo apresentou um ligeiro aumento até a terceira semana seguido por uma pequena diminuição na dureza TPA na quarta semana.

O fato da interação condição de estocagem \* tempo de armazenamento ( $p=0,02$ ) ter sido significativa revela que o comportamento da dureza TPA com o tempo de armazenamento foi diferente para os dois tratamentos, isto provavelmente se deve a maior diferença constatada no início do armazenamento (semana zero), pois a partir da primeira semana as diferenças observadas entre os dois tratamentos tendem a diminuir.

Segundo DIESER et alii (1993), o tempo de temperagem permitiu que a Mussarela sofresse o amaciamento que normalmente ocorre com o produto mantido sob refrigeração em função da proteólise. Provavelmente o amaciamento da Mussarela neste experimento não ocorreu de maneira significativa em função da baixa proteólise que ocorreu em especial nas amostras temperadas.

Neste estudo constatou-se que o tempo de estocagem foi significativo para todos os atributos avaliados, os resultados observados por TUNICK et alii (1991), concordam parcialmente com a afirmação, pois em seu trabalho, ele verificou o efeito significativo do tempo de estocagem em todos os parâmetros do TPA, com exceção, da coesividade.

Concluiu-se que para todos os atributos avaliados, com exceção da elasticidade, a diferença entre as duas condições de armazenagem que inicialmente

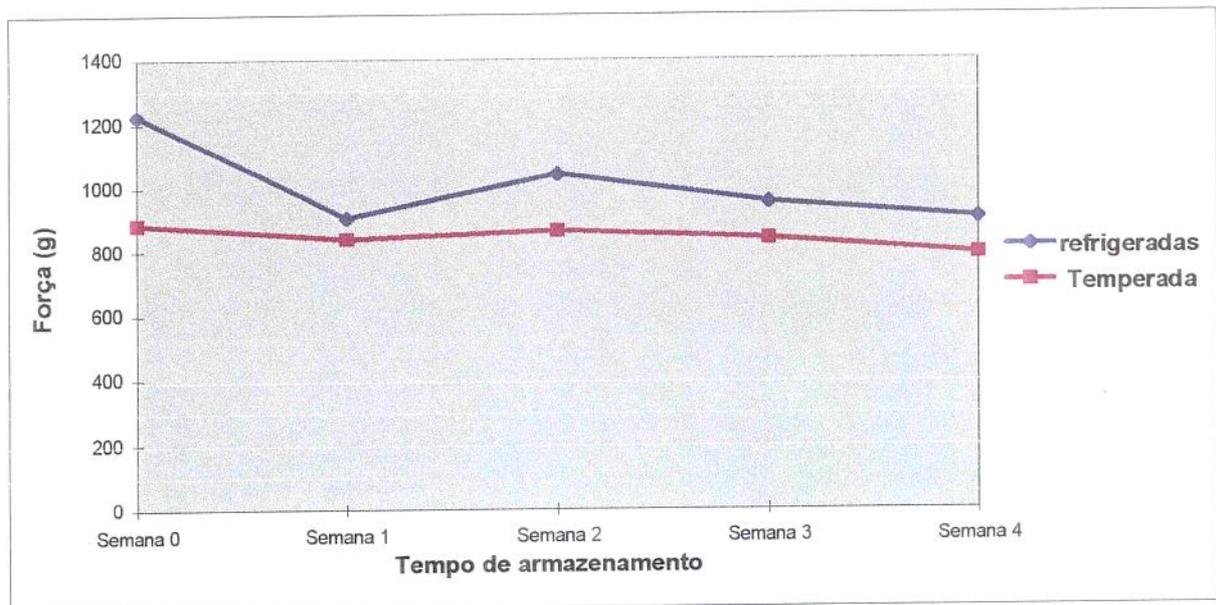
(semana zero) era grande, diminuiu ao longo do tempo de armazenamento. Este resultado está de acordo com DIEFES et alli (1993) que constatou que o queijo submetido a temperagem recuperou parte das propriedades reológicas apresentadas pelo controle. BERTOLA et alli (1996) observou que a Mussarela congelada e posteriormente temperada por período de 14 a 21 dias não perdia qualidade quando comparada com a que havia permanecido sob refrigeração. O resultado deste experimento também concorda com os observados por DAHLSTROM (citado por BERTOLA et alli, 1996) que constatou que após o descongelamento a Mussarela apresentava baixa coesividade, porém com um período de temperagem variando de 1 a 3 semanas, as características normais do queijo congelado eram recuperadas.

#### 4.4. FACILIDADE DE CORTE DA MUSSARELA

Os resultados do teste de facilidade de corte da Mussarela estão apresentados na Tabela 4.4.1. e na Figura 4.4.1. Neste teste foi avaliada a força necessária para efetuar o corte da peça de Mussarela.

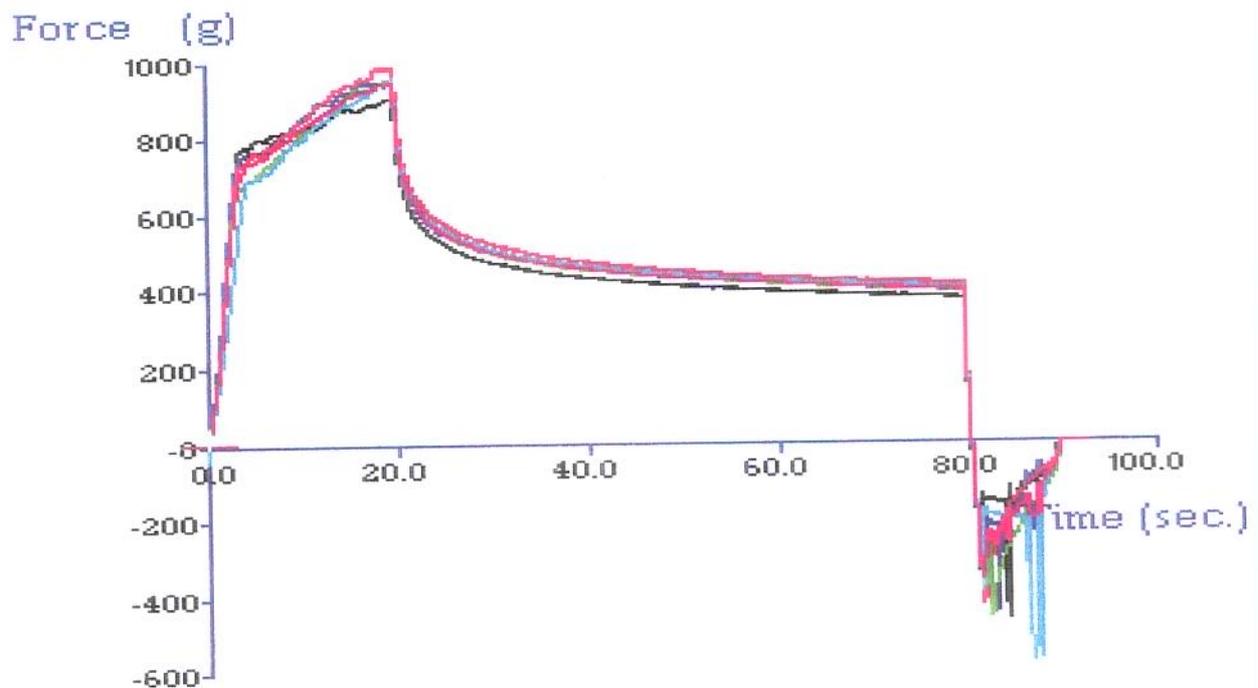
**Tabela 4.4.1. Força necessária para efetuar o corte da Mussarela - teste de facilidade de corte**

	Amostras Refrigeradas		Amostras Temperadas	
	Média	CV (%)	Média	CV (%)
<b>Semana 0</b>	1226.55	56.24	883.22	19.17
<b>Semana 1</b>	904.39	8.42	837.60	18.83
<b>Semana 2</b>	1041.54	4.94	864.35	7.24
<b>Semana 3</b>	953.87	20.13	840.67	12.70
<b>Semana 4</b>	903.49	4.64	791.17	24.42



**Figura 4.4.1. Comportamento da facilidade de corte (força necessária para efetuar o corte) da Mussarela temperada e refrigerada ao longo do tempo de armazenamento.**

A Figura 4.4.2. Mostra um exemplo do gráfico obtido como resultado no Texturômetro TAXT<sub>2</sub>.



