

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA GOIANO – CÂMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**INDICADORES DE QUALIDADE EM QUEIJO
MUÇARELA DURANTE ARMAZENAMENTO**

Autora: Thamara Evangelista Silva
Orientadora: Prof^a. Dra. Priscila Alonso dos Santos

RIO VERDE - GO
Abril - 2016

INDICADORES DE QUALIDADE EM QUEIJO MUÇARELA DURANTE ARMAZENAMENTO

Autora: Thamara Evangelista Silva
Orientadora: Prof^ª. Dra. Priscila Alonso dos Santos

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Rio Verde - Área de concentração Zootecnia /Recursos Pesqueiros.

RIO VERDE - GO
Abril - 2016

Ficha Catalográfica Preparada pela Seção de Catalogação e Classificação da Biblioteca
Central do IF Goiano - RV

Silva , Thamara Evangelista
S586a Indicadores de qualidade em queijo Muçarela durante
armazenamento / Thamara Evangelista Silva. – Rio Verde. – 2016.

45 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Instituto Federal Goiano – Campus
Rio Verde, 2016.
Orientadora: Prof^a. Dra. Priscila Alonso dos Santos

Bibliografia

1. Queijo Muçarela. 2. Armazenamento. 3. Funcionalidade. I.
Título. II. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde.

641.373

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CÂMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**INDICADORES DE QUALIDADE EM QUEIJO MUSSARELA
DURANTE ARMAZENAMENTO**

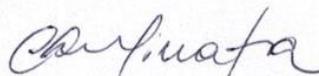
Autora: Thamara Evangelista Silva
Orientadora: Priscila Alonso dos Santos

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia – Área de concentração Zootecnia
– Zootecnia e Recursos Pesqueiros.

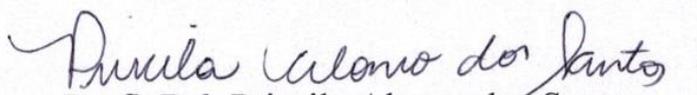
APROVADA em 01 de abril de 2016.



Prof. Dr. Rodrigo Garcia Motta
Avaliador externo
UniRV



Prof. Dr. Cibele Silva Minafra
Avaliadora interna
IF Goiano/RV



Prof. Dr. Priscila Alonso dos Santos
Presidente da banca
IF Goiano/RV

À minha avó Terezinha Ferreira Paniago, aos meus pais Eliezer da Costa Silva e Doris Evangelista Ferreira, às minhas irmãs Thamiris Evangelista Silva e Thaynara Evangelista Silva e ao meu noivo Rodrigo Moreira,

dedico...

Por isso não temas, porque estou contigo; não te assustes, porque sou o teu Deus; Eu te fortaleço, ajudo e sustento com a mão direita da minha justiça.

Isaías 41:10

AGRADECIMENTOS

A Deus, que sempre está comigo dando-me forças necessárias para conquistar todos os meus objetivos e me fortalecendo para vencer os obstáculos até chegar aqui.

À minha querida vovó Terezinha Ferreira Paniago, que esteve ao meu lado em todos os momentos de minha vida, com muito carinho, atenção e cuidado.

Aos meus amados pais Eliezer da Costa Silva e Doris Evangelista Ferreira, pelos princípios que me foram ensinados, por acreditarem nos meus sonhos e pela força dada nos momentos difíceis.

Às minhas irmãs Thamiris Evangelista Silva e Thaynara Evangelista Silva, pelo companheirismo, apoio e carinho.

Ao meu noivo Rodrigo Moreira, por compreender minha ausência, pelo incentivo, companheirismo e dedicação nos momentos em que precisei.

A Terezinha Maria Rodrigues, Patrícia Rodrigues de Jesus Fabro e Claudinei Fabro, pelo suporte durante toda a pós-graduação.

À minha grande professora e orientadora, Dra. Priscila Alonso dos Santos, pelo exemplo de pessoa, pelo auxílio quando precisei e por todos os momentos dispensados a mim durante a execução do projeto, pela amizade e compreensão.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela bolsa de estudo concedida para a execução deste trabalho.

Aos professores, Dra. Letícia Fleury Viana, Dra. Mariana Buranelo Egea, Dra. Kátia Cylene Guimarães, Dra. Fabiana Ramos dos Santos e Dr. Francisco Ribeiro de Araújo Neto, que sempre estiveram prontos e dispostos a me auxiliar durante o projeto.

Às alunas do curso de Engenharia de Alimentos, Jéssica P. da Silva, Nathália D. Leite, Julia N. Vieira, Neylla Crystina N. Vieira, Tainara L. de Sousa, Elísia C. de Souza e

Jordana dos S. Alves, que participaram da pesquisa com muita dedicação durante os experimentos.

Aos meus colegas da pós-graduação Danielle Maria Fernandes do Prado, Flávio Arantes Campos e Sérgio Antônio Schwartz Custodio, pelo encorajamento nos momentos difíceis.

A todos os funcionários e pesquisadores do Laboratório de Pós-Colheita de Produtos Vegetais e Nutrição Animal, especialmente ao professor Dr. Osvaldo Resende e Jaqueline Ferreira Vieira Bessa e Carlos Antônio de Mello Medeiros, pela atenção prestada a mim durante as análises de textura, cor e nitrogênio total.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde, professores, funcionários e colegas, pela oportunidade de continuar evolução de meus estudos.

Ao laticínio, que possibilitou a aquisição dos queijos, e aos colaboradores, pelo auxílio no transcorrer do experimento.

Enfim, a todos os meus familiares e amigos que se mantiveram na torcida pela conclusão deste trabalho.

Muito obrigada a todos!

BIBLIOGRAFIA DO AUTOR

Thamara Evangelista Silva, nascida em 23 de outubro de 1991 no município de Iporá - GO, filha de Eliezer da Costa Silva e Doris Evangelista Ferreira. Em 2008, concluiu o ensino médio no Colégio Estadual Olinto Pereira de Castro, município de Rio Verde – GO. Em 2008, matriculou-se no curso Técnico em Informática no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde, tendo concluído no ano de 2009. Pela mesma instituição, graduou-se em Engenharia de Alimentos em 2014 e no mesmo ano ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia também no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde, na área de concentração de Zootecnia/Recursos Pesqueiros.

ÍNDICE GERAL

	Página
INTRODUÇÃO GERAL	1
1 Leite	3
2. Queijo Muçarela	4
2.1. Produção do Queijo Muçarela	5
2.2. Características funcionais	9
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	12
OBJETIVOS GERAIS	16
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
CAPÍTULO I	18
CHAPTER I	19
INTRODUÇÃO	20
MATERIAL E MÉTODOS	22
1. Análises microbiológicas	22
1.1. Número Mais Provável de coliformes totais e coliformes termotolerantes	23
1.2. Contagem microrganismos psicrotróficos e psicrotróficos proteolíticos	23
1.3. Contagem de psicrotróficos proteolíticos	23
2. Análises físico-químicas	23

2.1. pH	24
2.2. Acidez Titulável	24
2.3. Umidade	24
2.4 Resíduo Mineral Fixo (cinzas)	25
2.5. Cloretos.....	25
2.6. Gordura.....	25
2.7. Gordura no Extrato Seco (GES)	26
2.8. Proteína.....	26
2.9. Índice de extensão da proteólise e índice de profundidade da proteólise.....	27
3. Propriedades funcionais.....	28
3.1. Capacidade de derretimento	28
3.2. Óleo livre	29
3.3. Cor	29
3.4. Perfil de textura	29
RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
CONCLUSÃO.....	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Valores médios da qualidade microbiológica de queijo Muçarela quanto ao Número Mais Provável de coliformes totais e termotolerantes.....	31
Tabela 2. Contagem microbiana de psicrotróficos totais e proteolíticos ao longo de 60 dias de armazenamento do queijo Muçarela em função do tempo.	32
Tabela 3. Composição físico-química de queijo Muçarela durante o período de estocagem.	33
Tabela 4. Características funcionais de queijo Muçarela em função do tempo de armazenamento sob refrigeração.	36
Tabela 5. Perfil de textura de queijo Muçarela após 0, 20, 40 e 60 dias de armazenamento.	38

ÍNDICE DE FIGURA

	Página
Figura 1. Mapa da produção de leite no estado de Goiás referente ao ano de 2014.	4
Figura 2. Fluxograma do Processo de Produção do queijo Mussarela na indústria situada no município de Rio Verde.....	6
Figura 3. Esquema ilustrativo das etapas da análise de capacidade de derretimento.....	29

INTRODUÇÃO GERAL

A fabricação do queijo Muçarela teve início na Itália, onde, exclusivamente, deveria ser constituído por leite de búfala. Entretanto, em decorrência da demanda pelo consumo, superar a produção, alternativamente, houve a mistura com o leite de vaca e, na sequência, a substituição total da matéria-prima (PERRY, 2004). O consumo de queijos vem crescendo exponencial no Brasil nos últimos cinco anos, tendo passado de 3,5 kg em 2008 para 4,66 kg per capita em 2013. O queijo Muçarela, pelas suas propriedades nutricionais e peculiares, se tornou o mais consumido no Brasil (ABIQ, 2014).

