

Universidade Federal de Juiz de Fora
Pós-graduação em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados

Raquel Sant'Ana Coelho Nepomuceno

**EFEITO DO USO DE CULTURAS PRODUTORAS DE EXOPOLISSACARÍDEOS
(EPS) NA FABRICAÇÃO DO QUEIJO PRATO**

Juiz de Fora
2012

Raquel Sant'Ana Coelho Nepomuceno

**EFEITO DO USO DE CULTURAS PRODUTORAS DE EXOPOLISSACARÍDEOS
(EPS) NA FABRICAÇÃO DE QUEIJO PRATO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação, Mestrado Profissionalizante em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, área de concentração: Novos Produtos e Processos, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre.

Orientadora: Prof^a Dr^a Renata Golin Bueno Costa

Juiz de Fora
2012

AGRADECIMENTOS

Sem Deus isto não passaria de um sonho: a Ele toda gratidão e reconhecimento de minhas limitações e Sua infinita bondade.

Aos meus pais, que agora ausentes fisicamente, sempre foram grandes incentivadores da minha busca por conhecimento e crescimento profissional, meu eterno agradecimento.

Agradeço ao meu fiel companheiro João Bosco e ao meu filho Thiago pelo amor incondicional, compreensão e presenças constantes em minha vida.

Agradeço aos meus irmãos e sobrinhos, âncoras da minha vida e espelhos para minhas decisões.

À minha orientadora Renata, que através de sua capacidade, conhecimento, disciplina e amizade, soube me conduzir com maestria na realização deste trabalho: serei eternamente grata à você.

Aos professores membros da banca agradeço as críticas e sugestões para engrandecimento deste trabalho.

Agradeço também aos meus amigos, escolhidos por Deus e sabiamente acolhidos por mim, pelo simples fato de existirem.

Meu muitíssimo obrigado a todos os funcionários do Barbosa & Marques S/A que direta ou indiretamente participaram deste trabalho: desde a Diretoria, pela oportunidade de qualificação, e todos os funcionários da fábrica de queijo e analistas do laboratório pela dedicação e profissionalismo com que realizaram suas tarefas.

Agradeço à Sacco do Brasil pelo apoio material ao projeto.

RESUMO

O queijo Prato, além de sua popularidade, é um produto muito comercial e tem sido objeto de várias pesquisas na tentativa de melhorar seu rendimento de fabricação. O objetivo principal deste trabalho foi avaliar o efeito do uso de culturas produtoras de exopolissacarídeos, sob a forma capsular, nas características físico-químicas, sensoriais e nas propriedades funcionais e de rendimento de fabricação do queijo Prato. O experimento consistiu na fabricação industrial de queijo Prato com culturas lácteas comerciais de adição direta com produção de EPS em comparação a uma cultura comercial, também de adição direta, porém, sem produção de EPS, que é tradicionalmente utilizada na fabricação de queijo Prato em diversas indústrias. Os queijos foram avaliados sob aspectos físicos, químico, físico-químicos, sensoriais, de rendimento e propriedades de derretimento em quatro tempos de estocagem – 30, 60, 90 e 120 dias e em 5 repetições. Foi possível concluir que a utilização de culturas produtoras de EPS pode alterar significativamente o conteúdo de proteínas dos queijos, sem alterar os demais constituintes; e os queijos produzidos com culturas produtoras de EPS apresentam melhor rendimento econômico (L/kg), podendo gerar impacto comercial significativo, sem alteração de suas características típicas de identidade e qualidade.

Palavras-chave: Umidade. Rendimento. Derretimento. Laticínios. Tecnologia de queijos.

ABSTRACT

The “Prato” type cheese besides its popularity is a very commercial and has been the subject of several studies to improve their yield. The main objective of this research was to evaluate the effect of using exopolysaccharide-producing cultures in capsule form, the physico-chemical characteristic, sensory, the functional properties and yield of “Prato” type cheese. The experiment consisted in the industrial manufacture of “Prato” type cheese with Lactic Acid Bacteria EPS-producing, direct addition compared to a commercial culture, also added directly, without production of EPS, traditionally used in the manufacture of “Prato” type cheese in various industries. The cheeses were evaluated by physical, chemical, physicochemical, sensorial, yield and melting properties in four different times of storage – 30, 60, 90 and 120 days. It was concluded that the use of EPS-producing cultures significantly alter the protein content of cheese, without alter other constituents, and the cheese made with EPS positive culture showed better economic yield, can generate significant business impact, keeping the typical characteristics of identity and quality.

Keywords: Moisture. Yield. Melting. Dairy. Cheese technology.

SUMÁRIO

1. Introdução.....	8
2. Revisão de literatura.....	10
2.1 Queijo Prato.....	10
2.2 Mercado brasileiro.....	12
2.3 Maturação de queijos.....	12
2.4 Rendimento da fabricação.....	15
2.5 O papel das culturas lácticas.....	17
2.6 Produção de exopolissacarídeos por bactérias lácticas.....	20
2.7 Alegação de benefícios fisiológicos.....	23
2.8 Efeito da produção de EPS na estrutura do queijo.....	24
3. Objetivos.....	29
3.1 Geral.....	29
3.2 Específicos.....	29
4. Material e métodos.....	30
4.1 Localização.....	30
4.2 Desenho experimental do projeto.....	30
4.3 Culturas.....	31
4.4 Leite.....	31
4.5 Fabricação do queijo.....	32
4.6 Determinações analíticas.....	34
4.6.1 Análises físicas, químicas e físico-químicas do leite.....	35
4.6.2 Análises físicas, químicas e físico-químicas do soro.....	35
4.6.3 Amostras dos queijos durante a estocagem.....	36
4.6.4 Análises dos queijos dois dias após a fabricação.....	36
4.6.5 Rendimento de fabricação.....	37
4.6.6 Análises dos queijos após maturação de 30 dias.....	38
4.6.7 Análises físicas, químicas e físico-químicas durante a estocagem refrigerada dos queijos.....	38
4.6.8 Análise sensorial.....	38
4.6.9 Avaliação da capacidade de derretimento do queijo Prato.....	39
4.6.10. Avaliação do fatiamento do queijo Prato.....	40

5. Resultados e discussão.....	42
5.1 Análises físicas, químicas e físico químicas dos leites cru e pasteurizado e do soro	42
5.1.1 Análises físicas, químicas e físico químicas do leite cru.....	42
5.1.2 Análises físicas, químicas e físico químicas do leite pasteurizado.....	43
5.1.3 Análises físicas, químicas e físico-químicas do soro coletado 10 minutos após o corte da coalhada.....	44
5.2 Rendimento de fabricação.....	45
5.2.1 Rendimento econômico.....	46
5.2.2 Produção ajustada.....	47
5.2.3 Coeficiente G/L.....	49
5.2.4 Rendimentos técnicos.....	50
5.3 Análises físicas, químicas e físico-químicas dos queijos Prato.....	52
5.3.1 Composição centesimal.....	52
5.3.2 pH dos queijos.....	54
5.3.3 Extensão da proteólise.....	55
5.3.4 Profundidade da proteólise.....	57
5.3.5 Derretimento.....	59
5.3.6 Fatiamento.....	61
5.4 Análise sensorial dos queijos de Prato – teste de aceitação.....	62
6. Conclusões.....	64
Considerações finais.....	65
Referências bibliográficas.....	66

1. Introdução

O queijo Prato é um dos mais populares do Brasil e é fabricado em todas as regiões brasileiras. Foi introduzido na região sul de Minas Gerais, na década de 1920, por imigrantes dinamarqueses, com produção e crescimento expressivos quando comparado ao total de queijos produzidos no Brasil.

A denominação Prato compreende outras variedades, que se diferenciam basicamente quanto ao formato e peso. Possui sabor e aroma suaves, coloração amarelo ouro, consistência macia podendo apresentar textura fechada ou pequenas olhaduras lisas e brilhantes. Normalmente é consumido na sua forma original, mas é também utilizado em pizzas, sanduíches e alimentos preparados.

Por se tratar de um queijo muito comercial, o Prato é constante objeto de pesquisas para aumento do rendimento de fabricação dentre outros aspectos avaliados. Dentre as culturas utilizadas na fabricação de queijos, algumas cepas de bactérias produtoras de ácido láctico são capazes de sintetizar exopolissacarídeos ou extracelulares polissacarídeos (EPS), que são polissacarídeos secretados fora da parede celular dos microrganismos. Essas cepas de bactérias sintetizam EPS que são secretados em seu ambiente, como por exemplo, no leite.

Exopolissacarídeos ou extracelulares polissacarídeos (EPS) são polissacarídeos secretados fora da parede celular dos microrganismos. Algumas cepas de bactérias produtoras de ácido láctico são capazes de sintetizar EPS que são secretadas em seu ambiente, como por exemplo, no leite.

A maioria dos estudos que envolvem o uso de bactérias produtoras de EPS em produtos lácticos foi realizada em iogurte, no qual várias vantagens foram obtidas, tais como, aumento na viscosidade e diminuição da sinérese do produto. Esta prática é particularmente utilizada em países onde o uso de estabilizantes é proibido. Por outro lado, nos trabalhos realizados com queijos, verifica-se o uso de culturas produtoras de EPS para queijos com baixo teor de gordura, que se caracterizam quase sempre por sabor mais fraco e consistência firme, muito diferente dos produtos tradicionais.

O EPS tem a propriedade de se unir a água, aumentar a umidade na porção gordurosa, interferir na interação proteína-proteína, reduzir a rigidez da rede proteica e aumentar a viscosidade do soro. Em consequência, espera-se um aumento no

rendimento da fabricação de queijos, e na Mussarela em particular, uma melhoria nas propriedades de derretimento.

A literatura ainda não relata uso de EPS na fabricação de queijos e por isso, este estudo avaliou o efeito do uso de culturas produtoras de exopolissacarídeos, na forma capsular, nas características físico-químicas, nas propriedades de derretimento e sensoriais do queijo Prato, e também rendimento de fabricação.

2. Revisão de literatura

2.1 Queijo Prato

As origens do queijo Prato remontam aos queijos Danbo dinamarquês e Gouda holandês. No Brasil sua tecnologia foi adaptada às condições locais, o que explica as diferenças de sabor e textura em relação aos queijos que lhe deram origem, podendo ser encontrado tanto com olhaduras regulares ou irregulares, ou completamente fechado (FURTADO & LOURENÇO NETO, 1994).

A denominação Prato compreende ainda outras variedades, tais como o lanche ou *sandwich*, de forma retangular, o cobocó, de forma cilíndrica e o esférico ou bola (ALBUQUERQUE, 2002).

O queijo Prato possui um Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, apresentado pela Portaria nº 358, de 04 de setembro de 1997 (BRASIL, 1997) que o define como queijo maturado por, pelo menos, 25 dias, obtido pela coagulação do leite por meio do coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não pela ação de bactérias lácticas específicas. Algumas características e suas possíveis variações conforme a legislação citada são apresentadas na Tabela 1.

TABELA 1: Características do queijo Prato conforme Portaria nº 358, de 04 de setembro de 1997 (BRASIL, 1997).

Características	Classificação	Faixa de variação
Teor de umidade	Média	36,0 a 45,9% (m/m)
Teor de gordura no extrato seco (GES)	Gordo	46,0 a 59,9% (m/m)
Cozimento da massa	Semi cozida	< 45,0°C

Conforme o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Queijo Prato, este produto deve apresentar “consistência semi-dura, elástica, textura compacta, lisa, fechada, com alguns olhos pequenos arredondados e/ou algumas olhaduras mecânicas, cor amarelado ou amarelo-palha, sabor e odor característicos. Não apresenta crosta, ou crosta fina, lisa, sem trincas”. Apresenta como etapas distintas do processo de elaboração de queijos: obtenção de uma massa semicozida, com remoção parcial do soro, lavagem por adição de água quente, pré prensagem, moldagem sob soro, prensagem, salga e maturação (BRASIL, 1997).

O queijo Prato é consumido tanto de forma direta como indireta. Atualmente, devido à sua utilização no preparo de pizzas, sanduíches quentes e outros alimentos preparados, o bom derretimento tornou-se uma propriedade importante na determinação da qualidade do queijo Prato (NONOGAKI et al., 2007). Propriedade de derretimento é definida como a capacidade das partículas do queijo fluírem e formar uma fase uniformemente derretida, que é direcionada inicialmente pela evaporação da água e fluidificação da gordura (WANG & SUN, 2001).

As propriedades de derretimento do queijo são controladas pela sua composição química no momento do aquecimento. Envolve parâmetros como teor proteico, gordura, umidade, sal e pH, além de outros, como teor de cálcio, hidrólise proteica e principalmente a extensão da hidratação da proteína, ou seja, a capacidade de retenção de água da matriz caseínica, que varia com o avanço da maturação (GUINEE et al., 2000; McMAHON & OBERG, 1998).

Os fatores que interferem no derretimento são: a) teor de gordura presente no queijo, quanto maior for este, maior será o derretimento no momento do aquecimento; b) pH, quanto mais alto, menor desmineralização e, portanto menor derretimento devido à maior estruturação da malha proteica; c) proteólise da massa, queijos mais úmidos tendem a apresentar proteólise mais acelerada e, portanto derretem mais (FURTADO, 1997). Quanto mais elevado o teor de NaCl do queijo, menor será o derretimento da massa uma vez que a multiplicação microbiana fica limitada e conseqüentemente a proteólise é inibida, além da menor quantidade de água disponível para essa reação (FURTADO, 2005).

2.2 Mercado brasileiro

Para Sanchez (2000) o queijo Prato é um produto com grande expressão comercial no Brasil, bem padronizado tecnologicamente e melhor caracterizado comercialmente.

O queijo Prato e suas variedades correspondem cerca de 20% do total de queijos produzidos no Brasil, considerando-se apenas a produção formal dos estabelecimentos registrados no Serviço de Inspeção Federal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, pois não há dados oficiais de produção total de queijos disponíveis, devido à configuração do mercado produtor (ABIQ, 2011).

Segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Queijos (2011) houve um crescimento de aproximadamente 8% da produção de queijo Prato de 2010 em relação a 2009, o que contribuiu expressivamente para o desenvolvimento do mercado lácteo no país. Os dados da produção nacional de queijo Prato em relação à produção total são apresentados na Tabela 2.

TABELA 2: Produção em toneladas de queijo Prato e do total de queijos produzido no Brasil nos últimos anos (ABIQ, 2011).

Produto	2006	2007	2008	2009	2010
Prato	120.000	126.000	133.000	141.000	152.300
Total geral	596.234	633.262	668.822	721.411	801.440

2.3 Maturação de queijos

Durante a maturação ocorre a hidrólise das caseínas do queijo resultante da atividade de várias enzimas. Os principais contribuintes são o coalho, proteases e peptidases do fermento láctico e/ou microbiota secundária e enzimas naturais do leite (FOX & LAW, 1991). Durante a proteólise ocorre uma fragilização da rede proteica do queijo (LAWRENCE et al., 1987) aumentando a capacidade de derretimento do

mesmo (TUNICK et al., 1993). Essa propriedade é importante para o queijo Prato, uma vez que a aceitabilidade do consumidor a este produto está relacionada com características físico-químicas, sensoriais e funcionais adequadas (SANCHEZ, 2000).

Segundo Lawrence et al. (1987) a atividade proteolítica em queijos é principalmente determinada pelos níveis de coalho residual e enzimas nativas do leite, pela relação percentual de sal na umidade, pela temperatura de maturação, tipo de coagulante usado e mudanças no pH durante a maturação. No caso da relação sal na umidade, quanto maior este valor, menor é a proteólise da massa.

Os três principais processos bioquímicos que ocorrem com a maturação são: metabolismo da lactose, lactato e citrato, lipólise e proteólise. Estas alterações primárias são seguidas e sobrepostas por muitas mudanças catabólicas secundárias incluindo desaminação, transaminação, descarboxilação e dessulfurilação de aminoácidos, β oxidação de ácidos graxos e até mesmo alterações químicas puramente sintéticas, por exemplo, a formação de tioésteres. As reações primárias são as principais responsáveis pelas mudanças texturais básicas e também pelo sabor característico dos queijos. Entretanto, as transformações secundárias são as principais responsáveis pelos aspectos mais sutis de sabor e de alteração da textura dos queijos (McSWEENEY & FOX, 2009).