**Figura 4.4.2. Gráfico do Texturômetro TAXT<sub>2</sub> - Facilidade de Corte da Mussarela.**

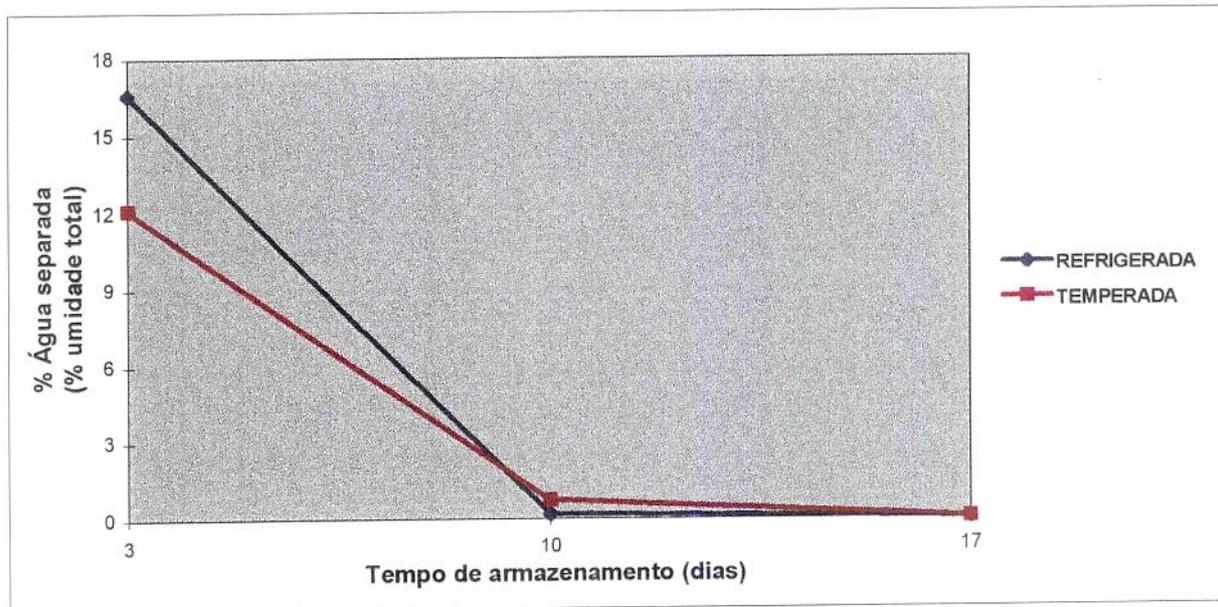
Através da análise estatística do SAS constatou-se que para facilidade de corte não houve diferença significativa com relação aos blocos ( $p=0,23$ ), nem com o tempo de armazenamento ( $p=0,46$ ). Houve diferença significativa ( $p=0,06$ ) com a condição de estocagem.

Analisando dados apresentados na Figura 4.4.1. verificou-se que para as amostras refrigeradas a força necessária para efetuar o corte de maneira geral diminuiu ao longo do tempo de armazenamento. Inicialmente (semana 0 até semana 1) a diminuição foi acentuada, seguida por um ligeiro aumento entre a primeira e a segunda semana seguida por uma diminuição até o final do armazenamento, o que provavelmente está associado as mudanças ocasionadas pela proteólise. Para as amostras temperadas a força necessária para efetuar o corte permaneceu praticamente inalterada ao longo do tempo de estocagem. Foi verificado que para as amostras refrigeradas o valor da força para efetuar o corte foi sempre superior ao das amostras temperadas.

Esta mudanças observadas na facilidade de corte foram coerentes com a avaliação de textura TPA para os atributos dureza TPA, mastigabilidade TPA e coesividade TPA. Quanto a facilidade de corte também se observa no inicio uma grande diferença entre os dois tratamentos e esta diferença tende a diminuir ao longo do tempo de estocagem. Provavelmente esta pequena alteração observada na facilidade de corte ocorreu em função da baixa taxa de proteólise.

## 4.5. SEPARAÇÃO DE ÁGUA

Os resultados observados com relação a separação de água estão mostrados na Figura 4.5.1.



**Figura 4.5.1** Efeito dos tratamentos (Temperagem e Refrigeração) na separação de água livre ao longo do tempo de armazenamento (6-8°C).

A análise estatística demonstrou haver diferença significativa somente com relação ao tempo de armazenagem ( $p=0,0001$ ), não ocorrendo diferença significativa ( $p=0,47$ ) com relação aos tratamentos. A interação entre os fatores não foi significativa.

O fato de não haver diferença significativa com relação aos tratamentos indica que o congelamento não afetou de maneira significativa a retenção de água da Mussarela.

Em nossos experimentos, observou-se que a separação de água diminuiu brusca e progressivamente até o décimo dia de armazenagem, para os queijos refrigerados e para os submetidos ao congelamento. Do 10º ao 17º dia, a

tendência para ambos os tratamentos foi de diminuir acentuadamente a exsudação de água livre.