A qualidade de um alimento é definida pela sua composição, suas propriedades nutricionais e funcionais. Assim, a funcionalidade do queijo está relacionada com o comportamento do queijo durante sua preparação, processamento, estocagem, cozimento ou consumo (FOX et al., 2000).

A aparência, a textura, o sabor e o aroma são atributos sensoriais que exercem influência sobre a aceitação dos alimentos pelo consumidor, ao mesmo tempo em que confirmam a expectativa quanto à qualidade do produto. A textura está associada à satisfação e ao prazer de comer (PIAZZON-GOMES et al., 2010). Propriedades funcionais como a cor podem ser usadas para diferenciar os tipos de queijos, além de descrever as mudanças durante sua maturação. Esses parâmetros estão relacionados ao tipo de leite ou soro de leite e aos procedimentos adotados durante a produção (RINALDI; CHIAVARO; MASSINI, 2010).

O controle de todas as etapas envolvidas no fluxograma de produção do queijo Muçarela é necessário para o conhecimento industrial, visto que, quando o processo não é realizado de acordo com os padrões de qualidade estabelecidos pela legislação, é

favorecida a ocorrência de contaminação do produto, que comprometerá suas propriedades após a fabricação, durante o armazenamento até chegar à mesa do consumidor.

Dada a relevância do controle dos pontos críticos relacionados à cadeia produtiva do queijo Muçarela, esse trabalho tem como objetivo fazer uma análise dos parâmetros microbiológicas, físico-químicos e funcionais deste produto durante sua vida útil, com o propósito de rastrear prováveis situações que provoquem sua perda da qualidade.

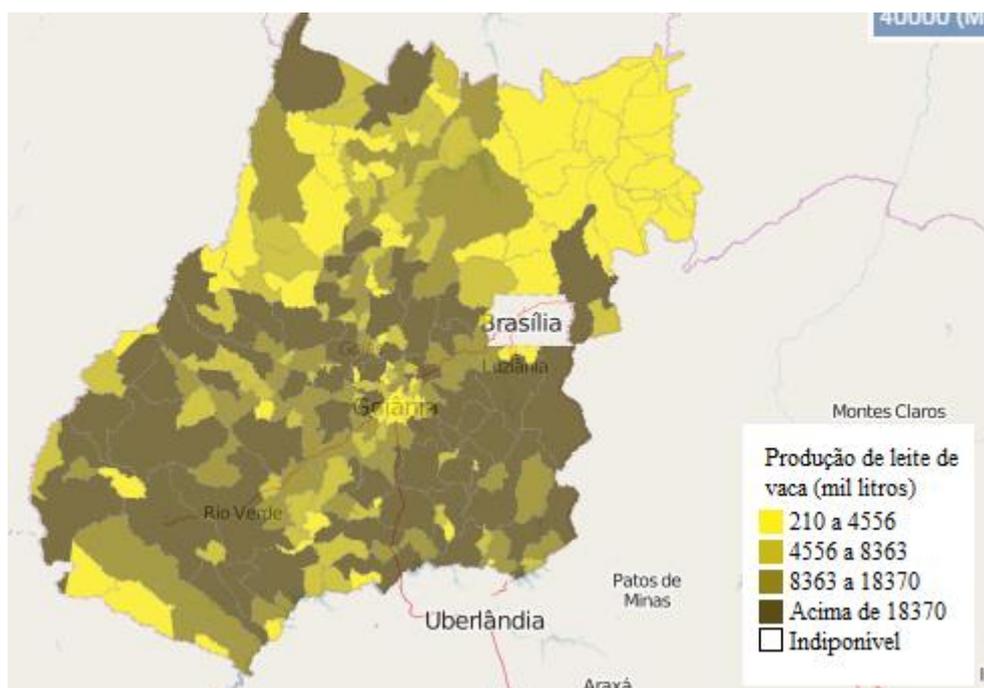
1 Leite

O Brasil é um importante produtor mundial de leite e sua produção vem apresentando crescimento contínuo. O estado de Goiás produziu 3.684.341 mil litros de leite no ano de 2014 (IBGE, 2015a). A Figura 1 mostra o mapa de produção de leite no estado de Goiás. O município de Rio Verde representa aproximadamente 2,5% da produção do estado em 2014, com 91.800 mil litros de leite (IBGE, 2015b).

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o leite é o produto fresco, integral, oriundo da ordenha completa ininterrupta sob condições higiênicas de vacas saudáveis. Tem diversos componentes sólidos suspensos em água, entre os quais glicídios (basicamente lactose), gorduras, proteínas, minerais e vitaminas em diferentes estados de dispersão. O leite proveniente de outras espécies animais deverá ser formalizado como leite de cabra ou leite de búfala (BRASIL, 2011).

Na cadeia produtiva dos derivados lácteos, cabe ao produtor o papel mais importante na garantia da inocuidade da matéria-prima; visto que a qualidade do produto final depende categoricamente das boas práticas de ordenha, aliadas ao manejo do leite em condições adequadas de higiene (FONSECA & SANTOS, 2007). Isso possibilita concluir que o leite beneficiado sofre consequências diretas do modo como foi obtido.

Segundo a Instrução Normativa nº 62, de dezembro de 2011, os requisitos físicos e químicos limites do leite são: matéria gorda, mínimo de 3,0g /100 g, teor original (3%); densidade relativa a 15°C, de 1,028 a 1,034g/mL; acidez titulável, de 0,14 a 0,18g de ácido láctico/100 mL; extrato seco desengordurado, no mínimo 8,4g/100g; índice crioscópico, de - 0,530°H a - 0,550°H (equivalentes a -0,512°C e a -0,531°C); e teor de proteínas, de 2,9g/100g, no mínimo (BRASIL, 2011). Os requisitos microbiológicos vigentes para CBT são de no mínimo $3,0 \times 10^5$ UFC/mL e de no máximo $5,0 \times 10^5$ CCS/mL para CCS, passando, a partir de 01 de julho de 2016, para no máximo $1,0 \times 10^5$ para CBT e $4,0 \times 10^5$ CCS.



Fonte: IBGE (2014^a).

Figura 1. Mapa da produção de leite no estado de Goiás referente ao ano de 2014.

O leite fornece nutrientes essenciais na dieta humana por ser uma importante fonte de proteína, gordura, cálcio, magnésio, selênio, riboflavina, vitamina B12 e ácido pantotênico, podendo seu consumo desempenhar papel importante na dieta de crianças e em populações com ingestão de gordura muito baixa, com acesso limitado a outros alimentos de origem animal (FOA, 2014).

2. Queijo Muçarela

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), pela Portaria 146/96, entende-se por queijo o produto fresco ou maturado obtido por separação parcial do soro de leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado) ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, enzimas específicas de bactérias, ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias, especiarias, condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes (BRASIL, 1996).

O mercado brasileiro de queijos cresceu em produção 9,4% ao ano no período de 2006 a 2013 e deverá aumentar seus índices de crescimento até 2017, podendo atingir uma produção de 1.659 mil toneladas anuais, sendo que quase 70% do volume produzido é de queijo Muçarela, seguido pelo queijo prato e pelo requeijão. O consumo per capita

apresentou crescimento médio anual de 8,3% entre 2006 e 2013, chegando a um consumo médio per capita anual de 5,3 kg, com perspectivas promissoras para 2017, quando o consumo deve atingir 8 kg per capita/ano (CARVALHO et al., 2015).

O queijo Muçarela é definido como sendo o queijo obtido por filagem de uma massa acidificada, adquirida por coagulação de leite por meio de coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não pela ação de bactérias lácticas específicas. De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Queijo Muçarela, este queijo é classificado como média, alta ou muito alta umidade e extragordo, gordo a semigordo. Denominar-se-á queijo mozzarella, queijo muzzarella ou queijo Muçarela (BRASIL, 1997).

2.1. Produção do Queijo Muçarela

A Figura 2 apresenta o fluxograma do processamento do queijo Muçarela da indústria estudada, situada no município de Rio Verde – Goiás.