Em alimentos em geral, as gorduras sofrem degradação oxidativa e hidrolítica. No entanto, conforme Fox e McSweeney (2006), uma vez que o potencial de oxi-redução dos queijos é baixa (cerca de 250 mV), e a gordura do leite contém níveis baixos de ácidos graxos poliinsaturados, a oxidação lipídica não ocorre de forma significativa no queijo durante a maturação. Entretanto a liberação de ácidos graxos livres pela ação de lípases (lipólise) é um evento bioquímico importante. As lípases no queijo originam a partir de seis possíveis fontes: leite, renina do coagulante, cultura *starter*, culturas secundárias, bactérias ácido láctica não *starter* (LAB), adições exógenas.

A proteólise também é um evento importante na maturação dos queijos; o sistema proteolítico da cultura primária e da microbiota secundária contribui para a produção de centena de componentes de sabor por meio da produção de peptídeos de baixa massa molecular e aminoácidos e seus catabolismos subsequentes (FOX et al., 2004).

Entre os compostos isolados de queijos maturados, incluem-se: peptídeos, aminoácidos, aminas, ácidos, tióis, tioésteres, ácidos graxos, metil-cetonas, lactonas, ácidos orgânicos, dióxido de carbono e álcoois. Estes compostos são responsáveis por características de *flavor* dos queijos (FOX & LAW, 1991). As proteínas são hidrolisadas em vários sítios durante a maturação, e a perda da estrutura proteica original altera as propriedades reológicas dos queijos (GRAPPIN et al., 1985).

Os principais agentes envolvidos na proteólise durante a maturação dos queijos são: enzimas coagulantes, enzimas naturais do leite, enzimas de bactérias lácticas utilizadas como fermento, enzimas de fermentos não lácticos (bactérias propiônicas, mofo e leveduras) e enzimas de bactérias não utilizadas como fermento, mas que ocorrem nos queijos por resistirem à pasteurização ou como contaminantes durante a fabricação (FOX & LAW, 1991). Todos estes agentes têm ação proteolítica sinérgica sobre as caseínas, e o processo pode ser considerado como uma hidrólise em cadeia (DESMAZEAUD & GRIPON, 1977; FOX & LAW, 1991).

Venema et al. (1996) definiram grau de maturação como sendo a extensão da degradação proteica em um queijo produzido e estocado sobre condições definidas. Os mesmos autores concluíram que a avaliação sensorial, mesmo quando realizada por um painel de julgadores treinados, oferece resultados menos confiáveis do que as análises químicas, daí a importância de se determinar os índices de maturação.

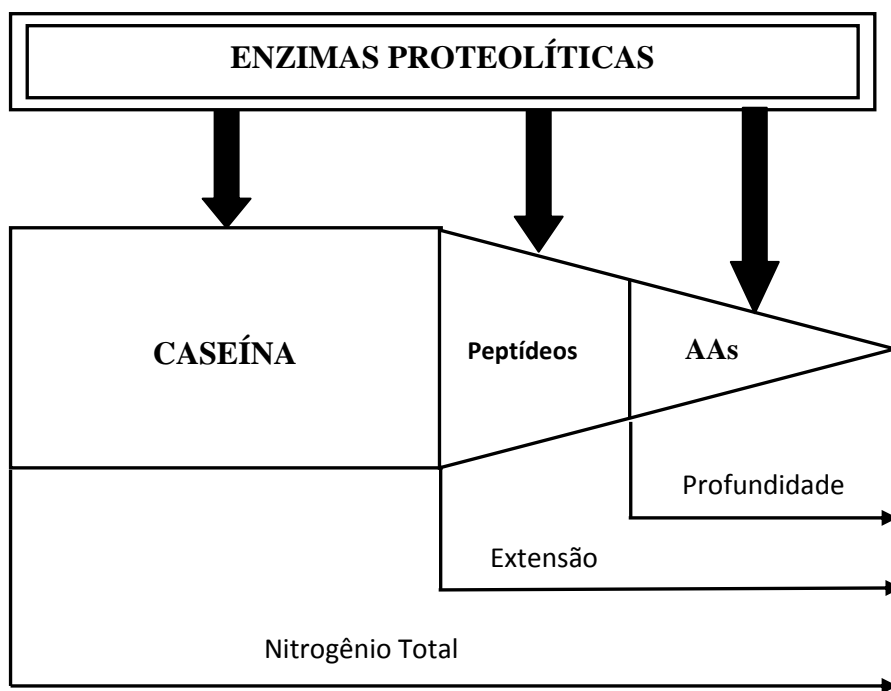
A proteólise de um queijo pode ser medida em termos de extensão e profundidade. A extensão da proteólise está relacionada com a hidrólise do paracaseinato de cálcio ao longo do tempo, principalmente devido à ação de quimosina residual, cuja atividade é influenciada pelo pH e conseqüentemente pela acidez. Este parâmetro é encontrado pela razão entre os percentuais de nitrogênio solúvel em pH 4,6 e nitrogênio total (WOLFSCHOON-POMBO & LIMA, 1989). A proteólise faz com que a textura do queijo fique mais macia devido à hidrólise da matriz caseínica e também pelo decréscimo da atividade de água devido às mudanças nas ligações com a água provocadas pelos novos grupos carboxílicos e amínicos gerados na hidrólise (McSWEENEY, 2004).

A profundidade da proteólise é dada pelo quociente entre os percentuais de nitrogênio solúvel em ácido tricloroacético a 12 % (m/v) e nitrogênio total do queijo. Este parâmetro demonstra o quanto do nitrogênio total está presente principalmente

na forma de peptídeos de baixa massa molecular e aminoácidos livres. Essa proteólise pode ser realizada principalmente por bactérias do fermento e contaminantes, e interfere de forma importante no sabor do queijo ao final de sua maturação (WOLFSCHOON-POMBO & LIMA, 1989).

Na Figura 1 são apresentados os conceitos de extensão e profundidade da proteólise em suas formas aplicáveis da proteólise das caseínas.

FIGURA 1: Conceitos da extensão e profundidade da proteólise em suas formas aplicáveis da proteólise das caseínas, segundo Wolfschoon-Pombo & Lima, (1989).



AAS- aminoácidos

Fonte: Wolfschoon-Pombo & Lima (1989)

2.4 Rendimento da fabricação

Um dos parâmetros que influenciam diretamente na viabilidade econômica de uma fabricação de queijos é o rendimento, ou seja, a quantidade máxima de queijos que se pode fabricar com um volume determinado de leite. (FURTADO, 2005).

Fox et al. (2000) estabelecem que, da mesma forma que a composição dos queijos varia com o seu tipo, uma definição mais precisa de rendimento de queijo seria “quilogramas do tipo de queijo por 100 quilogramas de leite contendo níveis específicos de gorduras e proteína (ou preferencialmente caseínas)”.

A composição do queijo é um dos principais fatores diretos que afetam o rendimento da fabricação, sendo o teor de umidade, o parâmetro de influência mais expressiva. Naturalmente, quanto maior o teor de água de um queijo, melhor será o rendimento da respectiva fabricação. Entretanto, a elevação do teor de umidade é limitada por alterações paralelas que podem ocorrer no produto, como uma aceleração do processo de maturação que implica numa redução da vida útil do queijo; em alterações de consistência que dificultam o fatiamento, dentre outros problemas. Deste modo, procura-se sempre manter um teor de umidade compatível com as características funcionais e sensoriais desejadas num determinado queijo (FURTADO, 1991).

Posthumus et al. em 1964 (apud FOX & LAW, 1991) foram os primeiros a enfatizar a importância do cálcio e do fosfato na produção de queijos. O fosfato de cálcio no complexo paracaseína constitui uma parte significativa do queijo. Estima-se no queijo Cheddar corresponder a 1,61% (m/m) e no queijo Gouda, 1,86% (m/m). Segundo Emmons (1990), cálcio e fosfato se dissociam da micela quando o pH é reduzido. Portanto, para as variedades de queijo feitas com maior pH, espera-se ter maior quantidade de fosfato de cálcio. Isto sugere que o aumento do rendimento devido à retenção de fosfato de cálcio no queijo pode ser resultante da adição de cloreto de cálcio, sais de fosfato ou uso de fermento concentrado que resultam na coagulação do leite em pH mais alto.

Fox et. al (2000) também destacam como fatores responsáveis pela variação no rendimento de queijos, o processo de fabricação, o tipo de equipamento e o número de operações em que pode haver perda de umidade, gordura e proteínas. Por exemplo, a salga em salmoura provoca uma redução de peso pela umidade perdida de cerca de o dobro do sal absorvido. Além disto, outros constituintes como materiais nitrogenados solúveis, cálcio e gordura podem ser perdidos em maior ou menor grau, dependendo da temperatura e duração da salga.

Alguns autores citam que, em decorrência de proteólise não específica em níveis elevados, pode ocorrer diminuição do rendimento do queijo, bem como alteração em suas propriedades reológicas e sensoriais. A diminuição do rendimento

seria reflexo da perda de substâncias nitrogenadas e gordura para o soro. (USTUNOL & HICKS, 1990; EMMONS, 1990; LÓPEZ et al., 1997).

Como mencionado por Spadoti et al. (2003), durante o processo de fabricação do queijo Prato ocorre uma diluição de sua fase aquosa acompanhada de aquecimento moderado dos grãos da coalhada. Essa operação é importante para a obtenção das propriedades sensoriais do produto final, uma vez que a adição de água quente e a retirada parcial do soro alteram consideravelmente o teor de lactose nos grãos da coalhada, resultando em um queijo com menor conteúdo de ácido láctico e pH mais elevado. Além disso, a lixiviação da massa promove uma perda dos compostos solúveis, que são retirados junto com o soro (GOUDÉDRANCHE et al., 1981). Portanto, qualquer processo que permita evitar tal perda deverá, sem dúvida, melhorar o balanço econômico da fabricação deste queijo (VAN DENDER et al., 1987).

Quando se fala em rendimento, normalmente se pensa na relação litros de leite por quilo de queijo, o chamado rendimento econômico. O rendimento em base úmida não indica exatamente o rendimento em substâncias do leite retidas no coágulo, visto que um alto teor de umidade pode determinar um alto rendimento úmido, não significando que o coágulo contenha uma alta concentração de matéria seca (VASCONCELOS et al., 2004). Segundo Furtado (2005) existem várias maneiras de se calcular o rendimento técnico de uma fabricação por meio da determinação do aproveitamento de componentes do leite no queijo, a partir de determinações físico-químicas.

2.5 O papel das culturas lácticas

A maioria dos queijos não podem ser fabricados sem o uso de certas espécies de bactérias produtoras de ácido láctico (LAB), também chamadas de culturas primárias ou “*starter*”, que produzem ácido láctico. Geralmente estas culturas são cuidadosamente selecionadas e deliberadamente adicionadas ao leite antes da fabricação. A maioria das espécies envolvidas incluem *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc sp.*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis*,

Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus e *Lactobacillus helveticus* (FOX et al., 2004).

Além da produção de ácido láctico a partir da lactose, que ocorre no início do processo de fabricação de queijos, muitas espécies produzem também compostos voláteis, por exemplo, diacetil a partir do citrato, que é um importante componente do flavor em queijos frescos e CO₂ a partir da lactose (espécies heterofermentativas) e citrato (espécies homo e heterofermentativas) que contribuem para a textura aberta de alguns queijos (FOX et al., 2004).

As culturas primárias são comumente divididas em culturas mesofílicas (com temperatura ótima em torno de 30°C) e termofílicas (com temperatura ótima em torno de 42°C). Cada grupo de primárias pode ser subdividido em culturas puras ou culturas mistas, com mistura de várias cepas (FOX et al., 2000). Algumas das importantes características distintas das bactérias encontradas nas culturas mistas são definidas e resumidas na Tabela 3.

TABELA 3: Algumas características distintivas das bactérias lácticas (adaptado de FOX et al., 2000).

Nome	Tipo	Forma	% ácido láctico produzido	Fermentação do citrato	Fermentação de açúcar	NH ₃ da arginina
<i>Streptococcus thermophilus</i>	T	cocos	0.6	-	homo	-
<i>Lactobacillus helveticus</i>	T	bastão	2.0	-	homo	-
<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	T	bastão	1.8	-	homo	±
<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis</i>	T	bastão	1.8	-	homo	±
<i>Lactococcus lactis subsp. cremoris</i>	M	cocos	0.8	±	homo	-
<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i>	M	cocos	0.8	±	homo	+
<i>Leuconostoc lactis</i>	M	cocos	< 0.5	+	hetero	-
<i>Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris</i>	M	cocos	0.2	+	hetero	-

Legenda: T = cultura termofílica; M = cultura mesofílica; NH₃ = amônia

A principal função da cultura láctica na fabricação de queijos é a produção de ácido láctico, a partir da fermentação da lactose, numa taxa previsível e confiável. A produção deste ácido desempenha várias funções na fabricação de queijos: controla ou impede o crescimento de bactérias deteriorantes e patogênicas; afeta a atividade do coagulante e a retenção deste na coalhada; solubiliza o fosfato de cálcio coloidal e, conseqüentemente afeta a textura do queijo; promove a sinérese e, portanto, influencia na composição do queijo; influencia na atividade enzimática durante a maturação. Além da produção de ácido, a cultura láctica promove uma redução do potencial de oxiredução e desempenha um papel essencial na bioquímica de maturação do queijo (FOX et al., 2004).

2.6 Produção de exopolissacarídeos por bactérias lácticas

Muitas cepas de bactérias lácticas produzem polissacarídeos extracelulares. Estes compostos podem ser produzidos como cápsulas que estão fortemente associados com a parede celular ou como uma substância viscosa solta (polissacarídeo viscoso) que é liberado para o meio. O termo exopolissacarídeo (EPS) pode ser usado para ambos os tipos de polissacarídeos externos (SUTHERLAND, 1972).

Uma das maiores fontes de confusão na literatura é que os termos “viscoso” e “produtores de EPS” são usados alternadamente. Porém, algumas cepas não produtoras de viscosidade produzem quantidades significativas de EPS (HASSAN, 2008).

Hassan et al. (2003), baseados na forma de EPS produzido, classificaram as bactérias lácticas nos seguintes grupos:

- 1) grupo I: cepas produtoras de cápsulas e viscosidade, que produzem cápsulas e EPS viscoso livre;
- 2) grupo II: cepas produtoras de cápsulas sem viscosidade, que produzem cápsulas e possivelmente EPS livre (nem todos os EPS soltos são viscosos);
- 3) grupo III: cepas não produtoras de cápsulas, mas viscosas;
- 4) grupo IV: cepas produtoras de EPS não detectados.

Análises químicas mostram que o EPS produzido por bactérias lácticas pode ser composto de um tipo de monômero de açúcar (homopolissacarídeo) ou ser constituído por vários tipos de monômeros (heteropolissacarídeos). Homopolissacarídeos como dextrana são produzidos por microorganismo tais como *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* enquanto que heteropolissacarídeos extracelulares são sintetizados por várias espécies de bactérias lácticas incluindo *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* (CERNING, 1995).

Fatores que afetam a produção de exopolissacarídeos têm sido extensivamente estudados (DE VUYST et al., 1998; GAMAR-NOURANI et al., 1998; GROBBEN et al., 2000; GORRET et al., 2001; ZISU & SHAH, 2003). Os resultados sugerem que cepas EPS-positivas produzem alguma quantidade de EPS sob qualquer condição de crescimento. No entanto, a quantidade, e em alguns casos, a estrutura do EPS dependerá do meio de crescimento e condições (pH, temperatura, aeração entre outros). O leite é o meio preferido para a produção de cápsulas por bactérias lácticas que não produzem limo (HASSAN et al., 1995).

Cerning (1995) descobriu que certas espécies de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, quando cultivados em leite desnatado, produzem exopolissacarídeos que são compostos principalmente de monômeros de glicose e galactose. Hassan et al. (2001) também descobriram que algumas cepas de *Streptococcus thermophilus* produzem cápsulas quando crescem em meio com galactose como único açúcar, indicando que *Streptococcus thermophilus* pode usar a galactose para formar cápsulas. Mozzi et al. (1995) descobriram uma cepa de *Lactobacillus casei* produtora de cápsulas maiores na presença de galactose. O uso de galactose para produção de EPS pode ser de importância tecnológica devido à inibição do crescimento de bactérias lácticas heterofermentativas indesejáveis e formação de pouco escurecimento do queijo Mussarela pela redução do nível de açúcar redutor. (HASSAN et al., 2001).

Alguns autores sugerem que o aumento da produção de EPS pode estar ligado a fontes de carbono e nitrogênio adicionadas. A suplementação com glicose e sacarose em leite e em leite ultrafiltrado estimula a produção de EPS por *Lactobacillus casei* e modifica a composição do polímero produzido, a glicose torna-se o açúcar dominante em sua estrutura. Por outro lado há controvérsias para o

aumento de EPS e crescimento quando caseína hidrolisada é adicionada (DE VUYST & DEGEEST, 1999).