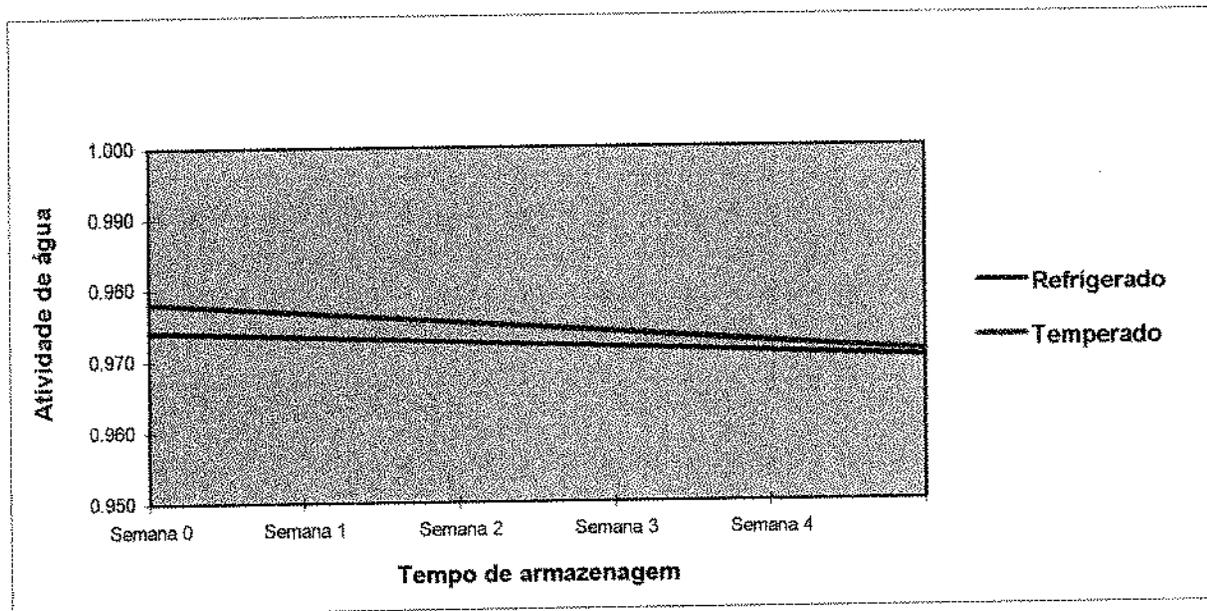
O resultado obtido está de acordo com o relatado por GUO & KINDSTEDT (1995) que verificou um significativo decréscimo na separação de água ao longo das duas primeiras semanas de armazenamento o que pode ser explicado pelo substancial aumento na capacidade de retenção de água do queijo Mussarela. O aumento na capacidade de retenção de água da proteína da Mussarela, foi explicado por GUO & KINDSTEDT (1995), baseados na teoria de GEURTS. Na Mussarela fresca, a fase aquosa do queijo consiste basicamente, em uma salmoura diluída, contendo 3 a 4% de NaCl e 0,3 a 0,5% de Ca. Durante a maturação, parece possível que a matriz de caseína insolúvel fique intumescida a nível microestrutural, formando em gel hidratado, este fato é acompanhado por uma progressiva solubilização da caseína intacta devido a ação do NaCl. Este intumescimento do gel protéico poderia resultar em um aumento da capacidade de retenção de água do queijo.

Uma outra possível explicação para o fato observado, seria a proposta por OBERG et alii (1993) que afirmam que a Mussarela recém processada poderia ser vista como uma esponja devido a significativa quantidade de umidade que fica fracamente retida na matriz protéica. É provável que esta característica de baixa capacidade de retenção de água da Mussarela fresca esteja associada com a passagem do soro para os grandes "canais" situados entre as fibras protéicas alongadas formadas durante a filagem. Durante a filagem ocorre saída da água da matriz protéica em direção aos canais de gordura líquida, quando a gordura se solidifica a água é forçada a voltar para a matriz protéica.

Os resultados obtidos indicam que após o 10<sup>o</sup> dia armazenamento refrigerado, tanto a Mussarela submetida ao congelamento quanto a que foi refrigerada, não devem apresentar os problemas de umidade livre que caracteriza a Mussarela fresca, em virtude do aumento na retenção de água observado após os dez dias de armazenamento. Este fato, provavelmente, facilitaria o manuseio e o corte da Mussarela para o preparo de pizza ou sanduíches.

## 4.6. ATIVIDADE DE ÁGUA

Os resultados da atividade de água estão apresentados na Figura 4.6.1.



**Figura 4.6.1. Efeito dos tratamentos (Temperagem e Refrigeração) na atividade de água durante quatro semanas de armazenamento a (6-8°C).**

A análise estatística demonstrou haver diferença significativa com relação aos tratamentos ( $p=0,04$ ) porém não houve diferença significativa com relação ao tempo de armazenamento ( $p=0,11$ ).

Apesar de existir diferença significativa, a diferença entre os valores iniciais e finais de atividade de água foi muito pequena e não permitem explicar os altos valores de água livre observados nas primeiras duas semanas de armazenamento.

A diferença observada foi na terceira casa decimal já dentro do erro do equipamento e portanto esta análise não levou a nenhuma observação conclusiva.

## 4.7. COR DO QUEIJO

### 4.7.1. ANTES DO DERRETIMENTO

O resultado da medida de cor das amostras cruas podem ser observados nas tabelas 4.7.1.1. e 4.7.1.2.

**Tabela 4.7.1.1. Resultado da cor do queijo temperado**

	L		a		b	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP
Semana 0	76.36	3.88	-3.89	0.01	19.81	0.16
Semana 1	74.56	0.85	-3.85	0.21	19.63	0.88
Semana 2	73.41	4.35	-3.72	0.27	18.80	0.80
Semana 3	72.09	1.02	-3.31	0.41	18.77	0.51
Semana 4	74.46	2.46	-3.77	0.47	20.05	1.42

**Tabela 4.7.1.2. Resultado da cor do queijo refrigerado**

	L		a		b	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP
Semana 0	74.39	3.34	-3.71	0.33	18.89	0.57
Semana 1	70.82	2.68	-4.28	0.51	19.65	0.40
Semana 2	73.02	5.22	-4.02	0.35	19.43	0.41
Semana 3	74.50	3.25	-3.88	0.43	19.04	0.77
Semana 4	71.57	1.33	-3.78	0.36	18.80	0.40

Com relação a cor das amostras, não foi observada diferença significativa com nenhum dos fatores estudados. Neste trabalho não foi observado o defeito de descoloração superficial, aparecimento de manchas brancas, conforme observados por DAHLSTROM (citado por BERTOLA et alli, 1996).

#### 4.7.2. DEPOIS DE DERRETIDO - "BROWNING TEST"

O resultado da medida de cor das amostras após o derretimento podem ser observado na tabela 4.7.2.1. e 4.7.2.2. Com relação a esta medida, não foi observada diferença significativa com nenhum dos fatores estudados.

**Tabela 4.7.2.1. Resultado da cor do queijo após o derretimento da amostra refrigerada**

	L		a		b	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP
Semana 0	52.94	1.49	-3.08	1.49	18.02	1.97
Semana 1	55.39	4.50	-1.52	1.67	19.35	1.90
Semana 2	55.61	4.30	-1.98	1.60	17.13	1.35
Semana 3	55.79	0.69	-3.71	0.99	17.34	1.08
Semana 4	54.06	0.75	-4.41	0.47	17.73	1.19

**Tabela 4.7.2.2. Resultado da cor do queijo após o derretimento da amostra temperada**

	L		a		b	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP
Semana 0	56.73	6.10	-1.85	1.44	19.07	2.11
Semana 1	55.53	0.76	-3.51	1.49	17.37	1.03
Semana 2	54.25	0.93	-4.26	0.37	17.57	1.17
Semana 3	55.16	0.57	-4.67	0.09	16.65	2.43
Semana 4	51.51	4.55	-4.19	1.15	14.80	1.43

O pequeno desenvolvimento de cor durante o derretimento do queijo deve estar relacionado com a pequena intensidade da reação de Maillard (entre o açúcar residual e aminoácidos). Esta reação foi pouco intensa devido a baixa intensidade na proteólise, principalmente no que diz respeito a causada pelas proteases do fermento láctico (medida pelos teores de N solúvel a 12% TCA) que resultam na produção de pequenos peptídeos e aminoácidos, produtos estes essenciais na reação de Maillard.

A Figura 4.7.1. mostra a cor das amostras de queijo cru e de queijo derretido ("browning test").