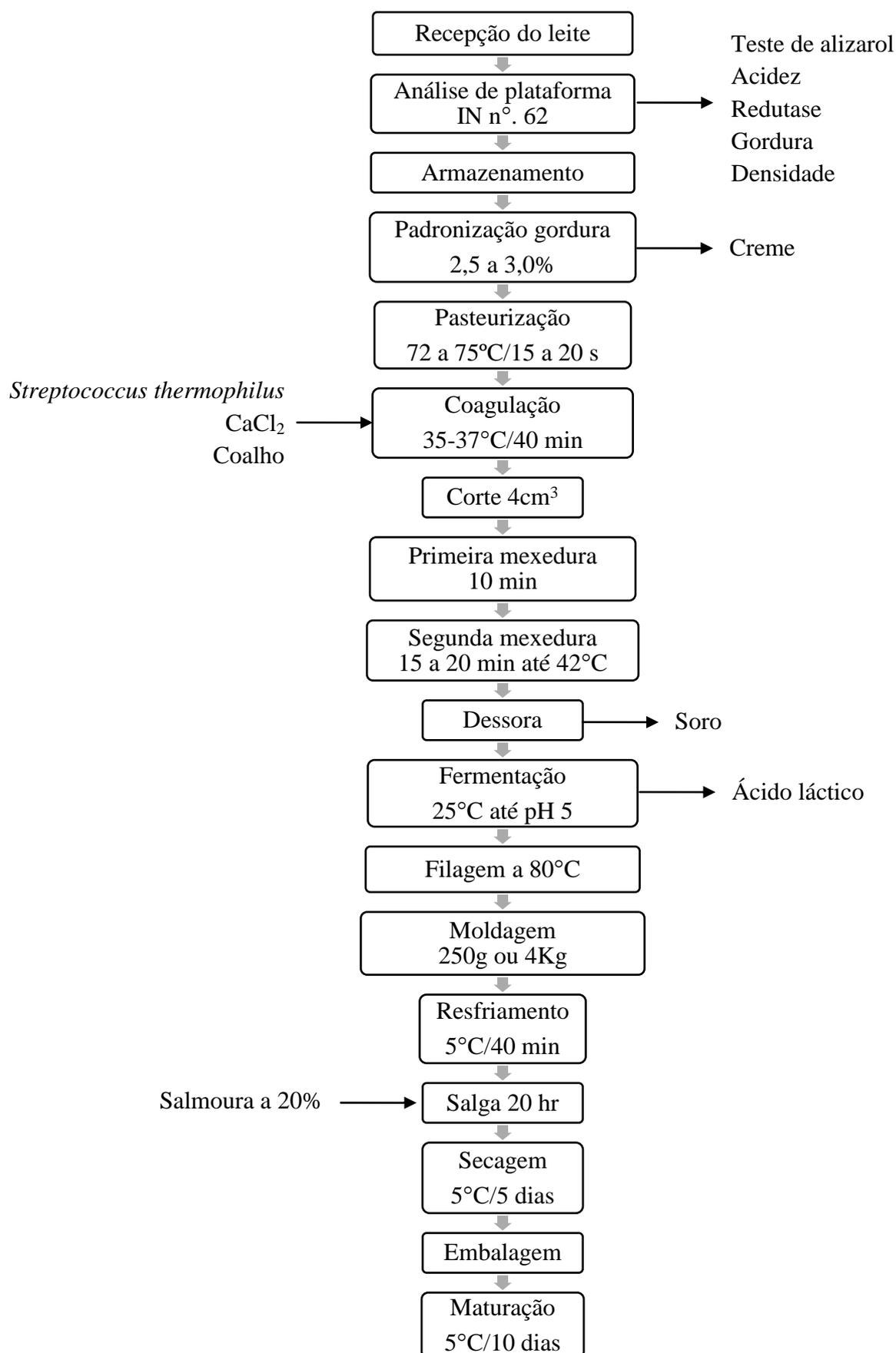


Figura 2. Fluxograma do Processo de Produção do queijo Mussarela na indústria situada no município de Rio Verde.

O processo de fabricação inicial do queijo Muçarela é semelhante ao de outros queijos. De modo geral, tais procedimentos envolvem as fases de pasteurização e padronização do leite, coagulação, corte do coágulo e dessoragem (MCMAHON e OBERG, 2011). A matéria-prima deve ser submetida à pasteurização para garantir a inocuidade microbiológica do produto e padronizada quanto ao teor de gordura, por serem responsáveis por alterações no derretimento, coesividade, gomosidade, mastigabilidade e firmeza do queijo (BRASIL, 1996; VALLE et al., 2004).

Na coagulação enzimática, ocorre a modificação da micela de caseína pela proteólise devido à quebra da ligação peptídica entre os aminoácidos fenilalanina 105 e a Metionina 106, provocada pelas enzimas do coalho ou coagulantes, formando uma suspensão fluida pela agregação das micelas de caseína e glóbulos de gordura, induzida pelo cálcio (PAULA et al., 2009). O corte é feito com o intuito de provocar a contração da matriz de paracaseína e a consequente expulsão da fase aquosa presente no gel. Esse processo de sinerese permite o controle da umidade do queijo, atividade dos microrganismos e ação de enzimas, maturação e estabilidade do queijo (FOX et al., 2000). A dessoragem consiste na separação da massa do soro.

Em contrapartida, a produção do queijo Muçarela difere dos outros tipos de queijo durante a fase de fermentação, filagem e maturação. Estas etapas são de suma importância por serem responsáveis pela caracterização final do queijo.

Durante o processo fermentativo, as bactérias ácido-lácteas reduzem o pH do meio. As culturas lácteas desempenham diversas funções importantes, destacando-se a inibição do desenvolvimento de microrganismos patogênicos e a padronização da qualidade dos queijos (CORTEZ et al., 2008; DE ANGILES et al., 2008).

A acidificação da massa é essencial e deve ser cuidadosamente controlada. Logo ao término de obtenção da massa, o teor de ácido láctico é baixo e o teor de cálcio coloidal é alto (paracaseinato bicálcico). Conforme a fermentação prossegue, o ácido láctico produzido solubiliza o fosfato de cálcio coloidal na forma de lactado de cálcio, desmineralizando o paracaseinato monocálcico, propiciando o início da etapa de filagem (VALLE et al., 2004).

A escolha de uma cultura rápida para a fabricação do queijo Muçarela é fundamentada na necessidade da obtenção do pH para a filagem, visando a diminuir ao máximo a sinerese durante a fermentação e a garantir a consistência adequada do produto (DE ANGILES et al., 2008).

O fermento *Streptococcus thermophilus* puro é empregado para obtenção de uma rápida acidez da massa. O pH ideal para a Muçarela ser filada se situa próximo de 5,0 e é

alcançado em torno de algumas horas após a adição do fermento, podendo, assim, a massa ser filada no mesmo dia da fabricação. Este processo tecnológico é geralmente empregado na fabricação de Muçarela para pizza, que requer um queijo com menor teor de umidade e de corpo mais firme (FURTADO, 1991; MCMAHON e OBERG, 2011).

A massa do queijo Muçarela fermentada é submetida ao tratamento térmico e mecânico que lhe confere plasticidade. O queijo passa então a apresentar uma estrutura fibrosa característica, com fibras orientadas na mesma direção, como resultado do processo de filagem. Essas fibras podem ser alongadas consideravelmente sem se romper. Essa elasticidade está relacionada a dois fatores fundamentais: presença predominante de caseína intacta e concentração típica de cálcio na massa (FURTADO, 1997).

A maturação é um processo muito complexo no queijo e se encarrega de mudanças bioquímicas e microbiológicas na massa, que resultam em desenvolvimento das características de *flavor* (sabor e odor) e textura de diferentes variedades (FOX et al., 2000).

Os queijos apresentam quantidade elevada de proteínas (α_1 , α_2 , β , κ -caseína) sob a ação de enzimas provenientes de culturas de bactérias lácticas específica, de enzimas naturais do leite e de enzimas adicionadas (quimosina), resultando em fonte diversificada de peptídeos bioativos (PIHLANTO, 2006). A proteólise é o principal fenômeno bioquímico que ocorre durante a maturação, um evento importante que tem influência sobre as alterações texturais na matriz do queijo, resultante da ação das proteinases e peptidases das bactérias lácteas sobre os peptídeos de alto e baixo peso molecular e aminoácidos livres (MCSWEENEY E SOUSA, 2000).

A extensão proteolítica é um fator indicativo da proteólise primária e ocorre principalmente pela ação proteolítica do coalho ou coagulante residual no queijo, sobre a α_1 -caseína e, em menor escala, sobre a β -caseína, dando origem a peptídeos de alto e médio peso molecular (FOX, 2004).

A proteólise primária, cujo principal responsável é o coalho ou coagulante residual, está relacionada com o aumento da capacidade de derretimento do queijo, devido ao enfraquecimento da matriz proteica, que faz com que o queijo perca a capacidade de manter sua estrutura durante o aquecimento e tenha reduzidas sua firmeza e elasticidade, tornando-os mais macios e, respectivamente, menos firmes e elásticos (KINDSTEDT, 1993; DE RENSIS et al., 2009).

Já o índice de profundidade de maturação está relacionado com a presença de enzimas proteolíticas decorrentes do metabolismo microbiano, que hidrolisam os peptídeos resultantes da ação do coalho e da plasmina sobre as caseínas (FOX, 2004).

2.2. Características funcionais

2.2.1. Derretimento

O derretimento é definido como a facilidade com que o queijo se espalha quando submetido ao aquecimento. É uma importante propriedade funcional do queijo Muçarela, pois determina sua conformidade para uso como ingrediente em pizza. (MUTHUKUMARAPPAN et al., 1999). Interações entre as moléculas de caseína são as principais responsáveis pelo derretimento do queijo (LUCEY et al., 2003). Com o aumento da proteólise, ocorre o enfraquecimento da matriz proteica e consequente elevação da capacidade de derretimento do queijo (RUDAN e BARBANO, 1998).

2.2.2. Óleo livre

A liberação de óleo ou o desprendimento da gordura líquida da massa do queijo Muçarela derretido forma um depósito na superfície, conhecido como óleo livre. Esse óleo livre, limitado ou excessivo, é considerado defeito de qualidade do queijo tipo Muçarela. A liberação de óleo ocorre por falha ou alterações na matriz proteica, permitindo a combinação dos glóbulos de gordura e a movimentação para a superfície (ROWNEY et al., 1999).