Com relação à temperatura, condições sub ótimas para o crescimento bacteriano foram frequentemente relatadas como favoráveis para a síntese de EPS. Para *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, a temperatura ótima para a produção de EPS foi próxima a temperatura ótima para o crescimento (DUBOC & MOLLET, 2001).

A gelificação do leite é um passo importante na fabricação de queijos e leites fermentados. Durante a gelificação, as micelas de caseínas se agregam e formam uma rede tridimensional que, ao microscópio, parece uma “esponja” emaranhada de leite, soro e gordura. Os fatores que afetam a estrutura e microestrutura do coágulo do leite fermentado determinam as características finais do produto. A gelificação do leite inicia-se em pH abaixo de 5,5. Com a redução do pH de 6,6 para 5,5 algumas cepas de bactérias lácticas produzem quantidade suficiente de EPS para afetar a estrutura (HASSAN et. al., 1995). O EPS pode afetar a formação da estrutura do gel das caseínas por preenchimento. Portanto, o efeito do EPS na matriz da proteína e formação da estrutura depende da sua concentração, interação com as proteínas, e características molecular e reológica. A produção de EPS é quase sempre reforçada pelo crescimento em baixas temperaturas de incubação (CERNING, 1995; MOZZI et al., 1995), e pode também ser favorecido por pH neutro ou por uma alta relação carbono:nitrogênio no meio de crescimento (SUTHERLAND, 1972; GANCEL & NOVEL, 1994). Embora a produção de EPS seja influenciada pelas condições de crescimento, a composição dos monossacarídeos da maioria dos EPS parece ser independente da fonte de carbono e energia utilizada para apoiar o crescimento bacteriano.

Os EPS capsulares são moléculas altamente hidratadas cuja composição de água é superior a 95% (ROBERTS, 1996). Parece então provável que a retenção de água na coalhada deva-se a sua presença.

Os exopolissacarídeos reduzem a interação entre os agregados de proteína resultando em menor elasticidade e firmeza. Com a redução na rigidez da rede proteica causada pelo EPS é esperada uma indução da sinérese (HASSAN et al., 1996, 2001). Parece que a estrutura aberta do iogurte produzido por cepas EPS-positivas aumenta a sinérese, enquanto que a habilidade do EPS unir ou cercar o soro é responsável pela alta capacidade de retenção de água no produto fermentado

final. O comportamento como polímero da fase soro no iogurte contendo EPS aumenta o índice de consistência e viscosidade do iogurte (HASSAN et al., 2003).

Fatores importantes que influenciam na função do EPS no iogurte são suas características moleculares (massa molecular, grau de ramificações, raio de revoluções, carga entre outros) e sua habilidade de interação com as proteínas do leite (complexo caseínas-soro proteínas no iogurte) (HASSAN, 2008).

2.7 Alegação de benefícios fisiológicos dos EPS

Além dos benefícios tecnológicos, certos EPS produzidos por bactérias lácticas possuem alegação de efeitos fisiológicos benéficos para o consumidor, e o desenvolvimento de alimentos funcionais é um mercado em expansão, trazendo benefícios econômicos e à saúde (RUAS-MADIEDO et al., 2002). Especula-se que o aumento da viscosidade em alimentos contendo EPS pode aumentar o tempo de residência do leite fermentado ingerido no trato gastrointestinal e, portanto, ser benéfico para uma colonização transitória de bactérias probióticas (GERMAN et al., 1999).

Outro exemplo de benefício para a saúde sugerido para alguns EPS é a geração de ácidos graxos de cadeia curta em consequência da degradação no intestino pela microbiota do cólon. Os ácidos graxos de cadeia curta fornecem energia para as células epiteliais e alguns têm a alegação de desempenhar um papel na prevenção do câncer do cólon. (CUMMINGS & ENGLYST, 1995; HARRIS & FERGUSON, 1993).

Determinados EPS produzidos pelas bactérias lácticas são também requeridos devido aos efeitos fisiológicos para o indivíduo, contribuindo na formação de agregados celulares bacterianos e no reconhecimento e adesão à superfície, facilitando a colonização em vários ecossistemas (DE VUYST & DEGEEST, 1999; DUBOC & MOLLET, 2001).

2.8 Efeito da produção de EPS na estrutura do queijo

O uso de bactérias produtoras de EPS na indústria de laticínios tem sido essencialmente limitado à produção de iogurte e leites fermentados, assim, poucas empresas tem usado cepas produtoras de viscosidade para melhorar textura e funcionalidade dos queijos (PRUSS & BAHRS, 1981; NAUTH & HAYASHI, 1995). Contudo, o interesse em culturas EPS-positivas para a fabricação de queijos tem sido limitado a encontrar EPS que normalmente se acumula no soro do leite aumentando sua viscosidade. Isto é indesejável porque reduz a eficiência do processo de membranas e atrasa os processos de concentração das proteínas do soro e secagem (BASTIAN, 1999).

Os atributos de consistência e textura são critérios importantes na determinação da identidade e qualidade de um queijo e na sua aceitação pelo consumidor. As propriedades de consistência e fatiamento de um queijo são em grande parte determinadas pela natureza e disposição de sua rede estrutural, que geralmente é descrita como uma matriz proteica contínua em que os glóbulos de gordura e o soro residual estão dispersos (USTUNOL et al., 1995).

Devido à excelente propriedade do EPS se unir a água e reter umidade é uma chave estratégica para melhorar a funcionalidade dos queijos de baixo teor de gordura (McMAHON & OBERG, 1998).

Embora a microestrutura e as propriedades reológicas de vários produtos lácteos contendo EPS têm sido extensivamente descritas (HASSAN et al., 1995; SKRIVER et al., 1995; BHASKARACHARYA & SHAH, 2000; HASSAN et al., 2002; FOLKENBERG et al., 2005, 2006), muito pouco se conhece sobre os mecanismos que geram as mudanças observadas na textura. Ainda não está claro como o EPS interage com as proteínas do leite. De fato, sabe-se que há um efeito sobre a textura, mas os detalhes da interação entre as proteínas e os polissacarídeos que podem gerar este efeito ainda não são compreendidos (AYALA-HERNANDEZ et al., 2008).

Espécies produtoras de EPS (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus*) foram testadas para a produção de queijo Mussarela com baixo teor de gordura para melhorar a retenção de umidade sem perder as típicas características sensoriais e reológicas (PERRY et

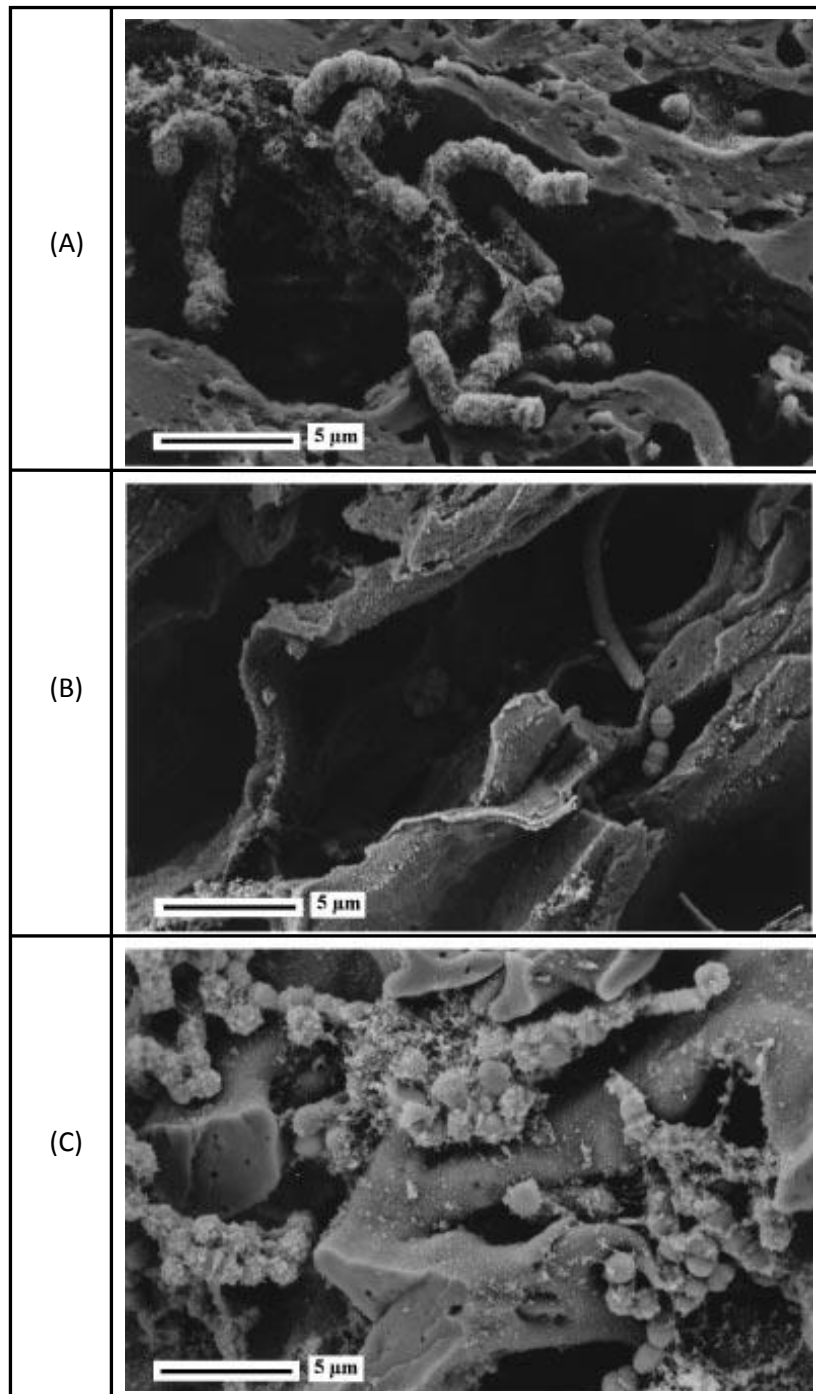
al., 1997, 1998; LOW et al., 1998; BHASKARACHARYA & SHAH, 2000; PETERSEN et al., 2000; BROADBENT et al., 2001). Além disto, a capacidade de algumas linhagens de *Streptococcus thermophilus* utilizarem a galactose produzida em cápsula pode reduzir o escurecimento da Mussarela durante o aquecimento devido à remoção da fonte de açúcar redutor. A microestrutura destes queijos apresenta uma estrutura porosa, onde os poros grandes são cheios de EPS (HASSAN et al., 2001).

Análise da microestrutura do queijo tem mostrado que, em Mussarela tradicional ou parcialmente desnatada, a gordura e uma grande quantidade de água estão localizadas dentro de canais que são formados pelos glóbulos quando a massa do queijo é aquecida e filada. Entretanto, em Mussarela com baixo teor de gordura, há poucos glóbulos para desestruturar a matriz proteica, resultando em menos espaço para retenção de água. Em consequência, o queijo tem uma textura borrachenta e necessita de mais calor para derretimento (LOW et al., 1998).

Merril et al. (1994) mostraram que os procedimentos que aumentam o teor de umidade em Mussarela com baixo teor de gordura melhoram o corpo, a textura e as propriedades funcionais do queijo. Além de melhorar a funcionalidade, o aumento no teor de umidade do queijo, mesmo que em torno de 1%, agrega uma importante vantagem econômica. Visto que EPS tem a capacidade de se unir a quantidade significativa de água, vários experimentos têm sido feito na produção de Mussarela com reduzido teor de gordura.

Uma matriz proteica compacta com poucos e pequenos poros é vista em queijos fabricados com culturas não produtoras de EPS. O EPS forma uma estrutura esponjosa em rede, camuflando a gordura do leite. A estrutura esponjosa da coalhada pode ser resultante de uma diminuição do domínio da matriz estrutural e aumento da retenção de água nos produtos com baixo teor de gordura (DE VUYST et al., 2003). A Figura 2 mostra micrografias eletrônicas de varredura de queijo Mussarela com baixo teor de gordura produzidos com culturas produtoras de EPS, culturas não produtoras de EPS e uso de culturas principais produtoras de EPS com cultura adjunta EPS positiva.

FIGURA 2: Micrografia eletrônica de varredura de queijo Mussarela com baixo teor de gordura. (A) produzido com culturas produtoras de EPS (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*); (B) produzido com culturas não produtoras de EPS (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus helveticus*); e (C) produzido com culturas EPS positivas (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*) e uma cultura adjunta também produtora de EPS (*Lactococcus lactis* ssp. *lactis* e *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*).



Fonte: PERRY et al., 1997

O uso de culturas produtoras de EPS capsular na fabricação de queijos facilita a formação de canais de soro. A presença de polissacarídeos em torno da célula bacteriana atua como uma ponte entre as fibras na matriz proteica, bloqueando a coesão entre as proteínas e formando uma cavidade de soro. Esta maior abertura da microestrutura do queijo explica a maior eficiência da cultura produtora de EPS reter a umidade no queijo. Além disto, a cápsula de polissacarídeo que se forma em torno da bactéria produtora de EPS produz mais colunas contendo soro e gordura (PERRY et al., 1997), o que leva a maior retenção de umidade e melhoria nas propriedades de derretimento do queijo.

Perry et al. (1997) demonstraram um aumento de 4% no teor de umidade do queijo Mussarela com baixo teor de gordura, produzido com cultura produtora de EPS em conjunto com uma cultura tradicional e o uso de cultura EPS-positiva sozinha resultou num aumento de 3% no teor de umidade quando comparados com o queijo controle. O derretimento também melhorou nos queijos com maior teor de umidade.

Com o objetivo de avaliar a melhoria na funcionalidade dos queijos com baixo teor de gordura quando fabricados com culturas produtoras de EPS, Broadbent et al. (2001) observaram que, quando utilizaram cultura produtora de EPS na forma capsular, além do aumento do teor de umidade e melhoria no derretimento do queijo Mussarela, não houve alteração na viscosidade do soro obtido.

A produção de outros queijos com redução no teor de gordura também pode ser beneficiada com o uso de culturas produtoras de EPS, como o caso do Feta com baixa quantidade de gordura (DE VUYST et al., 2003). Usando microscopia laser confocal, Hassan et al. (2002) observaram que o queijo Feta produzido com cultura EPS positiva, continha agregados de caseínas maiores do que aqueles feitos com culturas não produtoras de exopolissacarídeos, e que o EPS formava lâminas grossas de enchimento dos poros da rede proteica.

É importante mencionar que a utilização de culturas produtoras de EPS para a produção de queijos com baixo teor de gordura implica na permanência do EPS na matriz do queijo, ou seja, não é removido com o soro durante o processo de fabricação (DE VUYST et al., 2003). Por este ponto de vista, cepas produtoras de EPS encapsulado podem ser usadas para aumentar o teor de umidade dos queijos e melhorar a propriedade de derretimento da Mussarela, sem afetar negativamente a

viscosidade do soro e, portanto, sem alterar as propriedades e processamento do soro (PETERSEN et al., 2000).

Dabour et al. (2006) avaliaram o efeito de culturas de *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* produtoras de EPS na forma capsular e como substância solta na textura e atributos micro-estruturais durante a maturação de queijo Cheddar com teor de gordura reduzido em 50% e também obtiveram resultados significantes no aumento da umidade e do rendimento. Além disto, observaram melhoria na firmeza e elasticidade após seis meses de maturação.

Guzmán et al. (2009) confirmaram uma maior retenção de umidade com o uso de uma cultura de *Streptococcus thermophilus* produtora de exopolissacarídeo na fabricação do queijo mexicano Panela, o que também refletiu em maior rendimento dos queijos obtidos.

Outra consequência no uso de culturas produtoras de EPS é o aumento do número de bactérias no queijo. Presumivelmente, a natureza adesiva do exopolissacarídeo aumenta a retenção de células bacterianas na coalhada do queijo durante a drenagem do soro (PERRY et al., 1997).

3. Objetivos

3.1 Geral

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar o efeito do uso de culturas produtoras de exopolissacarídeos na forma capsular, nas características físico-químicas, sensoriais e nas propriedades de derretimento e de rendimento de fabricação do queijo Prato.

3.2 Específicos

- I. Avaliar os efeitos tecnológicos da fabricação de queijo Prato utilizando culturas lácteas comerciais produtoras de exopolissacarídeos na forma capsular;
- II. Identificar e caracterizar aspectos da composição física, química e físico-química do queijo Prato produzido com estas culturas;
- III. Avaliar as propriedades tecnológicas de derretimento, fatiabilidade e comparar os índices de proteólise dos queijos obtidos ao longo do período de armazenamento em câmara refrigerada;
- IV. Avaliar aspectos inerentes ao rendimento de fabricação e;
- V. Avaliar aspectos sensoriais por meio da aceitação do produto.