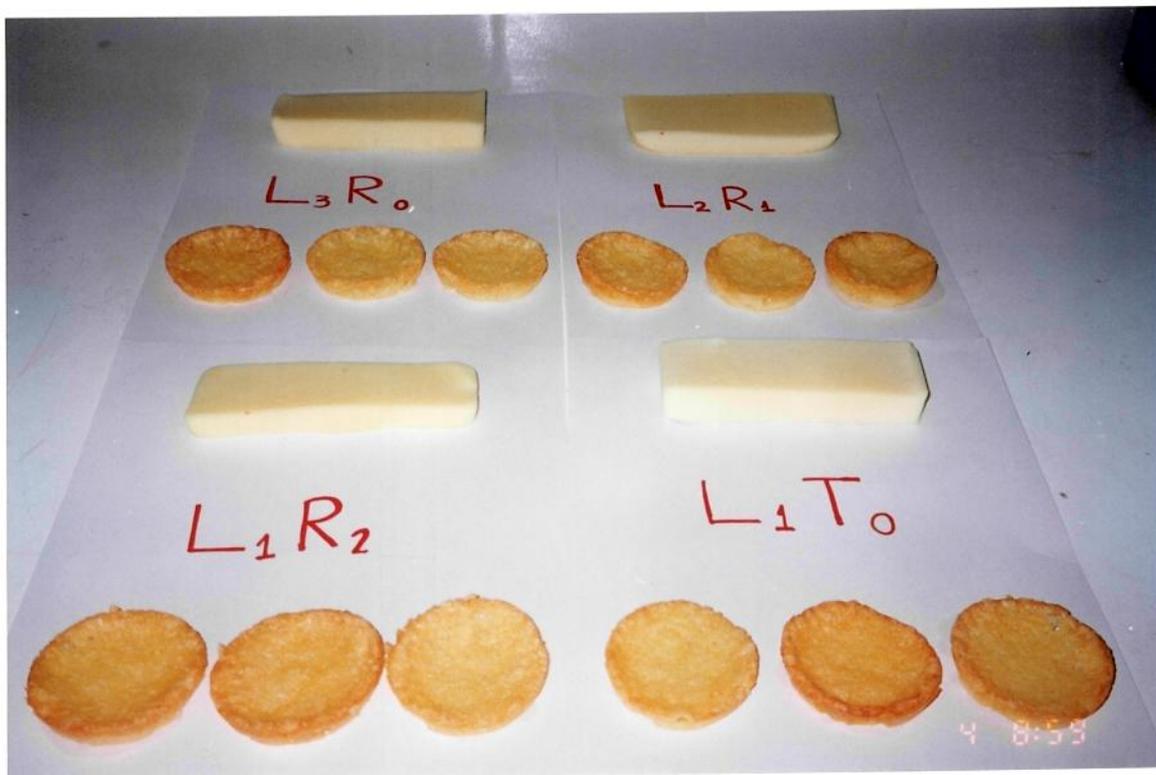
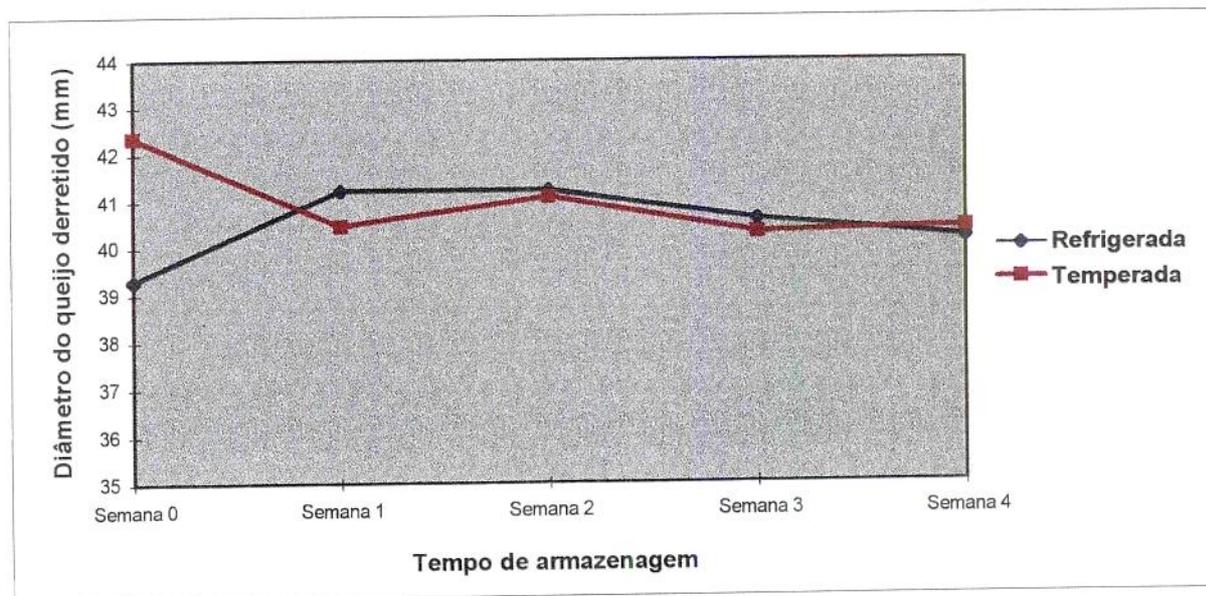


Figura 4.7.1. Cor de algumas amostras de queijo cru e de queijo após o derretimento.

#### 4.8. CAPACIDADE DE DERRETIMENTO

Os dados apresentados na Figura 4.8.1. mostram o comportamento da capacidade de derretimento com o tempo de armazenamento para os dois tratamentos.



**Figura 4.8.1. Efeito dos tratamentos (Temperagem e Refrigeração) na capacidade de derretimento da Mussarela com o tempo de armazenagem.**

Quanto ao derretimento não foi observada diferença significativa com relação aos tratamentos ( $p=0.227$ ) ou com o tempo de armazenamento ( $p=0.513$ ), porém a interação entre condição de estocagem e tempo de armazenamento foi significativa ( $p=0.033$ ), neste caso devem ser esquecidos os fatores individuais e se analisar somente a interação. O fato da interação ser significativa revela que houve diferença significativa entre os dois tratamentos com relação ao tempo de armazenagem. Aparentemente esta interação pode ser explicada pela diferença de comportamento apresentada entre os dois tratamentos na semana zero. A partir da primeira semana esta diferença torna-se praticamente insignificante, sendo que ao longo do tempo, os valores dos dois tratamentos tornam-se cada vez mais próximos no que diz respeito a capacidade de derretimento da Mussarela.

As amostras recém descongeladas apresentaram um derretimento bastante superior as demais, o que provavelmente foi devido alguma alteração ocorridas na estrutura protéica durante o congelamento, ocasionando a diminuição da coesividade. Durante o preparo das amostras recém descongeladas, foi possível visualizar pequenas rachaduras nos disco de queijo quando estes permaneciam inteiros, pois muitos deles se quebravam ou rachavam quando eram transferidos para as placas de petri.

Durante o derretimento, a fase sólida do queijo se liqüefaz e as moléculas de proteína se reorientam. Os glóbulos de gordura coalescem e fluem quando a matriz protéica se colapsa (PAQUET & KALAB, 1988). Assim qualquer tratamento que afete a estrutura da proteína e a distribuição de gordura pode afetar a capacidade de derretimento. Segundo OBERG et alli (1992), a coesividade da estrutura protéica da massa tem efeito inversamente proporcional ao derretimento. Provavelmente a influência da baixa coesividade na maior capacidade de derretimento está relacionada com as alterações ocorridas na caseína durante o processo de congelamento.