Segundo Rowney et al. (2004), a homogeneização do leite para fabricação de queijos Muçarela diminui a quantidade livre de óleo formada durante o aquecimento.

2.2.3. Cor

A cor instrumental é um atributo importante, que, rotineiramente, é avaliado pelos consumidores antes de adquirir um alimento. O sistema CIE $L^*a^*b^*$ estabelece coordenadas uniformes no espaço tridimensional de cor, sendo que a^* toma valores positivos para cores avermelhadas e valores negativos para os esverdeados, ao passo que b^* toma valores positivos para cores amareladas e valores negativos para os mais azulados. L^* é uma medida aproximada da luminosidade, propriedade segundo a qual cada cor pode ser considerada equivalente a um membro da escala de cinza, entre o preto e o branco, tomando valores dentro da faixa de 0-100 (MACDOUGALL, 2002).

Croma (C^*) é usado para determinar o grau de diferença de uma tonalidade em comparação com uma cor cinzenta. Quanto maiores forem os valores de cromaticidade, maior a intensidade da cor, enquanto valores baixos indicam cor acinzentada ou fraca. Ângulo de tonalidade (h^*) é considerado o atributo qualitativo de cor, segundo o qual as cores têm sido tradicionalmente definidas como esverdeada, avermelhada, amarela, azulada (DUANGMAL et al., 2008).

A medição objetiva da cor é de grande importância para os produtores de alimentos pela relação existente entre a cor e a aceitabilidade do produto (CALVO et al., 2001).

A dispersão da luz pelas micelas de caseínas e glóbulos de gordura contribui fortemente para a coloração do leite e, conseqüentemente, de seus derivados (WALSTRA, 1990). Os β -carotenos conferem ao leite uma cor ligeiramente amarela. Dietas à base de pasto levam a um leite com concentrações maiores de β -caroteno do que dietas à base de concentrados e silagem de milho em decorrência do metabolismo dos animais (HAVEMOSE et al., 2004; MARTIN et al., 2004).

2.2.4. Textura

As propriedades de textura estão intimamente relacionadas à deformação, desintegração e ao escoamento do alimento sob a aplicação de uma força, sendo objetivamente medidas pelas funções tempo, força, massa e distância (ERDEM, 2004).

As características de textura dos queijos são determinadas pelas propriedades estruturais combinadas da matriz proteica e dos glóbulos de gordura presentes no meio (LOBATO-CALLEROS et al., 2007).

A Análise Instrumental do Perfil de Textura (TPA) é aplicada com eficiência em muitas análises de alimentos (PONS & FISZMAN, 1996). O teste simula a ação de compressão e corte dos dentes durante a mastigação, consistindo em aplicações sucessivas de forças (deformantes) ao corpo de prova, sendo possível, com base neste procedimento, gerar uma curva força versus tempo, de onde são extraídos os parâmetros texturais.

Os parâmetros determinados na TPA são: dureza, que é a força necessária para atingir uma dada deformação; adesividade, que se refere à força requerida para remover o material que adere à boca durante o processo de mastigação; coesividade, que é o grau pelo qual uma substância é comprimida entre os dentes antes de se romper; elasticidade, que é o grau com que o queijo volta à sua forma original depois da compressão com os dentes; e mastigabilidade, que é a energia requerida para desintegrar um alimento sólido até o ponto de engolir (GUNASEKARAN & AK, 2003).

Segundo Valle et al. (2004), a análise instrumental pode expressar com precisão as avaliações subjetivas, em virtude da alta correlação entre as medidas sensoriais e instrumentais.

Esta revisão destacou os principais aspectos relacionados à transformação do leite bovino em Muçarela com o propósito de subsidiar o experimento de mestrado conduzido com este tipo de derivado lácteo no município de Rio Verde no estado de Goiás.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIQ. Associação Brasileira das Indústrias de Queijo. **A busca por produtos funcionais deve impulsionar a venda crescente de queijos, 2014.** Disponível em: http://abiq.com.br/abiq_noticias_ler.asp?codigo=1478&codigo_categoria=2&codigo_subcategoria=17. Acessado em: 20/02/2016.

BRASIL. Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146, de 07 de 1996. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos. **Diário Oficial da União.** Brasília, 1996.

BRASIL. Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 364, de 04 de setembro de 1997. Regulamento Técnico Para Fixação de Identidade e Qualidade do Queijo Muçarela. **Diário Oficial da União.** Brasília, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento Nacional de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. **Diário Oficial da União,** Brasília, 30 de dez 2011. Seção 1, p.1-24.

CALVO, C.; SALVADOR, A.; FISZMAN, S. M. Influence of colour intensity on the perception of colour and sweetness in various fruitflavoured yoghurts. **European Food Research and Technology,** v. 213, p. 99-103, 2001.

CARVALHO, M. P.; VENTURINI, C. E. P. e GALAN, V. B. As grandes oportunidades do mercado de queijos no Brasil. Disponível em: <http://www.milkpoint.com.br/industria/radar-tecnico/mercado/as-grandes-oportunidades-do-mercado-de-queijos-no-brasil-93301n.aspx>. Postado em 05/02/2015. Acessado em: 05 de dezembro de 2015.

- CORTEZ, M. A. S.; FURTADO, M. M.; GIGANTE, M. L.; KINDSTEDT, P. S. Effect of pH on characteristics of low-moisture Mozzarella cheese during refrigerated storage. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 73, n. 9, p. 443-448, 2008.
- DE RENSIS, C. M. V. B.; PETENATE, A. J.; VIOTTO, W. H. Caracterização físico-química, reológica e sensorial de queijos tipo Prato com teor reduzido de gordura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, p.488-494, 2009.
- DUANGMAL, K.; SAICHEUA, B.; SUEEPRASAN, S. Colour evaluation of freeze-dried roselle extract as a natural food colorant in a model system of a drink. **Food Science and Technology**, v. 41, p. 1437-1445, 2008.
- ERDEM, Y. K. Effect of ultrafiltration, fat reduction and salting on textural properties of white brined cheese. **Journal of Dairy Science**. Turkey, 2004.
- FAO, Food and Agriculture Organization. **Milk composition**. Disponível em: <<http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/milk-and-milk-products/milk-composition/en/#.U1-jQPldVmd>>. Acesso em 17/01/2014.
- FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M.V. **Estratégias de controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. Barueri : Manole, 2007. 314p.
- FOX, P. F. et al. **Fundamentals of cheese science**. Gaithersburg: Aspen, 2000.
- FOX PF. **Cheese: chemistry, physics and microbiology**, vol. 1: General Aspects. 3. ed. Londres: Elsevier; 2004.
- FURTADO, M. M. **A Arte e a Ciência do Queijo**. 2 Ed., Editora Globo S.A, São Paulo-SP, 1991.(Publicações Globo Rural).
- FURTADO, M. M. **Manual Prático da Mussarella (Pizza Cheese)**. Campinas: Master Graf, 1997.
- GUNASEKARAN, S.; AK, M.M. **Cheese Rheology and Texture**. CRC Press LLC, Florida, 2003, 637p.
- HAVEMOSE, M. S., WEISBJERG, M. R., BREDIE, W. L. P, NIELSEN, J. H. Influence of feeding different types of roughage on the oxidative stability of milk. **International Dairy Journal**, Barking, v. 14, p. 563-570, 2004.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção de leite do estado de Goiás ano de 2014**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=go&tema=pecuaria2014>. >. Acessado em: 27 de novembro de 2015a.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção de leite do estado de Goiás ano de 2014**. Disponível em:

- <<http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/temas.php?lang=&codmun=521880&idtema=147&search=goias|rio-verde|pecuaria-2014>>. Acessado em: 27 de novembro de 2015b.
- KINDSTEDT, P. S. Effect of manufacturing factors, composition and proteolysis on the functional characteristics of Mozzarella cheese. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 33, n. 2, p. 167-187, 1993.
- LOBATO-CALLEROS, C., REYES-HERNÁNDEZA, J., BERISTAINB, C. I., HORNELAS-URIBEC, Y., SÁNCHEZ-GARCÍAD, J. E., VERNON-CARTER, E. J. Microstructure and texture of white fresh cheese made with canola oil and whey protein concentrate in partial or total replacement of milk fat. **Food Research International**, Barking, v. 40, p. 529- 537, 2007.
- LUCEY, J. A., JOHNSON, M. E., HORNE, D.S. Invited review: perspectives on the basis of the rheology and texture properties of cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 86,p. 2725–2743, 2003.
- MARTIN, B. et al. Effects of grass-based diets on the content of micronutrients and fatty acids in bovine and caprine dairy products. In: LUSCHER, A. et al. (Ed.). **Land use systems in grassland dominated regions**. Zurich: VDR, p. 876-886, 2004.
- MACDOUGALL, D. B. **Color in food: improving quality**. New York: Boca Raton, p. 388, 2002.
- MCMAHON, D. J. e OBERG, C. J. Cheese: Pasta-filata cheeses: Low-moisture part-skim Mozzarella (Pizza cheese). Pages 737-744 in Encyclopedia of Dairy Sciences, 2 ed., Vol. 1, J. W. Fuquay, P. F. Fox and P. L. H. McSweeney, eds, Academic Press, San Diego, USA. 2011.
- MCSWEENEY, P. L. H. e SOUSA, M. J. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: a review. **Le Lait**, v. 80, p. 293 – 324, 2000.
- MUTHUKUMARAPPAN, K., WANG, Y.C., GUNASEKARAN, S. Estimating softening point of cheeses. **Journal of Dairy Science**. v. 82, p. 2280–2286, 1999.
- PAULA, J. C. J.; CARVALHO, A. F.; FURTADO, A. M. Princípios Básicos de Fabricação de Queijo: do histórico a salga. **Revista do Instituto do Laticínio "Candido Torres"**: Minas Gerais, v. 64, n. 367/368, p. 19 - 25, 2009.
- PERRY, K. S. P. Queijos: Aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, v. 27, p. 293-300, 2004.