4. Material e métodos

4.1 Localização

O experimento e as análises físico químicas do produto foram realizados em escala industrial na usina de beneficiamento da Barbosa & Marques S/A em Governador Valadares, MG. As análises sensoriais foram conduzidas no Instituto de Laticínios Cândido Tostes da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, em Juiz de Fora, MG.

4.2 Desenho experimental do projeto

O tratamento estatístico utilizado foi parcelas subdivididas no tempo, composto por dois tratamentos (cultura produtora de exopolissacarídeo e cultura não produtora de exopolissacarídeo), quatro tempos de estocagem refrigerada (30, 60, 90 e 120 dias após a fabricação) e cinco repetições (fabricações).

Foi utilizado o mesmo leite na fabricação dos dois tratamentos, previamente submetido às determinações analíticas de pH, acidez titulável, densidade a 15°C e teores de gordura e proteínas totais (BRASIL, 2006). Os soros obtidos nos cortes das massas dos dois tratamentos foram submetidos às análises físico-químicas.

Os queijos foram embalados 48 horas após a produção. Ambos os tratamentos foram pesados separadamente e os resultados obtidos foram utilizados para determinação dos rendimentos empírico e técnico (FURTADO, 2005).

Após o período de maturação de 30 dias os queijos obtidos de ambos os tratamentos foram submetidos às análises físico-químicas, derretimento, fatiamento e teste de aceitação, conforme detalhado posteriormente. Todos os tratamentos e repetições foram mantidos, após a maturação, em câmaras frias com temperatura controlada para 11° a 13°C, simulando as condições de estocagem nos supermercados e submetidos novamente aos testes de fatiamento, derretimento e

índices de proteólise aos 60, 90 e 120 dias depois de fabricados, com o objetivo de determinar a durabilidade do produto.

Todos os dados foram tabulados em planilha eletrônica e posteriormente analisados estatisticamente por meio de programa apropriado MINITAB, versão 14 (STATISTICAL SOFTWARE. MINITAB INC., 2003).

4.3 Culturas

A cultura produtora de exopolissacarídeo utilizada na fabricação de queijo Prato foi composta de dois tipos de culturas lácticas liofilizadas, de inoculação direta no tanque de fabricação, uma composta de cepas de *Lactococcus lactis* ssp *lactis* e *Lactococcus lactis* ssp *cremoris*, (Lyofast MO 242) e outra composta de *Streptococcus thermophilus* (Lyofast ST 4.40) (Grupo Clerici-Sacco), ambas produtoras de exopolissacarídeos na forma capsular. Essas foram utilizadas na dosagem de 20 Unitá Cento (UC) e 30 UC respectivamente para 12.500 litros de leite. Como controle, utilizou-se uma cultura tradicionalmente usada na fabricação de Queijo Prato, composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis* ssp *lactis* e/ou ssp *cremoris* (MOS 062 E) (Grupo Clerici-Sacco) , na dosagem de 50 UC para 12.500 litros de leite.

4.4 Leite

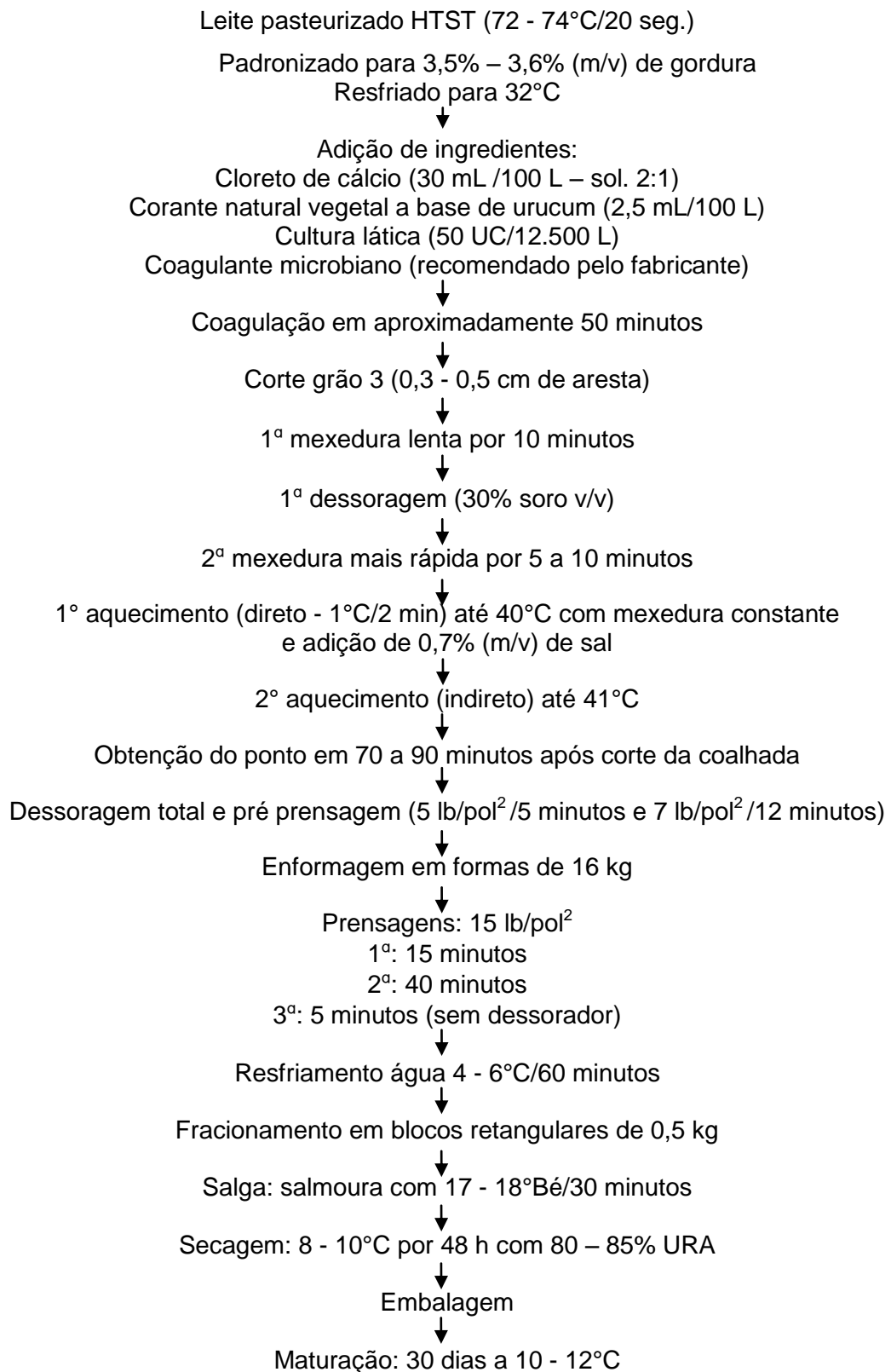
O leite utilizado nos dois tratamentos foi proveniente de um mesmo silo e analisado previamente quanto aos teores de gordura, proteína e extrato seco total além da determinação da densidade, índice crioscópico, acidez titulável e pH (BRASIL, 2006). Foi pasteurizado em pasteurizador a placas à 72° – 74°C por 15 segundos, padronizado para 3,5% – 3,6% (m/v) de gordura e enviado para o tanque da fabricação.

4.5 Fabricação do queijo Prato

O leite foi enviado para o tanque de fabricação a 32°C, adicionado de cloreto de cálcio (30 ml de uma solução 50% (m/v) ou 2:1 para cada 100 L de leite), corante natural vegetal a base de urucum (2,5 mL de solução a 0,7% para cada 100 L de leite), cultura láctica (50 UC para cada 12.500 L leite) e coagulante líquido microbiano, 100% quimosina, na dose recomendada pelo fabricante. Coagulação em 55 ± 5 minutos. Procedimento de corte, mexedura e aquecimento seguindo técnica específica para produção de queijo Prato (adaptado de FURTADO & LOURENÇO NETO, 1994), com adição de 0,7% de NaCl durante o primeiro aquecimento. Enformagem e prensagem em blocos de aproximadamente 16 kg que foram fracionados em pedaços de 500 g, em média, antes da salga, que ocorreu em salmoura com 18% a 19% de NaCl (m/m) por aproximadamente 30 minutos. Após 48 horas de secagem em câmara a 8° -10°C os queijos foram embalados em película termoencolhível à vácuo e enviados para câmara de maturação a 10° – 12°C onde permaneceram por 30 dias.

As fabricações dos queijos com e sem EPS foram realizadas segundo o fluxograma apresentado na Figura 3.

FIGURA 3: Fluxograma do processo de fabricação de queijo Prato adotado.



Fonte: adaptado de Furtado & Lourenço Neto (1994).

4.6 Determinações analíticas

A Tabela 4 apresenta resumidamente as análises e tempo de estocagem analisados para os tratamentos testados. O detalhamento será feito posteriormente.

TABELA 4: Resumo esquemático das análises realizadas no experimento

Tipo de Análises	Análises	Leite cru	Leite pasteurizado	Soro de leite	Queijos				
					Tempo fabricação (dias)				
					2	30	60	90	120
Físico químicas	Acidez titulável	X	X	X					
	Cloretos					X			
	Densidade à 15°C	X	X	X					
	Gordura	X	X	X		X			
	Proteína	X	X	X		X			
	Índice crioscópico	X							
	Nitrogênio total		X	X		X	X	X	X
	Nitrogênio não proteico		X	X					
	Nitrogênio solúvel pH 4,6					X	X	X	X
	Nitrogênio solúvel TCA 12%					X	X	X	X
	pH		X	X	X	X	X		
Umidade						X			
Sensorial	Aceitação					X			
Derretimento	Derretimento					X	X	X	X
Fatiamento	Fatiamento					X	X	X	X

Legenda: TCA = ácido tricloroacético a 12% (m/v)

Fonte: produção do próprio autor

4.6.1 Análises físicas, químicas e físico-químicas do leite

As análises e técnicas empregadas na avaliação do leite cru e posteriormente pasteurizado utilizado no experimento foram:

- *Acidez Titulável*: foi utilizado o método titrimétrico com solução de NaOH 0,1 mol/L, o resultado dado em % (m/v) de compostos de caráter ácido expressos como ácido láctico (BRASIL, 2006);
- *pH*: por meio de leitura em medidor de pH calibrado (BRASIL, 2006);
- *Teor percentual (m/v) de proteína verdadeira*: a partir da determinação dos teores de nitrogênio (NT) e nitrogênio dos compostos não proteicos (N-NMP), pelo método de Kjeldahl (PEREIRA et al., 2001). O fator utilizado de conversão de nitrogênio em proteína foi de 6,38;
- *Teor percentual (m/v) de gordura*: método butirométrico (BRASIL, 2006);
- *Densidade a 15 °C*: realizada em termolactodensímetro (BRASIL, 2006).

4.6.2 Análises físicas, químicas e físico-químicas do soro

As amostras dos soros foram coletadas 10 minutos após o corte da coalhada e foram analisadas quanto a:

- *Acidez Titulável*: foi utilizado o método titrimétrico com solução de NaOH 0,1 mol/L, o resultado dado em % (m/v) de compostos de caráter ácido expressos como ácido láctico (BRASIL, 2006);
- *pH*: por meio de leitura em medidor de pH calibrado (BRASIL, 2006);
- *Teor percentual (m/v) de proteína verdadeira*: a partir da determinação dos teores de nitrogênio total (NT) e nitrogênio dos compostos não proteicos (N-NPN), pelo método de Kjeldahl (PEREIRA et al., 2001). O fator utilizado de conversão de nitrogênio em proteína foi 6,38;
- *Teor percentual (m/v) de gordura*: método butirométrico (BRASIL, 2006);
- *Densidade a 15 °C*: realizada em termolactodensímetro (BRASIL, 2006).

4.6.3 Amostragem dos queijos durante a estocagem

Nos tempos de maturação e estocagem refrigerada (2, 30, 60, 90 e 120 dias de fabricação) foram coletados, aleatoriamente, 1 amostra de cada lote com 2 dias de fabricação para determinação do pH; 7 amostras de cada lote com 30 dias de fabricação (final de maturação), sendo 1 para análises físico-químicas, 1 derretimento, 1 para fatiamento e 4 para análise sensorial (teste de aceitação); 2 exemplares de cada lote nos tempos restantes, sendo, 1 para análises físico-químicas e 1 para derretimento e fatiamento. O processo de preparo de amostra foi realizado segundo Brasil (2006).

4.6.4 Rendimento da fabricação

Os resultados obtidos nas análises físicas, químicas e físico-químicas dos leites, soros e queijos e na pesagem dos mesmos após dois dias de fabricação foram utilizados para o cálculo de rendimento de fabricação, de acordo com as seguintes fórmulas (FURTADO, 2005):

- Litros de leite por quilo de queijo (L/kg) segundo a fórmula:

$$L/kg = \frac{\text{Litros de leite}}{\text{kg de queijo}}$$

- Coeficiente G/L de acordo com a fórmula:

$$\% GL = \frac{\text{sólidos totais do queijo}(\% \text{ m/m}) \times \text{kg de queijo} \times 10}{\text{volume de leite (L)}}$$

- Litros de leite por quilo de queijo ajustado (L/kg A), de acordo com a fórmula:

$$L/kg A = \frac{\text{volume de leite (L)} \times (100 - \% \text{ m/m umidade pretendida})}{\text{kg de queijo} \times \text{teor de sólidos totais do queijo (\%)}}$$

- Cifra de transferência ou perda de gordura ou proteína no soro calculado pelo método empírico, segundo as fórmulas:

$$\% \text{ perda de gordura} = \frac{\% \text{ gordura do soro (m/v)}}{\% \text{ gordura leite (m/v)}} \times 100$$

$$\% \text{ perda de proteína} = \frac{\% \text{ proteína do soro (m/v)}}{\% \text{ proteína do leite}} \times 100$$

- Cifra de transferência ou perda de gordura ou proteína no soro calculado pelo método técnico, de acordo com as seguintes fórmulas:

$$\% \text{ gordura} = \frac{(\text{kg leite} - \text{kg queijo}) \times \% \text{ (m/v) gordura soro}}{(\text{kg leite} / \text{densidade leite}) \times \% \text{ (m/v) gordura leite} \times \text{densidade soro}} \times 100$$

$$\% \text{ proteína} = \frac{(\text{kg leite} - \text{kg queijo}) \times \% \text{ (m/v) proteína soro}}{(\text{kg leite} / \text{densidade leite}) \times \% \text{ (m/v) proteína leite} \times \text{densidade soro}} \times 100$$

4.6.5 Análises dos queijos após maturação de 30 dias

A determinação da composição centesimal dos queijos foi realizada segundo as metodologias:

- *Teores percentuais (m/m) de Umidade e Sólidos Totais*: método gravimétrico em estufa a 102°C ± 2°C (BRASIL, 2006);
- *Teor percentual (m/m) de gordura*: método butirométrico (BRASIL, 2006); para determinar gordura no extrato seco (GES)
- *Teor percentual de cloretos (m/m)* (PEREIRA et al., 2001); para determinar teor percentual de sal /umidade do queijo
- *pH*: por meio de leitura em medidor de pH calibrado (BRASIL, 2006);
- *Teor percentual (m/m) de proteína*: com base no teor de nitrogênio total; o fator utilizado de conversão de nitrogênio em proteína foi 6,38;
- *Teores percentuais (m/m) de Nitrogênio total, Nitrogênio solúvel em pH 4,6 e Nitrogênio solúvel em TCA a 12 % (m/v)*: obtidos pelo método Kjeldahl (PEREIRA et al., 2001) para se calcular:

- Índice de extensão de proteólise (relação % $NS_{pH4,6}/NT$);e
- Índice de profundidade de proteólise (relação % $NS_{TCA\ 12\%}/NT$).

4.6.6 Análises físicas, químicas e físico-químicas durante a estocagem refrigerada dos queijos

Os queijos foram analisados nos tempos: 60, 90 e 120 dias após a fabricação, em cada repetição, utilizando as seguintes metodologias:

- *Teores percentuais (m/m) de Nitrogênio total, Nitrogênio solúvel em pH 4,6 e Nitrogênio solúvel em TCA a 12 % (m/v):* obtidos pelo método Kjeldahl (PEREIRA et al., 2001) para se calcular:

- Índice de extensão de proteólise (relação % $NS_{pH4,6}/NT$);e
- Índice de profundidade de proteólise (relação % $NS_{TCA\ 12\%}/NT$).