A capacidade de derretimento observada para as amostras de maneira geral, neste experimento, foi bastante baixa e provavelmente isto se deve aos baixos índices de extensão e profundidade de proteólise. A proteólise tem sido correlacionada com a diminuição da coesividade, diminuição da firmeza e com o aumento da capacidade de derretimento do queijo (OBERG et alli, 1993; KINDSTEDT, 1993). O uso da cultura mesofílica, destruída durante a filagem da massa, contribuiu para a proteólise pouco intensa observada, resultando em pequenas mudanças nas propriedades funcionais durante o armazenamento dos queijos.

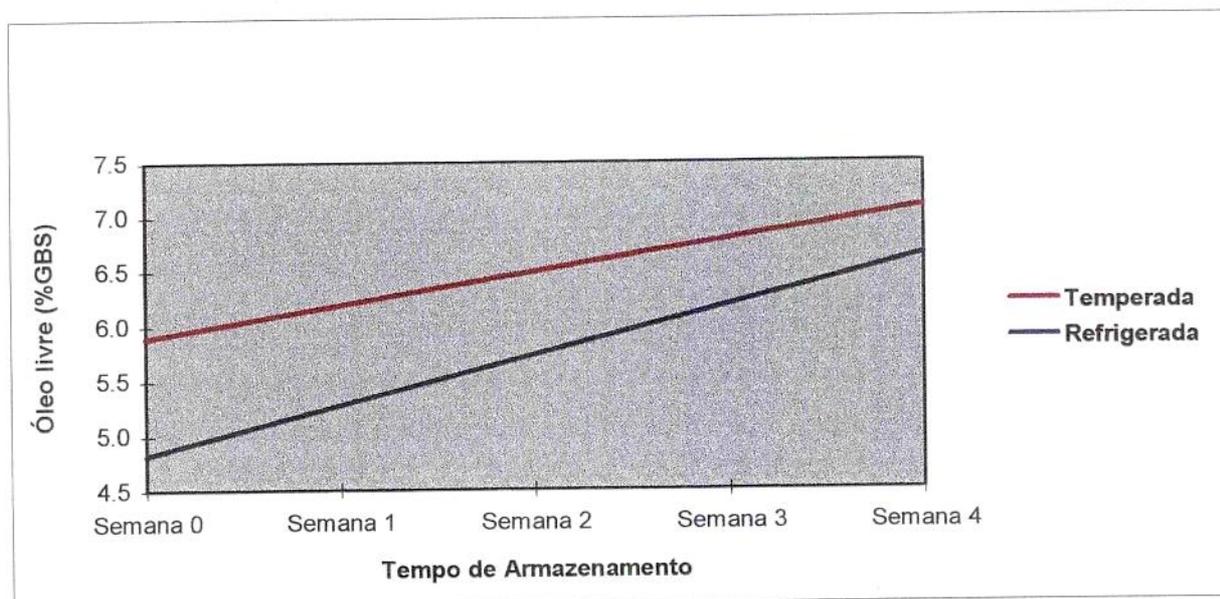
Os dados apresentados na Figura 4.8.1. mostram que inicialmente foi observado um ligeiro aumento da capacidade de derretimento das amostras refrigeradas e uma pequena diminuição da capacidade de derretimento das amostras temperadas ao longo do tempo de armazenagem. Este resultados concordam com o observados por OBERG et alli (1992) que constatou que os

queijos congelados mostraram uma diminuição no derretimento com o tempo de estocagem.

O resultado deste experimento é contrário ao observado por APOSTOLOPOULOS & MARSHALL (citado por APOSTOLOPOULOS et alii, 1994) que não constatou diferença com relação ao derretimento da Mussarela congelada/descongelada.

#### 4.9. ÓLEO LIVRE

A Figura 4.9.1. mostra o comportamento da separação de óleo com o tempo de armazenagem para os dois tratamentos.



**Figura 4.9.1. Efeito dos tratamentos (Temperagem e Refrigeração) na separação de óleo durante quatro semanas de armazenamento a (6-8°C).**

Com relação a separação de óleo livre, observou-se diferença significativa ( $p=0,058$ ) com relação aos tratamentos, e com o tempo de armazenamento ( $p=0,085$ ). A interação entre condição de estocagem e tempo de armazenamento não foi significativa ( $p=0.464$ ). O comportamento da separação de óleo livre com o

tempo pode ser aproximado por um modelo linear ( $p=0,015$ ). Constatou-se a existência de uma tendência crescente na separação de óleo com o tempo sendo a separação de óleo superior nas amostras temperadas.

O processo de congelamento afetou a separação de óleo livre, sendo que uma possível justificativa para separação de óleo superior nas amostras temperadas seria a desnaturação protéica e ruptura da membrana lipoproteica do glóbulo de gordura que teria ocorrido em função do processo de congelamento. Esse resultado está de acordo com o encontrado por APOSTOLOPOULOS & MARSHALL (citado por APOSTOLOPOULOS et alii, 1994) e também com os de OLSON (1982), que verificaram uma separação de gordura superior no queijo congelado em comparação ao estocado sob refrigeração.

O aumento linear de óleo livre com o tempo de armazenamento pode ser associado com a proteólise que ocorre ao longo da estocagem. Com o passar do tempo de armazenamento, a porosidade da matriz de paracaseína aumenta, as microcavidades que contém a gordura, se agrupam formando cavidades maiores, isto provavelmente fornece parte da explicação do aumento de óleo livre com o tempo de armazenamento (KIELY et alii, 1993). Com a proteólise, ocorre a desagregação da matriz protéica, que funciona como uma barreira física que evita a coalescência dos glóbulos de gordura que estão próximos. PAQUET & KALAB (1988) forneceram evidências de que os glóbulos de gordura próximos se aglomeram depois do colapso da matriz de paracaseína durante o aquecimento da "massa" e filagem da Mussarela. Conseqüentemente, o enfraquecimento da matriz protéica que ocorre durante a maturação do produto, devido a proteólise está, provavelmente associado a pequena capacidade desta matriz conter fisicamente a gordura durante o aquecimento no derretimento. OBERG (1993), também associou a separação de gordura com a proteólise, ou seja a hidrólise da caseína permitiu a quebra da estabilidade da emulsão proteína-gordura.

TUNICK et alli (1995) em seu estudo verificou que o aumento de separação de óleo ocorrido ao longo da estocagem da Mussarela estava relacionado com a proteólise ocorrida principalmente na caseína- $\alpha_{s1}$ .

## 5. CONCLUSÕES

1. Os resultados da determinação da composição da Mussarela evidenciaram a variação entre os lotes, conseqüência da variação da composição do leite e também da falta de padronização de algumas etapas do processamento. O sal e a gordura foram os componentes do queijo que mais variaram apresentando os coeficientes de variação mais altos.
2. Neste experimento foi observada uma pequena intensidade de proteólise, que deve ter ocorrido basicamente em função da ação do agente coagulante. O baixo índice de proteólise deve estar associado a pequena porcentagem de fermento láctico utilizada no processamento assim como também devido a alta temperatura de filagem que inativou o fermento mesófilo utilizado e pode ter ocasionado a inativação de parte considerável do agente coagulante. Conseqüentemente, após a filagem, as bactérias foram incapazes de fermentar a lactose em ácido láctico, resultando em queijos com baixo nível de acidez titulável.
3. A análise eletroforética demonstrou que houve desdobramento da caseína- $\alpha_{S1}$  em caseína- $\alpha_{S1-I}$  e também foi evidenciada que a fração da  $\beta$ -caseína sofreu uma pequena degradação provavelmente devido a ação da plasmina provocando o aparecimento de bandas de  $\gamma_1$ ,  $\gamma_2$  e  $\gamma_3$ -caseína. Isso ocorreu indistintamente para todos os queijos, não se conseguindo observar nenhuma diferença com relação ao tempo de armazenamento ou devido ao tratamento.