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

PIHLANTO, A. Antioxidative peptides derived from milk proteins. **International Dairy Journal**, Barking, v. 16, p. 1306–1314, 2006.

PONS, M.; FISZMAN, S. M. Instrumental texture profile analysis with particular reference to gelled systems. **Journal of Texture Studies**, v. 27, n.6, p. 597-624, 1996.

RINALDI, M.; CHIAVARO, E.; MASSINI, R. Pecorino of Appennino Reggiano cheese: evaluation of ripening time using selected physical properties. **Italian Journal of Food Science**, v. 22, n. 1, 2010.

ROWNEY, M. ROUPAS, P., HICKEY, M. W., EVERETT, D. W. Factors affecting the functionality of Mozzarella cheese. **Australian Journal of Dairy Technology**, Highett, v. 54, p. 94 - 102, 1999.

ROWNEY, M. K., ROUPAS, P., HICKEY, M. W., EVERETT, D. W. The Effect of Compression, Stretching, and Cooking Temperature on Free Oil Formation in Mozzarella Curd. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 449–456, 2003.

RUDAN, M. A.; BARBANO, D. M. A model of Mozzarella cheese melting and browning during pizza baking. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 8, p. 2312-2319, 1998.

VALLE, J.L E, CAMPOS, S. D. S., YOTSUYANAGI, K., SOUZA, G. Influência do teor de gordura nas propriedades funcionais do queijo tipo mozzarella. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n.4, p. 669-673, 2004.

WALSTRA, P. On the stability of casein micelles. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 73, p. 1965-1979, 1990.

OBJETIVOS GERAIS

Avaliar as características microbiológicas, físico-químicas e funcionais dos queijos Muçarela durante sua vida de prateleira.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a qualidade dos queijos Muçarela, em relação ao número mais provável de coliformes totais, termotolerantes, microrganismos psicrotóxicos totais e proteolíticos, a cada 20 dias, durante 60 dias de armazenamento.
- Avaliar a qualidade físico-química dos queijos Muçarela em relação às características de pH, acidez titulável, umidade, cinzas, cloretos, gordura, gordura no extrato seco, proteína, índice de extensão e profundidade proteolítica, a cada 20 dias, durante 60 dias de armazenamento.
- Investigar as características funcionais de capacidade de derretimento, óleo livre, cor e textura em queijos Muçarela, a cada 20 dias, durante 60 dias de armazenamento.

CAPÍTULO I

INDICADORES DE QUALIDADE EM QUEIJO MUÇARELA DURANTE ARMAZENAMENTO

RESUMO

Este estudo foi desenvolvido para avaliar o comportamento do queijo Muçarela ao longo de 60 dias de armazenamento, a 7°C em BOD (câmara incubadora), em relação à qualidade microbiológica, composição físico-química, propriedades funcionais e perfil de textura. Os queijos foram adquiridos diretamente do laticínio, tendo sido feitas cinco coletas no período de duas semanas e em cada uma delas, adquiridas três barras de queijo. As barras pesavam quatro quilos e foram divididas em quatro partes iguais, embaladas a vácuo de forma asséptica e identificadas de acordo com o momento do estudo. As análises foram feitas no primeiro dia após a fabricação e nos intervalos de 20 dias após a colheita até 60 dias de armazenagem. Para avaliar se as mudanças ocorridas durante o tempo de armazenamento foram significativas, foi feita análise de variância, e as médias dos diferentes dias de armazenagem, comparadas pelo Teste de Tukey a 95% de confiança. Os resultados apontaram eficiente qualidade higiênico-sanitária na produção dos queijos. A composição físico-química foi influenciada pelo tempo de armazenamento apenas com relação ao conteúdo de pH e proteína. Já as propriedades funcionais dos queijos analisados sofreram influência do tempo de armazenagem, e apenas o teor de óleo livre se manteve estável. A cor dos queijos apresentou valores com tendência à coloração amarela durante todo o período de armazenagem. À medida que ocorreu aumento da proteólise primária e secundária, houve também aumento na capacidade de derretimento e alterações nos parâmetro de textura. O queijo Muçarela apresentou-se próprio para o consumo com período de estocagem de 60 dias a 7°C, sendo que as mudanças ocorridas são aceitáveis e esperadas pelo fato de os queijos serem comumente utilizados em pizzas.

Palavras – chave: Funcionalidade, proteólise, vida útil.

CHAPTER I

QUALITY INDICATORS FOR MOZZARELLA CHEESE DURING STORAGE

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the Mozzarella cheese behavior for sixty-days storage at 7 °C in Biochemical Oxygen Demand (BOD) incubator, as the microbiological quality, physical and chemical composition, functional properties, and texture profile. The cheeses were purchased directly from dairy products; five collections were carried out in two weeks and three cheeses bars were acquired in each collection. The bars weighing 4 kg were divided into four equal parts and vacuum packed aseptically and identified according to the study time. Analyzes were performed on the first day after manufacturing and in intervals of twenty days since harvesting up to sixty storage days. To evaluate whether the changes during the storage time were significant, analysis of variance was performed and the average of the different storage days were compared by Tukey test at 95% confidence. Results showed efficient sanitary conditions in cheese production. The physical and chemical composition was affected by storage time only with respect to pH and protein content. For the functional properties, the analyzed cheeses were affected by storage time and only the free oil content remained stable. The cheeses showed a tendency to yellowish color during all the storage period. As primary and secondary proteolysis was increasing, there was also an increase in the melting capacity and changes in texture parameters. The mozzarella cheese has shown to be appropriate for consumption with sixty-day storage at 7 °C, and the occurred changes are expected and acceptable, because of the cheeses are commonly used in pizzas.

Keywords: Functionality, proteolysis, *shelf life*.

INTRODUÇÃO

O queijo é um sistema complexo composto principalmente por proteínas, gorduras, minerais e água, obtidos por diferentes ingredientes, aquecimento e maturação, além dos coagulantes e sais. Durante a vida útil do queijo Muçarela, ocorre uma série de processos físico-químicos, bioquímicos e microbiológicos, que modificam a massa do queijo em sua composição, estrutura, consistência, sabor e cor.

Os principais microrganismos responsáveis pela deterioração e instabilidade de queijos Muçarela são os coliformes totais e termotolerantes (CANTONI et al., 2006) e psicrotróficos proteolíticos (BARUZZI et al., 2012). As bactérias psicrotróficas são capazes de produzir enzimas extracelulares tais como proteases, lípases e lecitinases, responsáveis por alterações bioquímicas no queijo como proteólise, e sua produção aumenta em função das condições de armazenagem (JONGHE et al., 2011).

A proteólise consiste na desestabilização das micelas de caseína pela liberação de peptídeos e aminoácidos, que se submetem a um processo catabólico, formando, assim, outros compostos voláteis tais como aminas, ácidos, tióis, ésteres e outros (GARCIA et al., 2012; STEELE et al., 2013; WOLF et al., 2010). O aumento do índice de maturação também se dá devido ao coagulante residual e à plasmina, que causam a proteólise no queijo Muçarela (OLIVARES et al., 2012).

A qualidade microbiológica e a composição físico-química de queijo Muçarela de alta umidade são fortemente afetadas pelo tempo de estocagem (RICCIARDI et al., 2015).

As características funcionais são importantes pela utilização do queijo Muçarela como ingrediente em pizza, sendo determinadas principalmente pela ação de quebra da matriz proteica. A excessiva ação proteolítica resulta em problemas de fatiamento porque o corpo do queijo fica muito macio pela perda progressiva da elasticidade, maior

derretimento, tendendo, porém, a aumentar a intensidade de liberação de gordura, dando origem ao *oilling off* (KINDSTEDT et al., 1993). Quanto mais caseína estiver intacta no queijo, maior é a dificuldade de fatiar ou picar, pois o queijo fica mais quebradiço, apresentando massa firme com pouca elasticidade, baixa capacidade de derretimento e textura rígida (ROIG et al., 2003).