4.6.7 Análise sensorial

Os queijos Prato fabricados foram submetidos à análise sensorial após 30 dias de maturação. Foi realizado o teste de aceitação dos produtos obtidos, mediante o uso de escala hedônica de 9 pontos (JONES et al., 1955; MINIM, 2010) conforme ficha de resposta modelo (Figura 4) utilizando-se provadores não treinados e selecionados aleatoriamente, representando os consumidores ativos deste tipo de queijo. Foram realizadas 50 avaliações para cada repetição (aos 30 dias de maturação). Os testes foram conduzidos em cabines individuais sob luz branca. As amostras foram apresentadas de maneira casualizada e balanceadas, em temperatura ambiente (25°C), devidamente codificadas com números aleatórios de três dígitos, em pratos descartáveis, contendo aproximadamente 30 g de queijo. As respostas dos provadores foram transformadas em valores numéricos, para análise estatística dos resultados, por programa estatístico apropriado. MINITAB, versão 14 (STATISTICAL SOFTWARE. MINITAB INC., 2003).

FIGURA 4: Modelo da ficha-resposta do teste de aceitação (escala hedônica de nove pontos) utilizada na análise sensorial do queijo Prato.

ESCALA HEDÔNICA	
Nome: _____	Data: __/__/__
Por favor, avalie a amostra usando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou do produto. Marque a posição da escala que melhor reflita seu julgamento.	
Código da amostra: _____	
<input type="checkbox"/> Gostei extremamente	
<input type="checkbox"/> Gostei muito	
<input type="checkbox"/> Gostei moderadamente	
<input type="checkbox"/> Gostei ligeiramente	
<input type="checkbox"/> Indiferente	
<input type="checkbox"/> Desgostei ligeiramente	
<input type="checkbox"/> Desgostei moderadamente	
<input type="checkbox"/> Desgostei muito	
<input type="checkbox"/> Desgostei extremamente	

Fonte: Minim, 2010.

4.6.8 Avaliação da capacidade de derretimento do queijo Prato

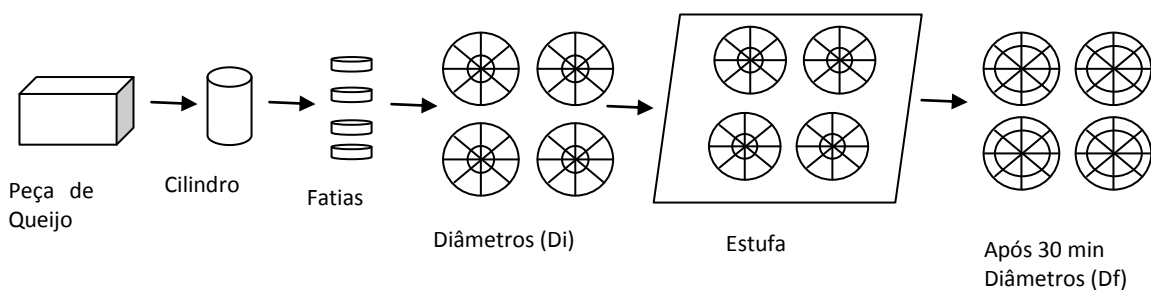
A capacidade de derretimento foi determinada pelo método modificado de Schreiber, conforme descrito por Kosikowski (1982), sendo realizada em quadruplicata nos queijos com 30, 60, 90 e 120 dias de armazenamento.

O teste consistiu em retirar da peça do queijo um cilindro de aproximadamente 36 mm de diâmetro. Com o auxílio de um fatiador foram obtidos discos com 7 mm de espessura. Foram utilizadas quatro fatias, obtidas da região

mais interna da peça, sendo cada uma colocada no centro de uma placa de Petri, devidamente dividida em 8 áreas iguais através de diâmetros. Foram medidos 4 diâmetros de cada amostra (D_i) e, então, as placas com as amostras foram dispostas em uma estufa a 107°C por 7 minutos. Posteriormente as placas foram mantidas por 30 minutos a temperatura ambiente e os diâmetros de cada amostra derretida foram medidos novamente (D_f), conforme esquema da Figura 5.

Nonogaki et al.(2007) através da análise de superfície de resposta concluíram que, a melhor condição de tempo e temperatura para obter o máximo derretimento do queijo Prato, sem haver queima do produto foi de 130°C por 10 minutos. Desta forma aplicou-se o método de Schreiber para todas as repetições em duas variáveis de tempo e temperatura: 107°C por 7 minutos e 130°C por 30 minutos.

FIGURA 5: Esquema da análise de derretimento.



Fonte: Nonogaki, 2007.

A capacidade de derretimento foi calculada usando a seguinte equação:

$$CD(\%) = ((D_f^2 - D_i^2) \times 100) / D_i^2$$

Onde:

CD: capacidade de derretimento

D_f : diâmetro final

D_i : diâmetro inicial

4.6.9 Avaliação do fatiamento do queijo Prato

Fatiar bem é uma das características mais importantes do queijo Prato, que é largamente consumido de maneira indireta (FURTADO, 2005). Devido à inexistência de metodologia para avaliação desta característica e considerando este teste muito

importante na determinação da qualidade do queijo, as amostras submetidas à avaliação da capacidade de derretimento também foram avaliadas quanto ao fatiamento, nos queijos com 30, 60, 90 e 120 dias de armazenamento.

Com auxílio de fatiador manual constituído de aço inoxidável, marca BERMAR, as amostras previamente mantidas à temperatura de 11°C - 13°C foram fracionadas em fatias de aproximadamente 2 mm de espessura, observando-se durante a operação se havia aderência do queijo na lâmina do equipamento.

5. Resultados e discussão

5.1 Análises físicas, químicas e físico químicas dos leites cru, pasteurizado e do soro de leite obtido da fabricação do queijo Prato

Os resultados analíticos dos leites cru e pasteurizado utilizados no experimento, e do soro resultante das fabricações são apresentados e discutidos nas subseções a seguir.

5.1.1 Análises físicas, químicas e físico-químicas do leite cru

O leite cru utilizado no experimento passou pelas análises de plataforma rotineiras no momento de seu recebimento na indústria, apresentando os resultados listados na Tabela 5.

TABELA 5: Valores físico-químicos do leite cru integral usado em cada fabricação dos dois tratamentos e cinco repetições do queijo Prato.

Repetição	Acidez titulável *	Densidade (g/mL)	Índice crioscópico (° H)	Gordura (% m/v)
1	0,16	1,0306	-0,539	3,9
2	0,15	1,0310	-0,542	4,1
3	0,15	1,0304	-0,538	4,2
4	0,16	1,0304	-0,537	4,0
5	0,15	1,0306	-0,539	4,0
Média	0,15	1,0306	-0,539	4,04

* % (m/v) de compostos ácidos expressos como ácido láctico

O leite cru apresentou em média 0,15% (m/v) de acidez em ácido láctico, densidade de 1030,6 g/L, índice crioscópico de -0,539°H e teor de gordura de 4,04% (m/v). Todos os parâmetros se encontram dentro dos valores especificados na Instrução Normativa nº62 de 2011 (BRASIL, 2011).

5.1.2 Análises físicas, químicas e físico-químicas do leite pasteurizado

Apesar de ser leite proveniente do mesmo silo, o leite pasteurizado foi analisado quanto aos seus constituintes e parâmetros físico-químicos. Os resultados encontrados estão descritos na Tabela 6.

TABELA 6: Resultados médios físico-químicos do leite pasteurizado e padronizado usado na produção dos dois tratamentos (fermento com produção de EPS e sem produção de EPS) do queijo Prato. Média de 5 repetições (fabricações).

Tratamento	pH	Acidez titulável*	Densidade (g/mL)	Gordura (% m/v)	Proteína total (% m/v)
Com produção de EPS	6,47	0,15	1,0290	3,48	2,95
Sem produção de EPS	6,46	0,15	1,0296	3,48	3,00

* % (m/v) de compostos ácidos expressos como ácido láctico

Não houve diferença estatística significativa para as médias, conforme teste de Tukey, (P = 0,789 para pH; P = 0,545 para acidez; P = 0,608 para densidade; P = 1,000 para gordura; P = 0,442 para proteína total).

Este resultado já era esperado, pois o leite cru foi proveniente de um mesmo silo para os dois tratamentos e não se observou nenhuma anormalidade durante os processos de pasteurização e padronização.

O leite pasteurizado e padronizado, pronto para a fabricação do queijo Prato, apresentou os valores médios de acidez titulável, densidade, gordura e proteínas totais dentro dos padrões exigidos pela Instrução Normativa nº62 (BRASIL, 2011) para leite pasteurizado.

5.1.3 Análises físicas, químicas e físico-químicas do soro coletado 10 minutos após o corte da coalhada

A composição média dos soros coletados 10 minutos após o corte da coalhada, durante as fabricações, para os dois tratamentos (fermento com produção de EPS e sem produção de EPS) e nas cinco repetições se encontram na Tabela 7. TABELA 7: Resultados médios físico-químicos e de composição centesimal dos soros obtidos da fabricação do queijo Prato.

Tratamento	pH	Acidez titulável*	Densidade (g/mL)	Gordura (% m/v)	Proteína total (% m/v)
Com produção de EPS	6,39	0,09	1,0158	0,44	0,70
Sem produção de EPS	6,41	0,09	1,0172	0,43	0,70

*% (m/v) de compostos ácidos expressos como ácido láctico

Na composição físico química do soro também não houve diferença estatística entre os tratamentos, (P = 0,522 para pH; P = 1,000 para acidez; P = 0,613 para densidade; P = 0,829 para gordura; P = 1,000 para proteína total) .

Segundo Munck (2006), o soro de queijo deve apresentar valores médios entre 0,3 e 0,5% (m/v) de teor de gordura e proteína entre 0,7 e 0,8% (m/v), sendo

estes valores bastante similares aos encontrados para o soro de queijo Prato dos dois tratamentos estudados.

A acidez do soro coletado após o corte da coalhada é um importante parâmetro de controle de fabricação dos queijos e deve ser em média 2/3 da encontrada no leite que deu origem ao queijo (MUNCK, 2006). Para o soro proveniente da fabricação onde se utilizou culturas produtoras de EPS houve certa dificuldade em manter este parâmetro. Num pré teste, não considerado neste experimento, as culturas produtoras de EPS foram adicionadas no início do enchimento do tanque de fabricação e resultou num rápido decréscimo de pH, alterando a composição final do queijo. A partir deste resultado passou-se a fazer a adição das culturas com 80% da capacidade do tanque cheio, o que corresponde. Já para a cultura não produtora de EPS a inoculação ocorreu no início do enchimento do tanque de fabricação, com 30% da capacidade do mesmo cheio.

Assim como o confirmado por Dabour et al. (2005), que o uso de cepas produtoras de EPS na fabricação de queijo Cheddar teve pouco impacto na composição e viscosidade do soro, o mesmo foi verificado visualmente na fabricação do queijo Prato.

Os resultados obtidos reforçam as observações feitas por Low et al. (1998) e Pettersen et al. (2000) de que o uso de cepas produtoras de EPS capsular não viscoso é recomendado para fabricação de queijos macios obtidos por coagulação enzimática, por não afetarem a viscosidade do soro.

5.2 Rendimento de fabricação

Os rendimentos dos queijos Prato estudados foram calculados e discutidos a seguir.

5.2.1 Rendimento econômico

O rendimento econômico, em litros de leite necessários para a produção de cada quilo de queijo Prato, está demonstrado na Tabela 8.

TABELA 8: Rendimento econômico médio para os dois tratamentos. Média de 05 repetições.

Tratamento	L leite/ kg queijo
Queijo sem EPS	8,67
Queijo com EPS	8,39

Na análise de variância houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade no rendimento econômico da produção, expresso em litros de leite por quilos de queijo ($P = 0,005$).

Numericamente, todas as repetições produzidas com culturas produtoras de EPS tiveram melhor rendimento econômico do que as produções de queijo sem EPS. Em média, foram utilizados 28 litros de leite a menos para produzir 100 kg de queijo nos tratamentos com EPS, o que é extremamente importante, considerando-se que este cálculo é o realizado para estimar o custo final da produção nos laticínios. Ou seja, encontrou-se um aumento médio de 0,39 kg/100 kg de queijo Prato produzido com culturas produtoras de EPS.

Os resultados do experimento estão coerentes com os obtidos por Dabour et al. (2006) para a produção de queijo Cheddar com redução de gordura, que encontrou um aumento de 0,28 a 1,19 kg para 100 kg de queijo produzido com cepas produtoras de EPS, comparado com o queijo controle. Porém, está bem abaixo do aumento de 1,89 kg para 100 kg obtidos para a produção do queijo mexicano Panela, que é um queijo fresco similar ao Feta, citado por Guzmán et al. (2009), talvez devido a maior retenção de umidade observada para este produto.

Comparado com os resultados obtidos por Alves et al. (1995), que avaliando o rendimento médio obtido em 15 fabricações de queijo Prato, padronizados quanto a relação caseína/gordura, encontraram um rendimento médio de 9,41 litros de leite/kg

de queijo (variando entre 8,65 a 10,24 L/kg), a média das produções com EPS ficou abaixo do melhor rendimento encontrado por eles.

5.2.2 Produção ajustada

Se por um lado o rendimento simplesmente calculado em litros de leite utilizados para fabricação de cada quilo de queijo (L/kg) é uma informação importante para cálculos econômicos, por outro lado dificulta a comparação entre bateladas que originam queijos com teores de umidade diferente entre si, uma vez que o maior rendimento de determinada fabricação pode ter sido dado somente devido ao maior teor de umidade do queijo. Assim, o rendimento pode ser ajustado para um determinado teor de umidade, tornando a comparação entre os tratamentos mais realista (FURTADO, 2005).

A comparação dos rendimentos reais de uma determinada variedade de leite e de uma determinada composição pode refletir diferenças tanto no conteúdo de umidade quanto no aproveitamento dos constituintes do queijo. Daí, a comparação de rendimentos quando os níveis de umidade são diferentes, pode esconder ineficiências no aproveitamento de componentes do leite como gordura e proteína. Portanto, para se comparar rendimento de dois ou mais lotes de uma mesma variedade de queijo, mas com teor de umidade diferentes, ajustando-se o teor de umidade a uma referência, elimina-se os efeitos de variação no teor de umidade sobre o rendimento (FOX et al., 2000) .

Para os queijos Prato analisados neste experimento foi realizado o cálculo do rendimento ajustado para 45% (m/m) de teor de umidade, padrão utilizado atualmente pelo estabelecimento onde foi realizado o experimento, que busca um valor próximo ao máximo de 45,9% (m/m) estabelecido pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (BRASIL, 1997). Os valores médios para o rendimento ajustado estão demonstrados na Tabela 9.

TABELA 9: Rendimento ajustado médio para os dois tratamentos. Média de 05 repetições.

Tratamento	L leite/ kg queijo ajustado para 45% (m/m) de teor de umidade
Queijo sem EPS	8,23
Queijo com EPS	8,45

O resultado estatístico não apresentou diferença significativa no rendimento ajustado para um teor de umidade de 45% (m/m) ($P = 0,146$).

A provável explicação para o rendimento econômico do queijo Prato ter sido maior no queijo com EPS e esta diferença não ter se apresentado no rendimento ajustado deve-se ao fato do EPS ter a capacidade de se ligar a água e aumentar a umidade na massa desengordurada do queijo - UMDQ (HASSAN, 2008), ou seja esta água não está livre. A água de hidratação ou ligada se encontra ligada quimicamente com outras substâncias dos alimentos e não é eliminada na maioria dos métodos de determinação de umidade (CECCHI, 2003; PARDI et al., 1995; SILVA & QUEIROZ, 2006). Isto é demonstrado na Tabela 10, que apresenta os valores médios da Umidade na Massa Desengordurada para cada um dos tratamentos.

Os resultados de Umidade na Massa Desengordurada dos queijos Prato foram obtidos através da utilização da fórmula:

$$UMDQ = \frac{Um}{100 - Gd} \times 100$$

Onde:

UMDQ = Umidade na massa desengordurada do queijo

Um = umidade do queijo

Gd = gordura do queijo

TABELA 10: Umidade na Massa Desengordurada dos queijos Prato (UMDQ) com 30 dias de maturação, para os dois tratamentos. Média de 05 repetições

Tratamento	Umidade (% m/m)	Gordura (% m/m)	UMDQ (%m/m)
Queijo com EPS	43,66	30,90	63,18
Queijo sem EPS	43,08	28,90	60,59

A diferença entre os tratamentos não é considerada significativa estatisticamente ($P = 0,222$).