4. Com relação a análise do perfil de textura, foi constatado que para a dureza TPA, mastigabilidade TPA e coesividade TPA a diferença inicial entre os dois tratamentos era grande, porém ela diminuiu ao longo do tempo. A coesividade TPA apresentou uma leve diminuição com o tempo de armazenamento para os dois tratamentos, permanecendo inferior para as amostras que foram congeladas.
5. Os queijos submetidos ao congelamento apresentaram menor resistência ao corte provavelmente devido a baixa coesividade dos mesmo. Na avaliação da facilidade de corte, foi observada diferença significativa com relação as condições de estocagem. Inicialmente a diferença entre dois tratamentos era grande, porém ela diminuiu ao longo do tempo de temperagem.
6. Quanto a separação de água foi observada diferença significativa somente com relação ao tempo de armazenamento indicando que o congelamento não deve ter afetado de maneira significativa a retenção de água da Mussarela. Observou-se separação de água somente até a segunda semana de armazenamento.
7. Para a atividade de água e para a cor do queijo cru e depois do derretimento não foram observadas diferenças significativas com o tempo ou com as condições de armazenamento.
8. A capacidade de derretimento observada para as amostras de maneira geral neste experimento foi bastante baixa e provavelmente isto foi devido aos baixos índices de proteólise. As amostras recém descongeladas apresentaram um derretimento superior as demais, provavelmente em função de alguma alteração ocorrida na estrutura protéica durante o congelamento o que deve ter ocasionando a diminuição da coesividade. A partir da segunda semana de temperagem praticamente não foi observada diferença entre os dois tratamentos com relação a capacidade de derretimento.

9. Com relação a separação de óleo livre, observou-se diferença significativa com relação aos tratamentos e com o tempo de armazenamento. Foi observada a existência de uma tendência crescente na separação de óleo com o tempo, sendo esta separação superior nas amostras temperadas. O processo de congelamento afetou a separação de óleo livre, provavelmente devido a alguma desnaturação protéica, ou crescimento de cristais de gelo com ruptura da membrana lipoproteica do glóbulo de gordura, o que pode ter favorecido a coalescência da gordura e formação de aglomerados maiores levando a uma maior separação de óleo livre.
10. Após duas semanas de temperagem, a capacidade de derretimento, a facilidade de corte e a maioria dos parâmetros de textura das amostras submetidas ao congelamento e das amostras mantidas sob refrigeração eram semelhantes. Portanto após um período de duas semanas de temperagem, o congelamento só afetou negativamente a separação de óleo livre.

## 6. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- ALVAREZ, R.J. Expectation of Italian cheese in the pizza industry. In: THE ANNUAL MARSHALL ITALIAN CHEESE SEMINAR 23<sup>o</sup>. 1986, Madison. PROCEEDINGS, Madison, 1986. p. 130-138.
- APOSTOLOPOULOS, C. Simple empirical and fundamental methods to determine objectively the stretchability of Mozzarella cheese. Journal of Dairy Research, Londres, v. 61, p. 405-413, 1994.
- APOSTOLOPOULOS, C.; BINES, E.V.; MARSHALL, R.J. Effect of post-cheddaring manufacturing parameters on the meltability and free oil of Mozzarella cheese. Journal of the Society of Dairy Technology, Huntingdon, v. 47, n. 3 p. 84-87, 1994.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of AOAC international. 16<sup>th</sup> Ed. Washington, 1995.
- BARBANO, D.M.; CHU, K.Y.; YUN, J.J.; KINDSTEDT, P.S. Contributions of coagulant, starter and milk enzymes to proteolysis and browning in Mozzarella cheese. In: ANNUAL MARSHALL ITALIAN CHEESE SEMINAR 30<sup>o</sup>. 28-29 de Set. 1993, Madison, PROCEEDINGS. p. 41-50.
- BERTOLA, N.C.; CALIFANO, A.N.; BEVILACQUA, A.E.; ZARITZKY, N.E. Effect of freezing conditions on functional properties of low moisture Mozzarella cheese. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 79, p. 185-190, 1996.
- BLAKESLEY, R.W.; BOEZI, J.A. A new staining technique for proteins in polyacrylamide gels using brilliant blue G250. Analytical Biochemistry, San Diego, v. 82, p.580-582, 1977.
- BOURNE, M.C. Texture profile of ripening pears. Journal of Food Science, Chicago, v. 33, p.223-326, 1968.
- BOURNE, M.C. Texture profile analysis. Food Technology, Chicago, v. 32, n. 7, p. 62-72, 1978.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal (RIISPOA): aprovado pelo Decreto n. 30.691, de 29 de mar. 1952, alterado pelo Decreto n. 1.255 de 25 de jun. de 1962. Brasília [Artigo 621: definição de Queijo Mussarela.] Diário Oficial.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Decreto n. 2.244, de 4 de jun. 1997. Altera dispositivos do Decreto n. 30.691, de 29 de mar. 1952, aprovou o Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal, alterado pelo Decreto n. 1.255 de 25 de jun. de 1962, n. 1.236, de 2 de set. de 1994 e n. 1.812 de 8 de fev. de 1996. [Artigo 621: definição de Queijo Mussarela.] Diário Oficial, Brasília, 6 de jun. 1997.

BRASIL. MAARA - Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. Portaria 146, de 7 de mar. de 1996 consta no Item 7.1 das Considerações Gerais do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos. [Determina os padrões microbiológicos para o Queijo Mussarela.] Diário Oficial, 11 de mar. de 1996. p. 3977-3986.

BYNUM, D.G.; BARBANO, D.M. Whole milk reverse osmosis retentates for Cheddar cheese manufacture: chemical changes during aging. Journal Dairy Science, Champaign, v. 68, p. 1-10, 1985.

CERVANTES, M. A.; LUND, D.B.; OLSON, N.F. Effects of salt concentration and freezing on Mozzarella cheese texture. Journal Dairy Science, Champaign, v. 66, p. 205-213, 1983.

CHERL-HO, L.; IMOTO, E.M.; RHA, C. Evaluation of cheese texture. Journal of Food Science, Chicago, v. 43, n. 5, p. 1600-1605, 1978.

CHRISTENSEN, T.M.; BECH, A.M.; WERNER, H. Methods for crude fractionation (extraction and precipitation) of nitrogen components in cheese. In: Chemical methods for evaluation of proteolysis in cheese maturation. International Dairy Federation Bulletin, Bruxelas, n. 261, p. 4, 1991.