Sua textura é influenciada pela composição química inicial do queijo e pelas condições de processamento utilizadas durante a fabricação (REN et al., 2013). É importante ter um controle adequado dos parâmetros que afetam a textura, pois, além de influenciar diretamente na qualidade e satisfação do consumidor, esses parâmetros podem influenciar na produção desde queijos mais macios até queijos mais duros para diferentes tipos de consumos e de mercados consumidores (PIAZZON-GOMES et al., 2010).

Entender os fatores que determinam as características do queijo Muçarela é importante para que os fabricantes tenham conhecimento das alterações que se sucedem durante a vida útil do queijo mantido sob refrigeração, para melhor atender às exigências de seus clientes. O objetivo deste estudo foi investigar o comportamento do queijo Muçarela, ao longo de 601 dias de armazenamento, a 7°C em BOD, quanto à qualidade microbiológica, composição físico-química, propriedades funcionais e perfil de textura.

MATERIAL E MÉTODOS

Os queijos Muçarela amostrados neste estudo foram obtidos em uma indústria de laticínios situada no município de Rio Verde, estado de Goiás. As análises de plataforma do leite cru refrigerado foram feitas no laticínio, conforme Instrução Normativa 62, de 2011. Posteriormente, a matéria-prima foi enviada para a produção do queijo Muçarela. Foram feitas cinco coletas, tendo sido amostrados em cada uma delas três queijos em barras com quatro quilos cada. Essas barras foram divididas assepticamente em quatro partes, referentes aos dias de análise, e embaladas a vácuo em sacos de polietileno, no próprio laticínio. As amostras foram transportadas em caixa isotérmica até o Laboratório de Físico-Química de Leites e Derivados e armazenadas por 60 dias a 7 °C em estufa BOD LimaTec LT 320. Dentro do intervalo de 20 dias (0, 20, 40 e 60) de armazenamento, as amostras de queijo foram analisadas quanto ao número mais provável de coliformes totais e termotolerantes, psicrotróficos totais e psicrotróficos proteolíticos, pH, acidez titulável, extrato seco total, cinzas, cloretos, gordura, gordura no extrato seco, proteína, proteólise, derretimento, óleo livre, cor e textura. As análises foram feitas nos Laboratórios de Físico-Química de Leite e Derivados, Microbiologia de Alimentos, Pós-Colheita de Produtos Vegetais e Nutrição Animal, do Instituto Federal Goiano-Campus Rio Verde.

1. Análises microbiológicas

Assepticamente, 25 gramas de queijo Muçarela foram pesados, dispostos em 225 mL de água peptonada a 0,1 % e homogeneizados em homogeneizador de amostras microbianas, tipo Stomarc Marconi LE4S. Após a homogeneização, obteve-se a diluição inicial 10^{-1} e, a seguir, foram preparadas diluições 10^{-2} e 10^{-3} , empregando-se o mesmo diluente (BRASIL, 2003).

1.1. Número Mais Provável de coliformes totais e coliformes termotolerantes

Para a avaliação microbiológica do queijo Muçarela, foram feitas análises de coliformes totais a 35°C e coliformes termotolerantes a 45°C para verificar a qualidade do produto, estimando a densidade de microrganismos viáveis presentes na amostra. Os dados foram representados em média pelo número mais provável por grama de amostra (NMP/g) (BRASIL, 2003).

1.2. Contagem microrganismos psicrotróficos e psicrotróficos proteolíticos

As bactérias psicrotróficas totais foram determinadas, adicionando 1 mL da diluição 10^{-3} em placas com Plate Count Agar (PCA), incubando-as a 7 °C em estufa BOD LimaTec LT 320 por 10 dias, tendo os resultados sido expressos em UFC/g.

1.3. Contagem de psicrotróficos proteolíticos

Para determinação de microrganismos psicrotróficos proteolíticos, foram adicionados 0,1mL da diluição 10^{-3} em placas de Petri esterilizadas e 15 a 17 mL de ágar leite (ágar padrão acrescido de 10% de leite em pó desnatado reconstituído a 10%) preparado recentemente, fundido e solidificado em temperatura ambiente. As placas foram incubadas a 21°C/72 horas conforme MARSHALL (1992). As colônias de microrganismos psicrotróficos proteolíticos se apresentaram rodeadas por uma zona clara como resultado da conversão da caseína em compostos nitrogenados solúveis. Como o meio é opaco, utilizou-se um precipitante químico (ácido acético a 10%) para detectar a proteólise, e assim, confirmar se as zonas claras eram causadas por proteólise ou pela formação de ácidos devido à fermentação de carboidratos. Efetuou-se a contagem de colônias que tinham halo transparente ao redor e calculou-se o número de UFC/g. As análises microbiológicas foram feitas em duas repetições, em triplicata.

2. Análises físico-químicas

Foram feitas duas repetições em triplicata para cada análise durante os dias de armazenamento.

2.1. pH

Foram pesados 10g de queijo previamente triturados em becker de 100mL, após, foram adicionados 50 mL de água morna, com posterior homogeneização e filtragem da mistura e aferição em pHmetro LUCA 210P, previamente calibrado BRASIL (2006).

2.2. Acidez Titulável

Foram pesados 10g de queijo previamente triturados em becker de 100mL, após, foram adicionados 50 mL de água morna, tendo a mistura sido agitada até a dissolução do queijo e, posteriormente, filtrada. Foi adicionada à solução fenolftaleína a 1% e, posteriormente, titulada a amostra com solução de hidróxido de sódio 0,1N até coloração rósea persistente por 30 segundos. Os resultados foram expressos em g ácido láctico/100g. A acidez foi calculada pela equação 1, conforme Brasil (2006).

$$\text{Ácido láctico} = \frac{V \times f \times 100}{m} \quad (\text{Equação 1})$$

Em que:

V = volume da solução de hidróxido de sódio 0,1 N gasto na titulação, em mL;

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio 0,1 N;

0,9 = fator de conversão do ácido láctico; e

m = massa da amostra, em gramas.

2.3. Umidade

Foram pesados 5g de queijo previamente triturados em cadinhos de porcelana, secos em estufa Nova Ética 400/ND a 105°C e resfriados em dessecador. Esses cadinhos foram levados para estufa a 105°C até peso constante. Após a análise, a umidade foi calculada pela equação 2, conforme Brasil (2006).

$$\text{Umidade} = \frac{100 \times m}{m'} \quad (\text{Equação 2})$$

Em que:

m = perda de massa em gramas; e

m' = massa da amostra em gramas.

2.4 Resíduo Mineral Fixo (cinzas)

Foram pesados 5g de queijo previamente ralado, em cadinhos de porcelana, secos em estufa a 105°C e resfriados em dessecador. Os cadinhos com as amostras já seca foram colocados na mufla a 550°C até completa incineração. Os cadinhos com as cinzas foram pesados, e o teor de cinza, calculado pela equação 3, conforme Brasil (2006).

$$\text{Cinza} = \frac{(m_2 - m_1) \times 100}{m_0} \quad (\text{Equação 3})$$

Em que:

m_2 = massa do cadinho com amostra após incineração, em gramas;

m_1 = massa do cadinho vazio, em gramas; e

m_0 = massa da amostra, em gramas.

2.5. Cloretos

O resíduo da cinza foi colocado em béquer e adicionados 50 mL de água morna. Foi adicionado 1 mL de solução de cromato de potássio a 5% e titulado com nitrato de prata 0,1N até coloração vermelho tijolo. O teor de cloretos foi calculado pela equação 4, conforme Brasil (2006).

$$\text{Cloretos} = \frac{V \times f \times N \times 0,0585 \times 100}{m} \quad (\text{Equação 4})$$

Em que:

V = volume da solução de nitrato de prata 0,1 N gasto na titulação em mL;

f = fator de correção da solução de nitrato de prata 0,1 N;

m = massa da amostra em gramas;

N = normalidade da solução de nitrato de prata 0,1 N; e

0,0585 = miliequivalente-grama do cloreto de sódio.

2.6. Gordura

Foi pesado em béquer 1g de queijo previamente triturado e adicionados 10 mL de solução de ácido sulfúrico de densidade 1,605. As amostras foram aquecidas a 65°C em banho-maria e homogeneizadas até completa dissolução. Posteriormente, foi transferido

para butirômetro de Gerber para leite, o béquer foi lavado duas vezes com 10 mL de solução de ácido sulfúrico, totalizando 20 mL de ácido, e foi adicionado 1mL de álcool isoamílico em cada butirômetro. Posteriormente, foram fechados com rolhaa rolha, centrifugados a 1200 rpm por 5 minutos, levados novamente para banho-maria a 65°C por mais 10 minutos e feita a leitura dos butirômetros. Após a análise, a gordura foi calculada pela equação 5, conforme Brasil (2006).

$$\text{Gordura} = \frac{L \times 11,33}{m} \quad (\text{Equação 5})$$

Em que:

L = leitura no butirômetro;

11,33 = massa em gramas do leite; e

m = massa da amostra, em gramas.