Na realização do experimento houve preocupação em caracterizar o produto após a maturação, no momento de consumo, ou seja com 30 dias de maturação. Além disto, como os queijos são maturados embalados, o histórico do laticínios Barbosa & Marques S/A indica não haver diferença na composição centesimal durante a maturação, motivo pelo qual os queijos não foram analisados com 48 horas de produção. Porém, conforme relato de Dabour et al. (2006), os queijos com adição de culturas produtoras de EPS apresentam redução no teor de umidade durante a maturação e que esta ocorrência deve estar relacionada com a redução da estabilidade do complexo EPS/água durante a maturação, talvez devido a degradação do EPS. Ainda segundo eles, esta possibilidade aumenta a necessidade do desenvolvimento de um método para mensurar o EPS no queijo e acompanhar sua estabilidade durante a maturação.

5.2.3 Coeficiente G/L

Um dos métodos utilizados com grande eficiência e de simples aplicação, para se obter o rendimento ajustado (técnico), é o Coeficiente G/L, que trata da informação do aproveitamento final de sólidos no queijo em relação a cada litro de leite trabalhado (PAMPLONA & SILVA, 2005).

O coeficiente G/L é a determinação da quantidade de sólidos totais dos queijos, em gramas, por litro de leite utilizado na fabricação. Sua determinação é importante, pois além de sofrer alterações devido à própria composição de sólidos do leite, também é influenciado pelas etapas de fabricação do queijo, como corte, dessoragem, entre outros fatores (FURTADO, 2005). Os resultados estão dispostos na Tabela 11.

TABELA 11: Coeficientes de rendimentos G/L médio para os dois tratamentos. Média de 05 repetições.

Tratamento	Coeficiente G/L
Queijo com EPS	56,14
Queijo sem EPS	56,46

Os diferentes tratamentos não causaram diferenças significativas no coeficiente G/L dos queijos Prato ($P = 0,146$). Ou seja, apresentou a mesma eficiência de processo em termos de aproveitamento dos sólidos do leite no queijo, independente da presença de EPS.

O coeficiente GL ideal deverá ser determinado previamente para cada fábrica, pois pode sofrer influência da composição do leite (gordura e caseínas em particular) e, claro, de todos os fatores de fabricação que podem alterar a composição final do queijo (FURTADO, 2005)

5.2.4 Rendimentos técnicos – Cifra de transição ou perda

A Tabela 12 demonstra os resultados para os rendimentos técnicos (cifra de transição ou perda) obtidos para os queijos Prato estudados.

TABELA 12: Percentual de cifra de transição ou perda de gordura e proteína (métodos empírico e técnico) nos tratamentos com e sem EPS. Média de 05 repetições.

Tratamento	Perda de Gd (%) método empírico	Perda de Gd (%) método técnico	Perda de Pt (%) método empírico	Perda de Pt (%) método técnico
Queijo com EPS	13,21	11,82	23,63	21,09
Queijo sem EPS	13,49	12,13	23,30	20,94

Gd = gordura; Pt = proteína

Estas duas maneiras de expressar o rendimento da fabricação estão relacionadas com a percentagem de perda da gordura e proteínas totais no soro. O método empírico serve apenas de referência quando aplicado sempre ao mesmo tipo de queijo, feito na mesma técnica e com o mesmo volume de leite (FURTADO, 2005).

Os cálculos das cifras de transição ou perda pelos métodos empírico ($P = 0,722$ para Gd e $P = 0,512$ para Pt) e técnico calculado ($P = 0,670$ para Gd e $P = 0,751$ para Pt) também demonstraram que não há diferença significativa para estes parâmetros entre os tratamentos.

É possível que o EPS afete mais a retenção da gordura na matriz caseínica do que afetaria a retenção de proteínas, sais e lactose. Tal argumento é reforçado por Guzmán et al. (2009) que observaram com o uso de cepa de *Streptococcus thermophilus* produtora de EPS, na produção do queijo Panela, além do aumento da umidade, quanto maior o teor de sólidos totais do leite, houve também maior retenção de gordura na matriz do queijo. Isto refletiu em um maior rendimento dos queijos obtidos, e uma menor tendência à sinérese.

Além disto, a microscopia eletrônica de varredura realizada pelos mesmos autores evidenciou o EPS vinculado a matriz proteica do queijo, os microorganismos e os glóbulos de gordura do leite, levando a uma estrutura mais aberta e à produção

de uma rede com maior retenção de água e gordura, levando-os a concluir que a combinação do alto teor de sólidos do leite com o EPS aumenta o rendimento devido à maior retenção de gordura além da maior retenção de água.

Os valores encontrados para perda de gordura estão mais altos do que os citados por Fox et al. (2000), que relataram cerca de 8,5% de perda na produção industrial de queijo Cheddar. No entanto, a gordura do leite também foi maior para este trabalho (3,5 a 3,6%). E afirmam que níveis similares têm sido reportados durante a produção comercial de Gouda e Emmental. Porém a perda de proteína, considerando os mesmos autores, foi bem inferior ao citado como normal de 25 a 27%.

5.3 Análises físicas, químicas e físico-químicas dos queijos Prato

5.3.1 Composição centesimal

A Tabela 13 apresenta os valores médios de composição centesimal encontrados para cada queijo Prato com 30 dias de maturação.

TABELA 13: Composição centesimal média (% m/m) do queijo Prato com e sem EPS aos trinta dias de maturação. Média de 05 repetições.

Tratamento	NaCl (%m/m)	Gordura (% m/m)	Umidade (% m/m)	Proteína (%m/m)	GES* (%m/m)	NaCl na umidade (% m/m)
Com EPS	1,64	30,9	43,66	22,03	53,27	3,62
Sem EPS	1,58	28,9	43,08	22,97	52,73	3,54

* GES = % gordura no extrato seco

Os seguintes constituintes de composição foram semelhantes entre os tratamentos, conforme teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade: NaCl (P =

0,494), gordura ($P = 0,330$), umidade ($P = 0,511$), GES ($P = 0,512$) e NaCl na umidade ($P = 0,611$). O teor de proteínas apresentou diferença significativa ($P = 0,010$), sendo que o queijo com EPS apresentou teor de proteína total inferior ao queijo sem EPS.

Em experimento realizado por Dabour et al., em 2006, onde avaliaram a melhoria da textura e estrutura de queijo Cheddar com redução de gordura com *Lactobacillus* produtor de exopolissacarídeo tanto na forma livre quanto capsular, foi observado que, normalmente, queijos com adição de culturas produtoras de EPS tem conteúdo de proteína e cinzas significativamente menor comparado com o queijo controle, entretanto o conteúdo de gordura não difere significativamente entre as amostras de queijo. Ainda segundo eles este fato é coerente com estudos prévios (KHEADR et al., 2000; SALLAMI et al., 2004) e pode ser atribuído à contínua degradação das caseínas a peptídeos de baixa massa molecular solúveis em água e à presença de aminoácidos liberados pela ação do coagulante residual e pela atividade proteolítica da cultura láctica.

Conforme pode ser observado, todos os queijos apresentam composição dentro dos padrões do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do queijo Prato com relação aos teores de umidade e de gordura no extrato seco (BRASIL, 1997). Nestes parâmetros, os queijos fabricados podem ser classificados de acordo com a portaria nº 146 de 1996 do MAPA (BRASIL, 1996) como gordos (GES entre 45% e 59,9 % m/m) e de média umidade (umidade entre 36% e 45,9 % m/m).

Ao contrário dos experimentos realizados em queijo Mussarela com baixo teor de gordura, onde há relatos de aumento do teor de umidade de 1,5% (THUNELL, 1998) a 3,2% (LOW et al., 1998), e em queijo Cheddar com baixo teor de gordura com aumento de retenção de umidade de 3,6 a 4,8% (DABOUR et al., 2006) neste trabalho não houve diferença significativa no teor de umidade entre os tratamentos. Isto pode ser devido à menor acessibilidade a água do EPS na forma capsular, ao contrário do que ocorre com o EPS na forma livre, usado nos experimentos citados acima.

Dabour et al. (2005) usando microscopia eletrônica de transmissão demonstraram que o EPS lançado na forma livre na matriz do queijo Cheddar foi arranjado para formar uma estrutura como uma rede com bolsas de soro residual na interface gordura/caseína e esta estrutura pode ajudar a reter mais água do que as moléculas de EPS na forma capsular. Similarmente, foi relatado por Petersen et al.

(2000) uma maior retenção de água por *Streptococcus* produtor de EPS livre em queijo Mussarela com baixo teor de gordura quando comparado com *Streptococcus* produtor de EPS capsular.

5.3.2 pH dos queijos

O pH da coalhada afeta nos parâmetros como sinérese, consistência, maturação e desenvolvimento de sabor do queijo (WASLTRA et al., 1999).

A Tabela 14 apresenta os valores médios de pH encontrados para cada queijo Prato com dois dias e trinta dias de fabricação.

TABELA 14: Valores médios de pH do queijo Prato com e sem EPS com dois e trinta dias de fabricação. Média de 5 repetições.

Tratamento	pH com 2 dias	pH com 30 dias
Queijo com EPS	5,14	5,24
Queijo sem EPS	5,25	5,30

A análise de variância realizada para os valores de pH encontrados para os queijos Prato nos tratamentos estudados demonstrou não haver diferença significativa entre os tratamentos ($P = 0,086$ com 02 dias e $P = 0,386$ com 30 dias) e tempo ($P = 0,058$ com 02 dias e $P = 0,393$ com 30 dias). Também não houve efeito da interação tratamento versus tempo ($P = 0,451$ com 02 dias e $P = 0,071$ com 30 dias).

Segundo Furtado (2005) a maneira como a acidez evolui durante a elaboração do queijo é um fator importante na sua característica final e na sua qualidade. As diferenças que existem entre um tipo e outro são determinadas expressivamente pela sua estrutura básica. O pH final de classes representativas de queijos, 24 horas após sua elaboração, situa-se num intervalo de 4,7 a 5,4. O queijo tipo Suiço ou Gouda (similar ao Prato) apresenta pH de 5,2 a 5,4.

Conforme relatado no item 5.1.3 houve necessidade de alterar o momento de adição das culturas com produção de EPS para controle do abaixamento excessivo do pH durante o processo de fabricação. O aumento do teor de umidade no queijo causado por espécies produtoras de EPS resulta num aumento da retenção de lactose e isto leva a atividade bacteriana a aumentar a quantidade de ácido no queijo (VISSER, 1993; WALSTRA, 1993).

Citando Furtado (2007), quando se elabora um queijo sem lavagem da massa, cada 1% a mais na umidade neste queijo representa mais acidez, equivalente a uma queda de 0,1 unidade de pH. A acidificação afeta sensivelmente a dessoragem gradual que ocorre durante a elaboração de um queijo pela modificação da estrutura do grão da coalhada. A formação de ácido lático aumenta a porosidade do grão ou pela perda de cálcio ou pela alteração da capacidade de retenção da água pelas caseínas, em decorrência da neutralização progressiva de sua carga elétrica (FURTADO, 1991).

Espera-se elevação do pH ao longo da maturação devido a neutralização esperada durante a maturação de queijos devido à degradação parcial do ácido lático e à formação de compostos nitrogenados alcalinos. (SALAÜN et al., 2005).

Os valores de pH encontrados para os queijos Prato fabricados neste trabalho são condizentes com os citados por Furtado & Lourenço Neto (1994), que deve estar entre 5,20 e 5,40 no final da maturação .

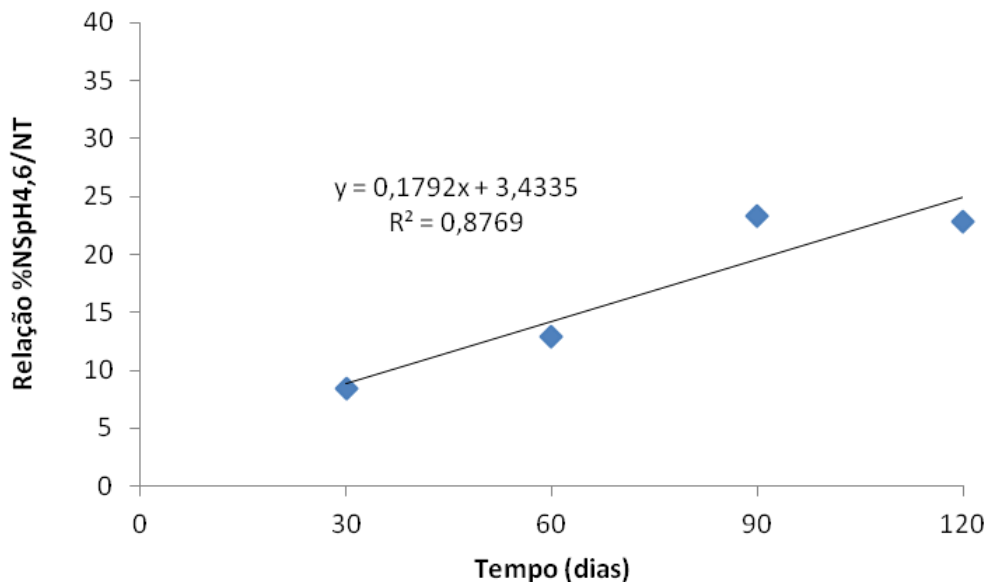
Ressalta-se também a presença do *Streptococcus thermophilus* na composição das culturas, que é homofermentador, podendo fermentar a lactose e glicose, produzindo ácido lático rapidamente (FURTADO, 1991).

5.3.3 Extensão da proteólise

A extensão da proteólise não apresentou efeito significativo entre os tratamentos ($P = 0,427$). Os queijos com EPS e sem EPS apresentaram uma relação percentual $NS_{pH4,6}/NT$, respectivamente, de 16,86% e 16,18%. Não houve efeito da interação tratamento versus tempo ($P = 0,881$). Isto porque a extensão se deve principalmente a ação proteolítica do coagulante sobre as caseínas do queijo

(WOLFSCHOON-POMBO & LIMA, 1989). Porém houve efeito significativo do tempo ($P = 0,000$) que foi estudado através da regressão linear conforme Figura 6.

FIGURA 6: Evolução da extensão da proteólise nos queijos Prato com e sem EPS durante a estocagem refrigerada por 120 dias. Média de 5 repetições.



Fonte: produção do próprio autor.

A extensão da proteólise é uma medida importante na maturação dos queijos e é encontrado pela razão entre o percentual de nitrogênio solúvel em pH 4,6 pelo nitrogênio total (WOLFSCHOON-POMBO & LIMA, 1989).

Desmazeud & Gripon (1977) apresentaram estudos cromatográficos da fração nitrogenada solúvel em pH 4,6, revelando que 28% dos peptídeos compunham-se de moléculas com massa molecular menor que 3.000, 50% entre 3.000 e 5.000 e 20% maior que 5000. Estes dados demonstraram que a fração nitrogenada solúvel em pH 4,6 contém, principalmente, peptídeos de massa molecular elevada.

Como a extensão da proteólise se deve principalmente à ação proteolítica do coalho sobre as caseínas do queijo (WOLFSCHOON-POMBO & LIMA, 1989) e a retenção de coalho no queijo é diretamente relacionado com o pH do leite (FURTADO, 1991), este resultado já era esperado, pois não houve diferença no pH do leite entre os tratamentos (Tabela 6).

Além disto, os teores de umidade e sal na umidade não apresentaram ser diferentes entre os tratamentos, portanto, não influenciaram na extensão da proteólise.

5.3.4 Profundidade da proteólise

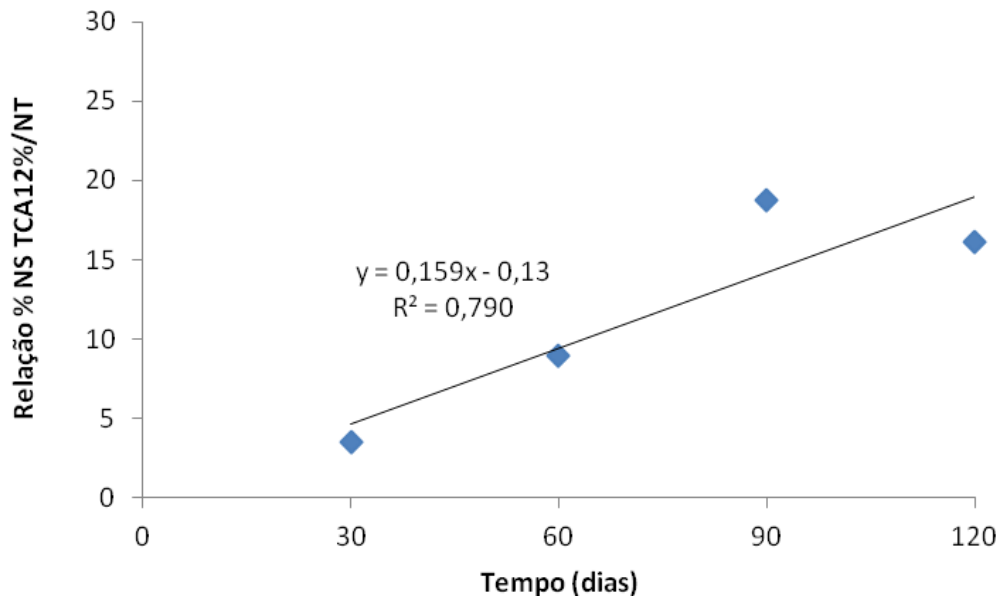
A profundidade da proteólise é dada pelo quociente entre o percentual de nitrogênio solúvel em ácido tricloroacético a 12 % (m/v) e o teor de nitrogênio total do queijo.