- CHU, C.F.; PELEG, M. The comprehensive behavior of solid food specimens with small height to diameter ratios. Journal of Texture Studies, Connecticut, v.16, p. 451-464, 1985.
- CORTESI, M.L.; MARANELLI, A. Fiordilatte e Mozzarella: considerazioni di ordine igienico e normativo. Industrie Alimentari, v. 93, p. 528-531, 1982.
- CREAMER, L.K. Casein proteolysis in Mozzarella-type cheese. New Zeland Journal Dairy Science Technology, Palmerston North, v. 11, p. 130-131, 1976.
- CREAMER, L.K.; OLSON, N.F. Rheological evaluation of maturing Cheddar cheese. Journal Food Science, Chicago, v. 47, p. 631-646, 1982.
- DAMÁSIO, M.H.; VIOTTO, W.H.; CHAVES, A.C.S.D.; CORREIA NETO, R.S.; PENTEADO, M.M.C. Correlação entre medidas instrumentais e atributos sensoriais na avaliação de textura de Mussarela. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS 15º, Ago. 1996, Poços de Caldas. Anais. Poços de Caldas: SBCTA, 1996. seção 87, n. 383.
- DATAMARK CONSULTORES. A indústria brasileira de embalagens incorporando o mercado brasileiro de produtos ao consumidor. Parte 2. Os mercados finais de uso. Brazil Pack' 94, 9ª ed.,. São Paulo: Datamark, 1994. p. 71-221.
- DE JONG, L. Protein breakdown in salt cheese and its relation to consistency. 1-Proteolysis and consistency of Moordhollandse Meshanger cheese. Netherlands Milk and Dairy Journal, Wageningen, v. 30, p. 242-253, 1976.
- DESMAZEAUD, M.J.; GRIPON, J.C. General mechanism of protein breakdown during cheese ripening. Milchwissenschaft, Kiel, v. 32, n. 12, p. 731-734, 1977.
- DIEFES, H.A.; RIZVI, S.S.H.; BARTSCH, J.A. Rheological behavior of frozen and thawed low-moisture, part-skim Mozzarella cheese. Journal of Food Science, Chicago, v. 58, n. 4, p. 764-769, 1993.
- FARKYE, N.Y.; KIELY, L.J.; ALLSHOUSE, R.D.; KINDSTEDT, P.S. Proteolysis in Mozzarella cheese during refrigerated storage. Journal of Dairy Science, Champaign, v.74, p. 1433-1438, 1991.

- FARKYE, N.Y.; FOX, P.F. Objective indices of cheese ripening. Trends in Food Science & Technology, Cambridge, v. agô., p. 37-40, 1990.
- FOX, P.F.; GUINEE, T.P. Italian cheese. In: FOX, P.F. Cheese: chemistry, physics, and microbiology. New York, Elsevier Applied Science, 1987. v. 2, p. 221.
- FOX, P.F. Significance of salt in cheese ripening. Dairy Industries International, London, v. 52, n. 9, p. 19-21, 1987.
- FOX, P.F. Rennets and their action in cheese manufacture and ripening. Biotechnology and Applied Biochemistry, San Diego, v. 10, p. 522-535, 1988.
- FOX, P.F. Proteolysis during cheese manufacture and ripening. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 72, p. 1379-1400, 1989.
- 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.
- FURTADO, M.M. Defeitos específico de algumas variedades de queijos. In: FURTADO, M.M. A arte e a ciência do queijo. 2ª Ed. São Paulo: Globo, 1990. cap. 9, p. 239-279. (Publicação Globo Rural).
- FURTADO, M.M.; LOURENÇO NETO, J.P.M. Mussarela. In: FURTADO, M.M.; LOURENÇO NETO, J.P.M. Tecnologia de queijos: Manual Técnico para produção Industrial de Queijos. 1ª Ed. São Paulo: Dimepar, 1994. cap.18, p. 81-85.
- FURTADO, M.M.; LOURENÇO NETO, J.P.M.; Informativo HA-LA Biotec - Chr. Hansen, Valinhos: São Paulo, v. 39, p. 2-3, Maio, 1997.
- GANGOPADHYAY, S.K. & THAKAR, P.N. Milk coagulant retention in Mozzarella cheese and curd. The Australian Journal of Dairy Technology, v. 46, nov., p. 49-52, 1991.

- GHOSH, B.C.; SINGH, S. Effect of storage temperatures on sensory, chemical and rheological characteristics of Mozzarella cheese. Journal of Food Science technology, Mysore, v. 28, n. 5, p. 288-292, 1991.
- GRAPPIN, R.; RANK, T.C.; OLSON, F. Primary proteolysis of cheese protein during ripening. A review. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 68, p. 531-540, 1985.
- GREEN, M.L.; MARSHALL, R.J.; BROOKER, B.E. Instrumental and sensory texture assessment and fracture mechanics of Cheddar and Cheshire cheese. Journal Texture Studies, Connecticut, v. 16, p. 351-364, 1985.
- GUO, M.R.; KINDSTEDT, P.S. Age-related changes in the phase of Mozzarella cheese. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 78, p. 2099-2107, 1995.
- HARVEY, C.D.; MORRIS, H.A.; JENNESS, R. Relation between melting and textural properties of process Cheddar cheese. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 65, p. 2291-2295, 1982.
- IMOTO, E.M.; LEE, C.H.; RHA, C. Effect of compression ratio on mechanical properties of cheese. Journal of Food Science, Chicago, v. 44, p. 343-345, 1979.
- KELLER, B.; OLSON, N.F.; RICHARDSON, T. Mineral retention and rheological properties of Mozzarella cheese made by direct acidification. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 57, p. 174-180, 1974.
- KIELY, L.J.; KINDSTEDT, P.S.; HENDRICKS, G.M.; LEVIS, J.E.; YUN, J.J.; BARBANO, D.M. Age related changes in the microstructure of Mozzarella cheese. Food Structure, Chicago, v. 12, p. 13-20, 1993.
- KINDSTEDT, P.S. Mozzarella and Pizza cheese In: FOX, P.F. Cheese: chemistry, physics, and microbiology. New York: Elsevier Applied Science, 1987. v. 2, p. 337-361.

- KINDSTEDT, P.S.; RIPPE J. K. Rapid quantitative test for free oil (oiling off) in melted Mozzarella cheese. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 73, p. 867-873, 1990.
- KINDSTEDT, P.S. Functional Properties of Mozzarella cheese on Pizza: A review. Cultured Dairy Products Journal, Washington, v 26, n. 3, p. 27-31, 1991a.
- KINDSTEDT, P.S.; FOX, P. F. Modified Gerber test for free oil in melted Mozzarella Cheese. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 56, n. 4, p. 1115-1116, 1991b.
- KINDSTEDT, P.S.; KIELY, L.J.; GILMORE, J.A. Variation in composition and functional properties within brine-salted Mozzarella cheese. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 75, p. 2913-2921, 1992.
- KINDSTEDT, P.S. Effects of manufacturing factors, composition, and proteolysis on functional characteristics of Mozzarella cheese. Critical review Food Science Nutrition, Florida, v. 33, p. 167-187, 1993.
- KINDSTEDT, P.S.; LAROSE, K.L.; BARBANO, D.M.; YUN, J.J. Impact of coagulant level on composition, proteolysis and functional characteristics of Mozzarella cheese. In: THE ANNUAL MARSCHALL ITALIAN CHEESE SEMINAR 30<sup>o</sup>, 28-29 de Set. 1993, Madison. Proceedings. Madison, 1993.
- KONSTANCE, R.P.; HOLSINGER, V.H. Development of rheological test methods for cheese. Food Technology, Chicago, v. Jan, p. 105-109, 1992.
- KOSIKOWSKI, F.V. Soft Italian Cheese. In: KOSIKOWSKI, F.V. Cheese and fermented milk foods. 2<sup>a</sup> Edição. Ann Arbor, Michigan, Edwards Brothers, Inc., 1977. p. 179-212.
- KOSIKOWSKI, F.V. In: KOSIKOWSKI, F.V. Cheese and fermented milk foods. Ann Arbor: Michigan, Edwards Brothers, 1982.
- LAWRENCE, R.C.; CREAMER, L.K.; GILLES, J. Texture development during cheese ripening. Journal Dairy Science, Champaign, v. 70, p. 1748-1760, 1987.