2.7. Gordura no Extrato Seco (GES)

A determinação do teor de gordura no extrato seco foi feita de modo indireto pela razão entre o teor de gordura e o teor de extrato seco total do queijo, a equação 6, conforme Brasil (2006).

$$\text{Gordura no extrato seco} = \frac{\text{Gordura}}{\text{Extrato Seco Total}} \times 100 \quad (\text{Equação 6})$$

2.8. Proteína

Em tubo de Kjeldahl, 0,25 g de amostra previamente ralada foi pesada, adicionados 7 mL de ácido sulfúrico PA e 2,5 g de mistura catalítica. As amostras foram colocadas em bloco digestor, que foi aquecido à temperatura de 400°C. Quando as amostras apresentaram coloração azul-esverdeada límpida, elas foram retiradas do bloco digestor. Após, foram adicionados 10 mL de água destilada. Os tubos foram acoplados ao destilador, juntamente com um erlenmeyer contendo 12 mL de solução de ácido bórico a 4% com indicador misto. Foram coletados 125 mL da amostra destilada. Posteriormente, esta amostra foi titulada com ácido clorídrico 0,1N até coloração rósea, conforme Brasil (2006).

Após a análise, o nitrogênio total foi calculado pela da equação 7 e a proteína, pela equação 8.

$$\text{Nitrogênio Total} = \frac{V \times N \times f \times 0,014 \times 100}{m} \quad (\text{Equação 7})$$

$$\text{Proteína} = \text{Nitrogênio total} \times F \quad (\text{Equação 8})$$

Em que:

V = volume da solução de ácido clorídrico 0,1 N gasto na titulação em mL;

N = normalidade teórica da solução de ácido clorídrico 0,1 N;

f = fator de correção da solução de ácido clorídrico 0,1 N;

m = massa da amostra em gramas; e

F = fator de conversão da relação nitrogênio/proteína = 6,38.

2.9. Índice de extensão da proteólise e índice de profundidade da proteólise

O índice de extensão da proteólise (IEP) e o índice de profundidade da proteólise (IPP) do queijo foram calculados usando o nitrogênio total, nitrogênio solúvel em pH 4,6, e nitrogênio solúvel em ácido tricloroacético (TCA) a 12% (IPP) (AOAC, 2010 e IDF, 2014).

Para a realização da análise dos índices de extensão e profundidade da proteólise, foram pesados 10 g em béquer do queijo triturado em processador, adicionados 80 mL de água destilada a 40°C - 45°C e 40 mL de solução de citrato de sódio 0,5 mol/L, posteriormente liquidificado por sete minutos. Esperou-se o resíduo de espuma desaparecer e se transferiu para um balão volumétrico de 200 mL, tendo sido feitas várias lavagens com pequenos volumes de água destilada até completar o menisco.

Com a amostra preparada, foi feita a determinação do nitrogênio solúvel em pH 4,6 e do nitrogênio solúvel em ácido tricloroacético (TCA) 12%.

Para a determinação de nitrogênio solúvel em pH 4,6 foram medidos 100 mL da solução previamente preparada, que foi transferida para um béquer de 250 mL. Foram adicionados 10 mL de ácido clorídrico 1,41 mol/L, depois de 5 minutos, foram acrescentados 15 mL de água destilada, e se filtrou em papel filtro. Com esta solução, foi feita a análise de nitrogênio pelo método de micro Kjeldahl.

Para a determinação do nitrogênio solúvel em ácido tricloroacético 12%, foram medidos 50 mL da solução previamente preparada, que foi transferida para um béquer de 250 mL. Foram adicionados 50 mL de solução de ácido tricloroacético 24% (m/v) e depois de 15 minutos, a solução foi filtrada em papel de filtro. Com esta solução, foi feita a análise de nitrogênio pelo método de micro Kjeldahl.

A proteólise nos queijos Muçarela foi avaliada com base nos índices de extensão (IEP) e profundidade (IPP) de proteólise, conforme equações 9 e 10.

(Equação 9)

$$\text{IEP (\%)} = \frac{\text{Nitrogênio não caseíco (\%)}}{\text{Nitrogênio Total (\%)}} \times 100$$

(Equação 10)

$$\text{IPP (\%)} = \frac{\text{Nitrogênio não proteico (\%)}}{\text{Nitrogênio Total (\%)}} \times 100$$

3. Propriedades funcionais

3.1. Capacidade de derretimento

A capacidade de derretimento dos queijos Muçarela foi determinada através da adaptação do método de Schreibers, para queijo processado, descrito por KOSIKOWSKI e MISTRY (1997). A análise consistiu em fatiar a peça de queijo em 7 mm e, com o auxílio de um cortador, retirar estas fatias em cilindro de 36 mm de diâmetro. As placas já estavam devidamente marcadas com quatro linhas dispostas em ângulos de 45°. O diâmetro de cada amostra foi calculado como a média dos diâmetros, nas quatro direções, medidos antes e após o derretimento por 7 minutos em estufa Nova Ética 400/ND a 107°C. Tendo como referência os diâmetros médios, foi calculada a porcentagem de derretimento das fatias de queijo pela equação 11.

$$\% \text{ derretimento} = \frac{D_{\text{final}}^2 - D_{\text{inicial}}^2}{D_{\text{inicial}}^2} \times 100 \quad (\text{Equação 11})$$

Em que:

D_{inicial} = diâmetro inicial da amostra; e

D_{final} = diâmetro final da amostra.

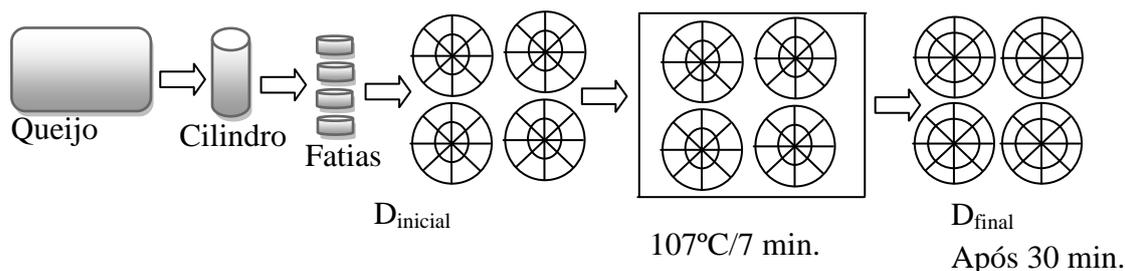


Figura 3. Esquema ilustrativo das etapas da análise de capacidade de derretimento.

3.2. Óleo livre

As análises foram feitas em triplicata, segundo método de KINDSTEDT & FOX (1991) modificado.

Foram pesados seis gramas da amostra em tubos de ensaio com tampa de rosca. Os tubos foram mergulhados em água fervente por quatro minutos e, em seguida, foram adicionados 10 mL de água acidificada com ácido clorídrico (pH final = 2,2) à temperatura de 60°C. Os tubos foram centrifugados em centrífuga de Gerber a 1200 rpm por cinco minutos. Após a centrifugação, foram adicionados 10 mL de água e metanol na proporção 1:1 (v/v) e os tubos, colocados em banho-maria por um minuto a 60°C. Foi feita novamente a centrifugação a 1200 rpm por dois minutos e se voltou para o banho-maria por dois minutos, quando foi feita a leitura da gordura suspensa no butirômetro.

Os resultados foram expressos em percentual de óleo livre pela média de gordura obtida na escala do butirômetro.

3.3. Cor

Para a análise da cor, foi utilizado colorímetro, marca HunterLab, Modelo ColorFlex EZ Spectrophotometer, operando no sistema CIE (L^* , a^* e b^*), que forneceu as coordenadas L^* , a^* e b^* . Com os valores de a^* e b^* , calculou-se o ângulo H_{ab} , que define a tonalidade da cor, e o chroma (C^*), que é o atributo que define a intensidade da cor (GRANATO e MASSON, 2010). As amostras foram cortadas em 2 cm³ e a leitura, feita com duas repetições em hexaplicata. Os dados obtidos foram substituídos nas equações 12 e 13 para calcular os valores de H_{ab} e C^* .

$$H_{ab} = \tan^{-1} (b^*/a^*) \quad (\text{Equação 12})$$

$$C^* = (a^2 + b^2)^{1/2} \quad (\text{Equação 13})$$

3.4. Perfil de textura

Foram feitos ensaios do perfil de textura (TPA) utilizando um Analisador de Textura CT3 Texture Analyzer – BROOKFIELD, equipado com uma célula de carga de 25 kg. As amostras de queijos foram cortadas em 20mm³, mantidas em BOD LimaTec LT 320 a 7°C e retiradas apenas no momento das análises. Os parâmetros definidos para esta análise foram perfil de textura, com velocidade pré-teste: 20 mm/s; velocidade de teste: 1,0 mm/s; velocidade de pós-teste: 4,5 mm/s; distância de compressão: 9 mm; força de gatilho (*trigger*): 4,0 g; e probe (sonda) tipo cilindro em acrílico claro de 38,1 mm de diâmetro. O texturômetro trabalhou conectado a um computador e os dados coletados foram processados e apresentados pelo programa “TexturePro CT”. As amostras foram submetidas a duas repetições em decuplicata, e os atributos analisados foram dureza, adesividade, coesividade, elasticidade, gomosidade e mastigabilidade. Os resultados obtidos foram utilizados para a construção da tabela, apresentando variáveis em função do tempo de armazenagem dos queijos Muçarela.