O ácido tricloroacético, em concentrações de 2 a 12%, tem sido empregado para separação de peptídeos de média e baixa massa molecular em extratos aquosos dos queijos ou em filtrados obtidos de precipitação em pH 4,5 (FOX, 1989). A principal característica correlacionada com a solubilidade em TCA 12% é o aumento na hidrofobicidade superficial acessível dos peptídeos. A hipótese sugere que o TCA, ao interagir com os peptídeos, induz a um aumento na hidrofobicidade superficial acessível (ou decréscimo no potencial de hidratação), que pode levar à agregação por ação de interações hidrofóbicas (FOX, 1989).

Este parâmetro demonstra o quanto do nitrogênio total está presente principalmente na forma de peptídeos de massa molecular menor até aminoácidos, o que indica uma hidrólise realmente mais profunda das proteínas do queijo (WOLFSCHOON-POMBO & LIMA, 1989).

A profundidade da proteólise não apresentou diferença significativa entre os tratamentos ($P = 0,805$), (queijos com EPS = 11,82% e queijos sem EPS = 11,57%); e não houve efeito da interação tratamento versus tempo ($P = 0,998$). Porém, houve efeito significativo do tempo ($P = 0,000$). Para cada tratamento foi feita a análise de regressão do parâmetro de profundidade da proteólise nos queijos Prato (Figura 7).

FIGURA 7: Evolução da profundidade da proteólise nos queijos Prato com e sem EPS durante a estocagem refrigerada de 120 dias. Média de 05 repetições.



Fonte: produção do próprio autor.

O comportamento foi esperado, já que a profundidade da proteólise aumenta com o tempo de maturação devido à atuação dos microrganismos presentes nos queijos, sendo que a sua influência se torna cada vez maior com o tempo. As bactérias lácticas possuem uma célula “envelope” associada à proteinase que contribui para a formação de pequenos peptídeos no queijo, provavelmente por hidrólise de peptídeos maiores produzidos a partir de α 1-caseína pela quimosina ou a partir de β -caseína pela plasmina, enquanto as aminopeptidases, dipeptidases e tripeptidases (que são intra-celulares) são responsáveis pela liberação de aminoácidos livres após a lise das células. Médios e pequenos peptídeos contribuem para um sabor agradável em muitas variedades de queijo, no entanto, peptídeos pequenos hidrofóbicos são amargos (McSWEENEY, 2004).

A proteólise do queijo é considerada resultante de várias atividades enzimáticas (proteinases, peptidases) sendo que os principais contribuintes são as enzimas do coalho e do fermento láctico (WOLFSCHOON-POMBO & LIMA, 1989). É lógico afirmar que as espécies envolvidas na composição da cultura láctica utilizada afetam diretamente a intensidade da proteólise, a partir de suas características distintas e nutrientes utilizados no seu metabolismo.

O *Streptococcus thermophilus* é pouco proteolítico e apresenta grande sensibilidade ao sal, sendo inibido em meios que contenham mais de 2,0% (FURTADO, 1991). Deste modo é interessante avaliar o teor de sal por meio do índice de sal na umidade do queijo, pois como o sal se difunde por meio da fase aquosa, teores elevados de umidade absorvem e difundem mais o sal, podendo ocorrer inibição do crescimento microbiano, alterando a maturação e estocagem do queijo.

5.3.5 Derretimento

O derretimento é um importante parâmetro de estudo do queijo Prato, pois uma das características deste tipo de queijo é a capacidade de alteração da sua forma original quando submetido ao calor. O derretimento foi avaliado nos queijos Prato produzidos com culturas com e sem produção de EPS em dois binômios tempos/temperaturas (107°C/7 min. e 130°C/10 min.) ao longo do tempo de 30, 60, 90 e 120 dias de armazenagem.

Os resultados encontrados estão demonstrados na Tabela 15.

TABELA 15: Resultados médios de percentual de aumento de diâmetro das amostras (derretimento) para os dois binômios de tempo e temperatura utilizados ao longo de cada tempo para os dois tratamentos.

Dias de estocagem	% derretimento a 107°C/ 7 min	% derretimento a 130°C/10 min
30	23,32	34,42
60	17,78	27,69
90	27,34	36,73
120	27,83	39,91

A análise de variância demonstrou que os tratamentos ($P = 0,565$ para $107^{\circ}\text{C}/7$ min. e $P = 0,895$ para $130^{\circ}\text{C}/10$ min.) não diferiram entre si com relação ao derretimento e para cada tempo os tratamentos são semelhantes ($P = 0,557$ para $107^{\circ}\text{C}/7$ min. e $P = 0,365$ para $130^{\circ}\text{C}/10$ min.). Também não houve diferença significativa da interação tratamento e tempo de estocagem ($P = 0,794$ para $107^{\circ}\text{C}/7$ min. e $P = 0,846$ para $130^{\circ}\text{C}/10$ min.) conforme demonstrado pelo teste de Tukey em cada tratamento. Isto mostra que o tratamento e o tempo não interferiram significativamente no derretimento dos queijos.

A capacidade significativa de derretimento no final da maturação pode refletir a intensa proteólise da $\alpha\text{s}1$ -caseína, observada neste período para o queijo Prato (SCHULZ, 2003). A proteólise favorece a hidratação da matriz caseínica (LAWRENCE et al., 1987), melhorando a capacidade de derretimento do queijo.

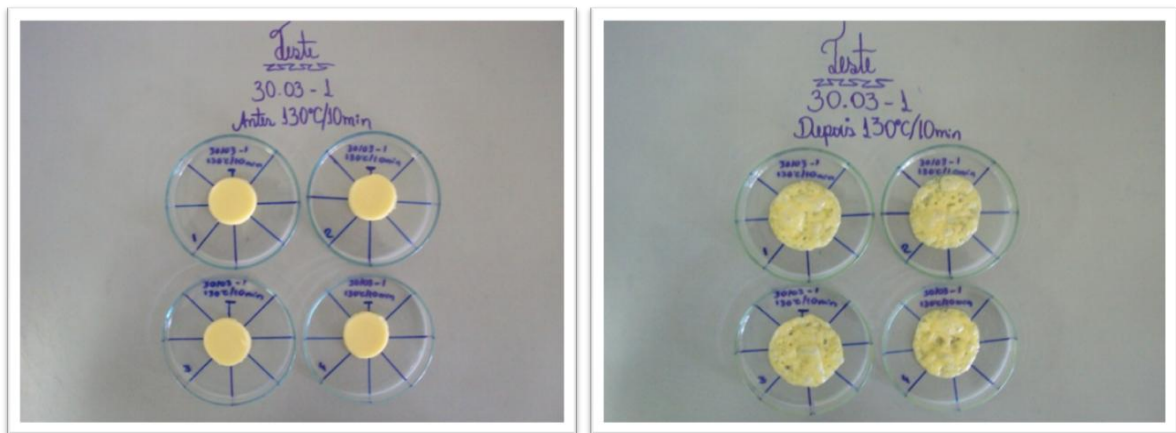
Como a intensidade da proteólise não apresentou diferença significativa entre os tratamentos, a capacidade de derretimento acompanhou esta tendência, sendo semelhante nos queijos com e sem EPS.

Além disto, de acordo com Kindstedt et al. (2001) o pH afeta fortemente as interações proteína – umidade e, conseqüentemente, o derretimento dos queijos. Com não houve diferença significativa de pH entre os tratamentos, este parâmetro não interferiu no derretimento.

McMAHON et al. (1999) observaram também que uma matriz proteica mais hidratada, quando aquecida, resulta num aumento da capacidade de derretimento dos queijos. Novamente, como não houve diferença na umidade, não houve alteração na capacidade do derretimento.

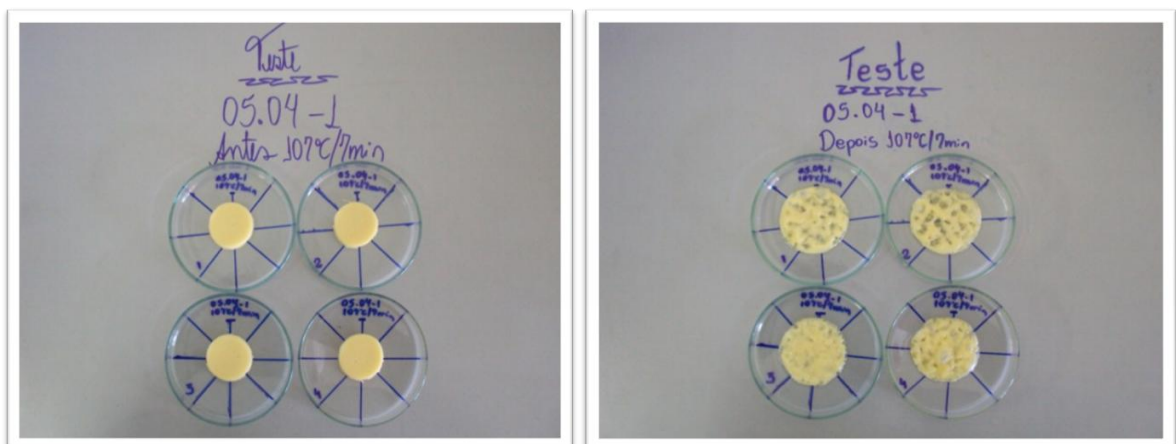
As figuras 8 e 9 ilustram a avaliação da capacidade de derretimento do queijo Prato nos dois binômios tempos/temperaturas utilizados.

FIGURA 8: Avaliação da capacidade de derretimento do queijo Prato com EPS a 130°C/10 min.



Fonte: produção do próprio autor

FIGURA 9: Avaliação da capacidade de derretimento do queijo Prato com EPS a 107°C/7 min.



Fonte: produção do próprio autor.

5.3.6 Fatiamento

Devido à utilização do queijo Prato no preparo de pizzas, sanduíches e outros alimentos preparados, o bom fatiamento tornou-se uma propriedade importante na determinação de sua qualidade. Devido à inexistência de métodos científicos os resultados foram avaliados de forma subjetiva, empírica, apenas para avaliar que o queijo pudesse ser fatiado (simulação de venda).

Foi realizado o fatiamento dos queijos dos dois tratamentos nos diversos tempos de estocagem considerados (30, 60, 90 e 120 dias) utilizando um fatiador de frios manual. Os queijos com EPS aparentavam estar mais macios ao toque, porém sem comprometimento do fatiamento que se demonstrou igual aos dois tratamentos empregados, independente do tempo.

Isto reforça a observação feita por Hassan (2008) que a umidade ligada ou aprisionada no EPS pode não estar disponível para a hidratação das proteínas e não produzir queijo pastoso.

A Figura 10 ilustra o teste de fatiamento empregado no experimento.

FIGURA 10: Teste de fatiamento do queijo Prato com EPS.



Fonte: produção do próprio autor.

5.4 Análise sensorial dos queijos Prato – Teste de aceitação

A Tabela 16 apresenta os resultados médios obtidos quando os termos hedônicos foram transformados em escores de 1 a 9, sendo 9 a nota atribuída ao termo “gostei extremamente” e 1 ao termo “desgostei extremamente”, para os dois tratamentos de queijo de Prato avaliado com 30 dias.

TABELA 16: Resultados médios do teste de aceitação com provadores não treinados para os queijos Prato após maturação de 30 dias. Média de 5 repetições.

Tratamento	Nota média
Sem EPS	6,70
Com EPS	7,26

A análise de variância para os dados obtidos no teste de aceitação mostrou que não houve diferença significativa ($P = 0,0968$) entre os tratamentos estudados.

As notas ficaram entre termos hedônicos “gostei muito” e “gostei moderadamente” para o queijo com EPS e entre “gostei moderadamente” e “gostei ligeiramente” para o queijo sem EPS. Ambos apresentaram boa aceitabilidade sensorial.

6. Conclusões

Com base na metodologia empregada e nos resultados obtidos, pode-se concluir que:

- A utilização de culturas produtoras de exopolissacarídeos na forma capsular, na fabricação do queijo Prato, não alterou os parâmetros de Identidade e Qualidade do produto.
- A utilização de culturas produtoras de EPS alterou para menos a composição centesimal de proteína dos queijos quando comparado aos fabricados com cultura sem produção de EPS, sem alterar os demais constituintes dos queijos.
- Foi observada diferença no rendimento econômico, de impacto comercial significativo, sendo que os queijos produzidos com culturas EPS positiva apresentaram melhor rendimento.
- Os rendimentos técnicos pelo método empírico e pelo método calculado para os teores de gordura e proteína foram semelhantes para os queijos com e sem EPS.
- Não houve diferença na proteólise dos queijos; conseqüentemente a durabilidade dos mesmos não se alterou com a utilização de culturas produtoras de EPS.
- Os tratamentos não interferiram significativamente no derretimento e fatiamento dos queijos.
- O teste de aceitação mostrou que os queijos com e sem produção de EPS foram semelhantes sensorialmente no final da maturação de 30 dias.

Considerações finais

A utilização de culturas produtoras de EPS na forma capsular na fabricação de queijo Prato apresentou vantagem tecnológica de impacto comercial (maior rendimento L/kg), sem alteração de suas características típicas.

Há necessidade de mais estudos, em escala piloto, para melhor controle da tecnologia na fabricação de queijo Prato tradicional, para aumentar o teor de umidade dos queijos e conseqüentemente o rendimento, antes da implantação nos laticínios.

Referências bibliográficas

ALBUQUERQUE, L. C. **Queijos no mundo: origem e tecnologia**. Vol. II. Juiz de Fora: [s.n], 129 p. 2002.

ALVES, G.; ANTUNES, L. A. F.; FURTADO, M. M. Parâmetros físico químicos envolvidos com a padronização e a determinação de rendimento de Queijo Prato. **Anais do Congresso Nacional de Laticínios** n. 13, p. 265-271, 1995.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJO. **Produção brasileira de produtos lácteos e estabelecimentos sob inspeção federal**. São Paulo, 2010. Não paginado.

AYALA-HERNANDEZ, I.; GOFF, H. D.; CORREDIG, M. Interactions between milk proteins and exopolysaccharides produced by *Lactococcus lactis* observed by scanning electron microscopy. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 2583-2590, 2008.

BASTIAN, E. Comunicação pessoal, 1999.

BHASKARACHARYA, R. K.; SHAH, N. P. Texture characteristics and microstructure of skim Mozzarella cheeses made using exopolysaccharide or non-exopolysaccharide producing cultures. **The Australian Journal of Dairy Technology**, v. 55, p. 132-138, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146, de 7 de março de 1996. Regulamento técnico de identidade e qualidade dos queijos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 11 mar. 1996. Seção 1, p. 3977.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 358, de 4 de setembro de 1997. Regulamento técnico de identidade e qualidade do queijo Prato. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 08 set. 1997. Seção 1, p. 46.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite tipo B, do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 30 dez. 2011. Seção 1, p. 6.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 14 dez. 2006. Seção 1, p. 8.

BROADBENT, J. R.; McMAHON, D. J.; OBERG, C. J.; WELKER, D. L. Use of exopolysaccharide-producing cultures to improve the functionality of low fat cheese. **International Dairy Journal**, v. 11, p. 433-439, 2001.

CECCHI, H. M. **Fundamentos Teóricos e Práticos em Análise de Alimentos**. 2. ed. Campinas: UNICAMP. 2003, 207 p.

CERNING, J. Production of exopolysaccharides by lactic acid bacteria and dairy propionibacteria. **Le Lait**, v. 75, p. 463-472, 1995.

CUMMINGS, J. H.; ENGLYST, H. N. Gastrointestinal effects of food carbohydrate. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 61 (suppl.), p. 938S-945S, 1995.