- MATHESSON, A.R. The immunochemical determination of chymosin activity in cheese. New Zealand Journal Dairy Science Technology, Palmerston North, v. 16, p. 33-41, 1981.
- MELACHOURIS, N. P.; TUCKEY S.L. Properties of milk clotting microbial enzyme. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 50, p. 943, 1967.
- NILSON, K. M.; LACLAIR, F.A. A national survey of quality of Mozzarella cheese. American Dairy Review, v. 38, p.18A, 18D, 18F, 18H, 1976.
- OBERG, C.J.; MERRILL, R.K.; BROWN, R.J.; RICHARDSON, G.H. Effects of freezing, thawing and shedding on low moisture, part-skim Mozzarella cheese. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 75, p. 1161-1166, 1992.
- OBERG, C.J.; McMANUS, W.R.; McMAHON, D.J. Microstructure of Mozzarella cheese during manufacture. Food Structure, Chicago, v. 12, p. 251-258, 1993.
- OBERG, C.J.; WANG, A.; MOYES, L.V.; BROWN, R.J.; RICHARDSON, G.H. Effect of proteolytic activity of thermolactic cultures on physical properties of Mozzarella cheese. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 74, p. 389-397, 1991.
- O'KEEFFE, A.M.; FOX, P.F.; DALY, C. Proteolysis in Cheddar cheese: role of coagulant and starter bacteria. Journal of Dairy Research, London, v. 45, p. 465-477, 1978.
- OLIVEIRA, J.S. Queijo: Fundamentos tecnológicos. 2ª Ed. São Paulo: Ed. UNICAMP/Ícone, 1986. 146p.
- OLKKU, J.; RHA, C.K. Textural parameters of candy licorice. Journal of Food Science, Chicago, v. 40, p. 1050-1054, 1975.
- OLSON, N.F. The effects of salt level on the characteristics of Mozzarella cheese before and after frozen storage. In: THE ANNUAL MARSCHALL ITALIAN CHEESE SEMINAR 19°. 1982, Madison. PROCEEDINGS, Madison, 1982.
- PAQUET, A.; KALAB, M. Amino acid composition and structure of cheese baked as a pizza ingredient in conventional and microwave ovens. Food Microstructure, Illinois, v. 7, p. 93-103, 1988.

- PARK, J., ROSENAU, J.R.; PELEG, M. Comparison of four procedures of cheese meltability evaluation. Journal of Food Science, Chicago, v. 49, p. 1158-1170, 1984.
- PELEG, M. Texture profile analysis parameters obtained by Instron Universal Testing Machine. Journal of Food Science, Chicago, v. 41, p. 721-722, 1976.
- PILCHER, G.W.; KINDSTEDT, P.S. Survey of Mozzarella cheese quality at restaurant and use. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 73, n. 6, p. 1644-1647, 1990.
- RICHARDSON, G.H. Standard methods for examination of dairy products. 15<sup>a</sup> ed. Washington, DC: Am. Public Health Association. 1985.
- ROSSI, J. Refrigerated storage of Mozzarella cheese made from buffaloes milk, Scienza e Tecnica Lattiero Casearia. Reggio Emilia, v. 23, n. 1, p. 24-38, 1972.
- SCHIFTAN, T.Z.; IAMATO, K. Estudo sobre a composição de queijo Mussarela consumido na cidade de São Paulo. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, v. set./out, p. 29-34, 1979.
- SHALABI, S.I.; FOX, P.F. Eletrophoretic Analysis of cheese: Comparison of methods. Irish Journal of Food Science and Technology, Dublin, v.11, p. 135-151, 1987.
- SZCZESNIAK, A.S.; BRANDT, M.A.; FRIEDMAN, H.H. Development of standard rating scales for mechanical parameters of texture and correlation between the objective and sensory methods of texture evaluation. Journal of Food Science, Chicago, v. 28, p. 397-403, 1963.
- SZCZESNIAK, A.S. General food texture profile revisited-ten years perspective. Journal of Texture Studies, Connecticut, v. 6, p. 5-17, 1975.
- THOMAS, T.D.; PEARCE, K.N. Influence of salt and lactose fermentation and proteolysis in Cheddar cheese. New Zeland Journal Dairy Science Technology, Palmerston North, v. 16, p. 253-259, 1981.

- TUNICK, M.H.; MACKEY, K.L.; SMITH, P.W.; HOLSINGER, V.H. Effects of composition and storage on the texture of Mozzarella cheese. Netherlands Milk Dairy Journal, Wageningen, v. 45, p. 117-125, 1991.
- TUNICK, M.H. Effects of homogenization and proteolysis on free oil in Mozzarella cheese. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 77, p. 2487-2493, 1994.
- TUNICK, M.H.; MALIN, E.L.; SMITH, P.W.; COOKE, P.H.; HOLSINGER, V.H. Influence of rennet source on proteolysis, rheology and microstructure of low fat Mozzarella cheese. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 78, suplemento 1, D20, 1995.
- VAN VLIET, T.; PELEG, M. Effects of sample size and preparation. International Dairy Federation Bulletin, Bruxelles, n. 268, p. 30-35, 1991.
- VAN VLIET, T. Terminology to be used in cheese rheology. International Dairy Federation Bulletin, Bruxelles, n. 268, p. 5-15, 1991.
- VISSER, S. Proteolytic enzymes and their relation to cheese ripening and flavour: an overview. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 76, p. 329-350, 1993.
- VISSER, S.; SLANGER, K.J.; HUP, G.; EXTERKATE, F.A.; STADHOUDERS, J. The bitter flavour defects in cheese: some chemical and microbiological aspects. Netherlands Milk Dairy Journal, Wageningen, v. 37, p. 250-251, 1983.
- WOLFSCHOON-P, A.F. Índices de proteólise em alguns queijos brasileiros. Boletim do Leite, v. 55, n. 661, p. 1-8, 1983.
- YANG, C. S.; TARANTO, M. V. Textural properties of Mozzarella Cheese analogs manufactured from soybeans. Journal of Food Science, Chicago, v. 47 n. 3, p. 906-910, 1982.
- YUN, J.J.; BARBANO, D.M.; KINDSTEDT, P.S. Mozzarella cheese: impact of miling pH on chemical composition and proteolysis. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 76, p. 3648-3656, 1993a.

- YUN, J.J.; BARBANO, D.M.; KINDSTEDT, P.S. Mozzarella cheese: impact of coagulant type on chemical composition and proteolysis. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 76, p. 3648-3656, 1993b.
- ZHANG, B.; GUO, M.R.; LEACH, D.M.; KINDSTEDT, P.S. Effects of freezing rates on proteolysis, functional characteristics and the water phase of Mozzarella cheese. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 78, suplemento 1, D 63, 1995.
- ZHANG, B.; GUO, M.R.; LAROSE, K.L.; KINDSTEDT, P.S. Effects of slow freezing rates on proteolysis, functional properties and the water phase of Mozzarella cheese. Journal of Dairy Science, Champaign, v. 79, suplemento 1, D 128, 1996.
- ZOON, P. The relation between instrumental and sensory evaluation of the rheological and fracture properties of cheese. International Dairy Federation Bulletin, Bruxelles, n. 268, p. 30-35, 1991.