DABOUR, N.; KHEADR, E. E.; FLISS, I.; LAPOINTE, G. Impact of ropo and capsular exopolysaccharide-producing strains of *Lactococcus lactis* supsp. *cremoris* on reduced fat Cheddar cheese production and whey composition. **International Dairy Journal**, v.15, p. 459-471, 2005.

DABOUR, N.; KHEADR, E. E.; BENHAMOU, I.; FLISS, I.; LAPOINTE, G. Improvement of texture and structure of reduced fat Cheddar cheese by exopolysaccharide-producing lactococci. **Journal of Dairy Science**, v.89, p. 95-110, 2006.

DESMAZEAUD, M. J.; GRIPON, J. C. Role of proteolytic enzymes of *Streptococcus lactis*, *Penicillium roqueforti* and *Penicillium caseicolum* during cheese ripening. **Journal of Dairy Science**, v. 60, p. 1532-1538, 1977.

DE VUYST, L.; DEGEEST, B. Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 23, p. 153-177, 1999.

DE VUYST, L.; VANDERVEKEN, F.; VAN DE VEN, S.; DEGEEST, B. Production and isolation of exopolysaccharides from *Streptococcus thermophilus* grown in a milk medium and evidence for their growth-associated biosynthesis. **Journal of Applied Microbiology**, v. 84, p. 1059-1068, 1998.

DE VUYST, L.; ZAMFIR, M.; MOZZI, F.; ADRIANY, T.; MARSHALL, V.; DEGEEST, B. Exopolysaccharide-producing *Streptococcus thermophilus* strains as functional starter cultures in the production of fermented milks. **International Dairy Journal**, v.13, p. 707-717, 2003.

DUBOC, P.; MOLLET, B. Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. **International Dairy Journal**, v. 11, p. 759-768, 2001.

EMMONS, D. B. Milking clotting enzymes. Estimating cheese yield losses from proteolysis during cheese making. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 8, p. 2016-2021, 1990.

FOLKENBERG, D. M.; DEJMEK, P.; SKRIVER, A.; IPSEN, R. Relation between sensory texture properties and exopolysaccharide distribution in set an in stirred yoghurts produced with different starter cultures. **Journal of Texture Studies**, v. 36, p. 174-189, 2005.

FOLKENBERG, D. M.; DEJMEK, P.; SKRIVER, A.; IPSEN, R. Interactions between EPS-producing *Streptococcus thermophilus* strains in mixed yoghurt cultures. **Journal Dairy Research**, v. 73, p. 385-393, 2006.

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

FOX, P. F.; GUINEE, T. P.; COGAN, T. M.; McSWEENEY, P. L. H. **Fundamentals of cheese science**. Maryland: Aspen, 559 p. 2000.

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

FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H. **Dairy Chemistry and Biochemistry**. London: Blackie Academic & Professional, 396 p. 1998.

FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H.; COGAN, T. M.; GUINEE, T. P. **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology**. London: Chapman & Hall, v. 1, 617 p. 2004.

FURTADO, M. M. **A arte e a ciência do queijo**. São Paulo: Globo, 297 p. 1991.

FURTADO, M. M. **Manual prático de mussarela (Pizza Cheese)**. Master Graf. Campinas, 97 p. 1997.

FURTADO, M. M. **Principais problemas dos queijos**: causas e prevenção – edição revisada e ampliada. São Paulo: Fonte Comunicações, 200 p. 2005.

FURTADO, M. M. **Queijos com olhaduras**. São Paulo: Fonte Comunicações, 179 p. 2007.

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

GERMAN, B.; SCHIFFRIN, E.; RENIERO, R.; MOLLET, B.; PFEIFER, A.; NESSER, J. R. The development of functional foods: lessons from the gut. **Trends in Biotechnology**, v. 17, p. 492-499, 1999.

GAMAR-NOURANI, L.; BLONDEAU, K.; SIMONET, J. M. Influence of culture conditions on exopolysaccharide production by *Lactobacillus rhamnosus* C83. **Journal of Applied Microbiology**, v. 85, p. 664-672, 1998.

GANCEL, F.; NOVEL, G. Exopolysaccharide production by *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* cultures. Conditions of production. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 685-688, 1994.

GOUDÉDRANCHE, H.; MAUBOIS, J. L.; DUCRET, P.; MAHAUT, M. Utilisation de nouvelles membranes minérales d'ultrafiltration pour la fabrication de fromages du type Saint-Paulin. **La Tecchnique Laitière**, n. 950, p. 7-13, 1981.

GRAPPIN, R.; RANK, T. C.; OLSON, N. F. Primary proteolysis of cheese proteins during ripening: a review. **Journal of Dairy Science**, v. 68, p. 801-805, 1985.

GROBBEN, G. J.; BOELS, I. C.; SIKKEMA, J.; SMITH, M. R.; DE BONT, J. A. M. Influence of ions on growth and production of exopolysaccharides by *Lactobacillus delbrueckii* subspecies *bulgaricus* NCFB 2772. **Journal Dairy Research**, v. 67, p. 131-135, 2000.

- GUINEE, T. P.; HARRINGTON, D.; CORCORAN, M. O.; MULHOLLAND, E. O.; MULLINS, C. The composition and functional properties of commercial Mozzarella, cheddar and analogue pizza cheeses. **International of Dairy Technology**, v. 53, n. 2, p. 51-56, 2000.
- GUZMÁN, J. J.; NÁJERA, A. F.; GUERRERO, A. E. C.; GARIBAY, M. G. Use of exopolysaccharide-producing strain of *Streptococcus thermophilus* in the manufacture of Mexican Panela cheese. **Food Science and Technology**, v. 42, p. 1508-1512, 2009.
- HARRIS, P. J.; FERGUSON, L. R. Dietary fibre: its composition and role in protection against colorectal cancer. **Mutation Reserch**, v. 290, p. 97-110, 1993.
- HASSAN, A. N. ADSA Foundation Scholar Award: possibilities and challenges of exopolysaccharide-producing lactic cultures in dairy foods. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 1282-1298, 2008.
- HASSAN, A. N.; CORREDIG, M.; FRANK, J. F. Viscoelastic properties of yoghurt made with ropy and nonropy exopolysaccharides producing cultures. **Milchwissenschaft**, v. 56, p. 684-685, 2001.
- HASSAN, A. N.; CORREDIG, M.; FRANK, J. F. Capsule formation by nonropy starter cultures affects the viscoelastic properties of yoghurt during structure formation. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 716-720, 2002.
- HASSAN, A. N.; FRANK, J. F.; FARMER, M. A.; SCHMIDT, K. A.; SHALABI, S. L. Observation of encapsulated lactic acid bacteria using confocal scanning laser microscopy. **International of Dairy Technology**, v. 78, p. 2624-2628, 1995.
- HASSAN, A. N.; FRANK, J. F.; SCHMIDT, K. A.; SHALABI, S. L. Rheological properties of yoghurt made with encapsulated nonropy lactic cultures. **Journal of Dairy Science**, v. 7, p. 2091-2097, 1996.
- HASSAN, A. N.; FRANK, J. F.; EL SODA, M. Observation of bacterial exopolysaccharide in dairy products using cro-scanning electron microscopy. **International of Dairy Technology**, v. 13, p. 755-762, 2003.
- JONES, L. V.; PERYAM, D. R.; THURSTONE, L. L. Development of a scale for measuring soldiers food preferences. **Food Research**, Oxford, v. 20, n. 4, p. 512-520, 1955.
- KHEADR, E. E.; VUILLEMARD, J. C.; EL DEEB, S. A. Accelerated Cheddar cheese ripening with encapsulated proteinases. **International Journal Food Science Technology**, v. 35, p. 483-495, 2000.
- KINDSTEDT, P. S.; ZIELINSKI, A.; ALMENA-ALISTE, M. A post-manufacture method to evaluate the effect of pH on Mozzarella cheese characteristics. **The Australian Journal of Dairy Technology**, n. 56, p. 14-19, 2001
- KOSIKOWSKI, F. **Cheese and Fermented Milk Foods**. New York: Elsevier, 711p.1982.

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

LÓPEZ, M. B.; JORDÁN, M. J.; HELLIN, P.; CASTILLO, M.; LAENCINA, J. Kinetics of k-casein hydrolysis by different rennets and coagulant enzymes in Murciano-Granadina goat milk. **Milchwissenschaft**, v. 52, n. 7, p. 370-373, 1997.

LOW, D.; AHLGREN, J. A.; HORNE, D.; McMAHON, D. J.; OBERG, C. J.; BROADBENT, J. R. Role of *Streptococcus thermophilus* MR-1C capsular exopolysaccharide in cheese moisture retention. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, n. 6, p. 2147-2151, 1998.

McMAHON, D. J.; OBERG, C. J. Influence of fat, moisture and salt on functional properties of Mozzarella cheese. **The Australian Journal of Dairy Technology**, v. 53, p. 98-101, 1998.

McMAHON, D. J.; FIFE, R. L.; OBERG, C. J. Water partitioning in Mozzarella cheese and its relationship to cheese meltability. **Journal of Dairy Science**, n. 82, p. 1361-1369, 1999.

McSWEENEY, P. L. H Biochemistry of cheese ripening. **International Journal of Dairy Technology**, v. 27, n.2/3 p.127-144, maio/agosto de 2004.

McSWENNEY, P. L. H.; FOX, P. F.; **Advanced Dairy Chemistry**: volume 3: lactose, water, salts and minor constituents. Ireland: Springer, 793 p. 2009.

MERRIL, R. K.; OBERG, C. J.; McMAHON, D. J. A method for manufacturing reduced fat Mozzarella cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 1783-1789, 1994.

MINIM, V. P. R. **Análise Sensorial**: estudo com consumidores. 2. ed. Viçosa: Editora UFV, 308 p. 2010.

MINITAB, Meet MINITAB 14 (VERSÃO EM Português), MINITAB Satatguide, MINITAB Help. Minitab release 14.1- Statistical Software. Minitab Inc., 2003.

MOZZI, F.; SAVOY, G.; DE GIORI; OLIVER, G.; DE VALDEZ, G. F. Exopolysaccharide production by *Lactobacillus casei* II. Influence of the carbon source. **Milchwissenschaft**, v. 50, p. 307-309, 1995.

MUNCK, A. **Apostila de Tecnologia de Fabricação de Queijos**. Instituto de Laticínios Cândido Tostes. Juiz de Fora, 2006.

NAUTH, K. R.; HAYASHI, D. K. Method of manufacture of low fat pasta filata cheese. **Us patent 5431931**, 1995.

NONOGAKI, C. O; MONTEIRO, V. S; GIGANTE, M. L. Metodologia para avaliar a capacidade de derretimento do queijo Prato. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 10, n. 1, p. 71-77, jan./mar. 2007.

- PAMPLONA, E. O.; SILVA, W. F. da. Contribuição da simulação de Monte Carlo na projeção de cenários para gestão de custos na área de laticínios. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE CUSTOS, 4., 2005, Florianópolis: Meio Magnético, 2005. CD-ROM.
- PARDI, M. C.; SANTOS, I. F.; SOUZA, E. R.; PARDI, H. S. **Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne**. Volume I. Niterói: EDUFF. Goiânia: UFG. 1995, 586 p.
- PEREIRA, D. B. C.; SILVA, P. H. F.; COSTA JÚNIOR, L. C. G.; OLIVEIRA, L. L. **Físico-Química do Leite e Derivados: Métodos Analíticos**. Juiz de Fora. 2 ed. Templo Gráfica e Editora. 2001. 234p.
- PERRY, D. B.; McMAHON, R. L.; OBERG, D. J. Effect of exopolysaccharide-producing cultures on moisture retention in low fat Mozzarella cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 799-805, 1997.
- PERRY, D. B.; McMAHON, R. L.; OBERG, D. J. Manufacture of low fat Mozzarella cheese using exopolysaccharide-producing starter cultures. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 563-566, 1998.
- PETERSEN, B. L.; DAVE, R. I.; McMAHON, D. J.; OBERG, C. J.; BROADBENT, J. R. Influence of capsular and ropy exopolysaccharide-producing *Streptococcus thermophilus* on Mozzarella cheese and cheese whey. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1952-1956, 2000.
- PRUSS, H. D.; BAHRS, L. H. Preparation of cheese with ropy lactic acid bacteria. **US patent 4243684**, 1981.
- ROBERTS, I. S. The biochemistry and genetics of capsular polysaccharide production in bacteria. **Annual Review of Microbiology**, v. 50, p. 285-315, 1996.
- RUAS-MADIEDO, P.; HUGENHOLTZ, J.; ZOON, P. An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. **International Dairy Journal**, v. 12, p. 163-171, 2002.
- SALLAMI, L.; KHEADR, E. E.; FLISS, I.; VUILLEMARD, J. C. Impact of autolytic, proteolytic and nisin-producing adjunct cultures on biochemical and textural properties of Cheddar cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 1585-1594, 2004.
- SALAÜN, F.; MIETTON, B.; GAUCHERON, F. Buffering capacity of dairy products. **International Dairy Journal**. v.15, p.95-109, 2005.
- SANCHEZ, V. A. A. G. **Evolução de ácidos graxos e do perfil da textura durante a maturação de queijo Prato**. 2000, 116 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.
- SCHULZ, J. G. **Efeito da utilização de slurry sobre a maturação de queijo Prato**. 2003, 102 p. Dissertação (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

SILVA, D. J. QUEIROZ, A. C. **Análise de Alimentos** (Métodos Químicos e Biológicos). 3. ed. Viçosa: UFV. 2006, 235 p.

SKRIVER, A.; BUCHEIM, W.; QYIST, K. B. Electron microscopy of stirred yoghurt: ability of three techniques to visualize exopolysaccharides from ropy strains.

Milchwissenschaft, v. 50, p. 683-686, 1995.

SPADOTI, L. M.; DORNELAS, J. R. F.; ROIG, S. M. Evaluation of the melting of Prato cheese obtained by modifications of the traditional manufacturing process. **Le Lait**, v. 83, n. 5, p. 379-408, 2003.

SUTHERLAND, I. W. Bacterial exopolysaccharides. **Advances in Microbial Pshyology**, v. 8, p. 143-212, 1972.

THUNELL, R. K. Comunicação pessoal, 1998.

TUNICK, M. H.; MALIN, E. L., SMITH, P. W.; HOLSINGER, V. H. Proteolysis and rheology of low fat and full fat Mozzarella cheese prepared from homogenized milk.

Journal of Dairy Science, v. 76, p. 3621-3628, 1993.

USTUNOL, Z.; HICKS, C. L. Effect of calcium addition on yield of cheese manufactured with *Endothia parasitica* protease. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 1, p. 17-25, 1990.

USTUNOL, Z.; KAWACHI, K.; STEFFE, J. Rheological properties of Cheddar cheese as influenced by fat reduction and ripening time. **Journal of Food Science**, v. 60, p. 1208-1210, 1995.

VAN DENDER, A. G. F.; DUCRUET, P.; MAUBOIS, J. L. Estudo da fabricação de queijo tipo Prato utilizando ultrafiltração. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 42, n. 249, p. 7-14, 1987.

VASCONCELOS, M. P.; ARAUJO, K. G. L.; VERRUMA-BERNARDI, M. R. Efeito do pH de coagulação do leite e do tipo de coalho sobre o rendimento de massa na produção de queijo. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 10, n. 4, p. 499-502, 2004.

VENEMA, G.; MIERAU, I.; KUNJI, E. R. S.; POOLMAN, B.; KOK, J. Peptidases and growth of *Lactococcus lactis* in milk. **Dairy Science and Technology**, v. 76, n. 1-2, p. 25-32, 1996.

WALSTRA, P. **The syneresis of curd**. In: Fox, P. F. Cheese : chemistry, physics and microbiology – General aspects. Vol. I. 2ª ed. Chapman & Hall. 601p. 1993.

WALSTRA, P.; GEURTS, T. J.; NOOMEN, A.; JELLEMA, A.; VAN BOEKEL, M. A. J. **S. Dairy Technology: principles of milk properties and processes**. New York: Marcel Dekker, 727p. 1999.

WANG, H. H.; SUN, D. W. Evaluation of the functional properties of Cheddar cheese using a computer vision method. **Journal of Food Engineering**, v. 49, n. 1, p. 49-53, 2001.

WOLFSCHOON-POMBO, A. F.; LIMA, A. Extensão e profundidade da proteólise de queijo Minas frescal. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. Juiz de Fora, v.44, n.261/266, p.50-54. 1989.

ZIZU, B.; SHAH, N. P. Effects of pH, temperature, supplementation with whey protein concentrate, and adjunct cultures on the production of exopolysaccharides by *Streptococcus thermophilus* 1275. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 3405-3415, 2003.