4. Análise estatística

A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para determinar o efeito do tempo de maturação sobre as variáveis de resposta de queijos mantidos sob refrigeração. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância, analisadas em intervalos regulares de 20 dias durante o armazenamento, utilizando o programa estatístico R (R Development Core Team, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os ensaios microbiológicos referentes ao número mais provável de coliformes totais e coliformes termotolerantes estão apresentados na Tabela 1, tendo revelado eficiência na qualidade higiênico-sanitária durante todo o processo de produção dos queijos.

Tabela 1. Valores médios da qualidade microbiológica de queijo Muçarela quanto ao número mais provável de coliformes totais e termotolerantes.

Dias	Coliformes (NMP.g ⁻¹)	
	Totais	Termotolerantes
0	33,2	30,1
20	5,7	3,1
40	3,0	3,0
60	7,6	4,5

NMP: Número Mais Provável.

As análises microbiológicas para coliformes totais e termotolerantes mostraram que a fabricação dos queijos Muçarela está de acordo com os Padrões Microbiológicos vigentes, Resolução da Diretoria Colegiada nº12, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que determina que os queijos de alta umidade (46 a 55%) devem apresentar tolerância máxima para amostras indicativas de 10^4 NMP.g⁻¹ para coliformes a 30°C e de 5×10^3 NMP.g⁻¹ para coliformes a 45°C (BRASIL, 2001).

A redução dos coliformes ocorre em virtude da escassez de substrato e queda do pH durante a armazenagem. A presença de coliformes nos alimentos indica que pode ter ocorrido contaminação durante o processo de fabricação ou após o processamento (SANTOS-KOELLN et al., 2009). As amostras de queijo Muçarela estavam próprias para

o consumo durante o período em que transcorreram as análises, pois os NMP.g⁻¹ de coliformes totais e termotolerantes estavam abaixo do valor máximo descrito na legislação.

Os queijos têm alto valor nutricional, o que favorece a proliferação de microrganismos, que podem levar a alterações nas características do produto (MARINHEIRO et al., 2015). A estocagem por períodos longos pode afetar negativamente a qualidade dos queijos. O desenvolvimento de microrganismos psicotróficos totais e proteolíticos altera as propriedades dos queijos ao longo da vida útil. A Tabela 2 mostra a contagem de microrganismos psicotróficos e psicotróficos proteolíticos expresso em UFC.g⁻¹ ao longo de 60 dias

Tabela 2. Contagem microbiana de psicotróficos totais e proteolíticos ao longo de 60 dias de armazenamento do queijo Muçarela.

Dias	Psicotróficos (UFC.g ⁻¹)	
	Totais	Proteolíticos
0	1,90x10 ³	2,09x10 ³
20	6,80x10 ²	1,29x10 ³
40	1,50x10 ³	4,90x10 ³
60	2,75x10 ³	9,12x10 ³

UFC: Unidade Formadora de Colônia.

Valores médios com letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas (P < 0,05).

A deterioração em queijos Muçarela é frequentemente causada por bactérias psicotróficas proteolíticas (BARUZZI et al., 2012).

Os resultados da contagem de microrganismos psicotróficos totais e psicotróficos proteolíticos não sofreram efeito significativo em função de dias de armazenamento, porém apresentaram aumento médio da população. O maior valor encontrado se refere ao último dia de armazenamento, de 2,75x10³ UFC.g⁻¹ para psicotróficos totais e de 9,12x10³ UFC.g⁻¹ para psicotróficos proteolíticos, isto pelo fato de o armazenamento refrigerado favorecer o crescimento de psicotróficos.

Os valores encontrados no presente estudo são menores que os descritos por Pires et al. (2009), que constataram valor inicial de 4,36x10⁴ UFC.g⁻¹ de bactérias psicotróficas aeróbias totais em queijo Muçarela, sendo a baixa contagem justificada pelas condições de fabricação do produto em razão da eficiência na etapa de pasteurização e da aplicação do regulamento de Boas Práticas de Fabricação em toda a linha de produção. Assim, os queijos mantêm preservadas suas características durante o armazenamento.

A Tabela 3 mostra o efeito do tempo de armazenamento sobre as propriedades físico-químicas do queijo Muçarela em diferentes períodos de armazenamento.

Tabela 3. Composição físico-química de queijo Muçarela durante período de estocagem.

	Período de estocagem (dias)				CV%
	0	20	40	60	
pH	5,60 ± 0,10 ^{ab}	5,61 ± 0,08 ^a	5,58 ± 0,12 ^{ab}	5,52 ± 0,16 ^b	2,11
AT*	0,17 ± 0,05 ^a	0,17 ± 0,03 ^a	0,18 ± 0,06 ^a	0,17 ± 0,07 ^a	32,14
Umidade*	47,03 ± 0,66 ^a	47,21 ± 0,69 ^a	47,04 ± 1,85 ^a	47,24 ± 0,79 ^a	2,11
Cinzas*	3,90 ± 0,25 ^a	3,95 ± 0,34 ^a	3,96 ± 0,12 ^a	3,94 ± 0,18 ^a	6,02
Cloretos*	1,25 ± 0,28 ^a	1,46 ± 0,10 ^a	1,37 ± 0,05 ^a	1,40 ± 0,12 ^a	11,67
Gordura*	20,76 ± 1,65 ^a	20,15 ± 1,85 ^a	20,14 ± 1,07 ^a	20,79 ± 1,02 ^a	7,06
GES*	39,21 ± 2,88 ^a	38,16 ± 3,42 ^a	38,08 ± 2,46 ^a	39,42 ± 2,08 ^a	7,11
Proteína*	27,54 ± 1,37 ^a	25,05 ± 1,37 ^c	25,57 ± 0,93 ^b	26,35 ± 3,11 ^a	7,23
IEP**	0,22 ± 0,11 ^c	0,27 ± 0,08 ^{bc}	0,29 ± 0,08 ^b	0,67 ± 0,14 ^a	29,24
IPP**	0,06 ± 0,06 ^b	0,03 ± 0,03 ^b	0,03 ± 0,03 ^b	0,35 ± 0,10 ^a	48,77

AT: Acidez titulável, GES: Gordura no Extrato Seco, IEP: Índice de Extensão Proteolítica, IPP: Índice de Profundidade Proteolítica, CV: Coeficiente de variação, *: g.100g⁻¹, **: %.

Valores médios com letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (P < 0,05).

Relacionando o dia 20 com o último dia de armazenamento, nota-se decréscimo significativo de 1,61 % no valor de pH do queijo, em virtude da degradação da lactose residual e da produção de ácido láctico pelas bactéria lácticas, mas, quando comparado com o dia 0 e 60, não houve diferença significativa.

Estudos mostram que o pH do queijo Muçarela pode aumentar ligeiramente durante o amadurecimento devido à formação de compostos nitrogenados alcalinos (FARKYE E FOX, 1990), resultando num pH estável. O mesmo ocorreu no estudo desenvolvido por Olivares et al. (2012), que não encontraram diferença significativa durante 57 dias de armazenamento refrigerado de queijo Muçarela embalado a vácuo.

Os valores de acidez titulável nas amostras de queijo foram considerados estatisticamente iguais (P < 0,05), em virtude da estabilização do pH. Deve também ser levado em consideração o fato de a cultura láctea utilizada ser composta por *Streptococcus thermophilus*, que apresenta baixa intensidade na produção de ácido durante o armazenamento (HASSAN E FRANK, 2001), mantendo a acidez titulável próxima de 0,17g ácido láctico.100g⁻¹.

O queijo Muçarela analisado apresentou valores para umidade variando de 47,03 a 47,24 g.100g⁻¹, sendo classificado como queijo de alta umidade (46 – 54,9%), conforme o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Queijos (BRASIL, 1996). O conteúdo de umidade da Muçarela se manteve constante durante os dias de análise, em razão de o método de embalagem ser a vácuo, que atua como barreira contra gás, além da baixa permeabilidade ao vapor d'água. Estudo avaliando o armazenamento de queijo Muçarela em embalagem a vácuo também não apresentou diferença significativa durante

cinquenta e sete dias de armazenamento, com média de $49,63 \text{ g.100g}^{-1}$ de umidade (OLIVARES et al., 2012).

Os valores para cinzas variaram de 3,90 a $3,96 \text{ g.100g}^{-1}$, não apresentando diferença significativa. Os teores de cinza estão próximos de $3,80 \text{ g.100g}^{-1}$, determinados pelo NEPA (Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação) em 2011 para queijo Muçarela. Yagoub et al. (2015) afirmaram que o aumento no teor de cinzas no queijo Muçarela durante o armazenamento pode ser atribuído à diminuição do teor de umidade. Como a umidade não se alterou significativamente durante o armazenamento, o teor de cinzas se manteve constante, não apresentando alteração mineral do queijo no decorrer dos 60 dias de armazenamento.

As amostras analisadas apresentaram quantidade de cloretos variando de 1,25 a $1,46 \text{ g.100g}^{-1}$, em consonância com o encontrado por PERRY (2004), visto que os queijos devem apresentar, em sua maioria, 0,5 a $2,0 \text{ g.100g}^{-1}$ de NaCl.

Segundo o Informe Técnico n. 54/2013 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o teor médio de sódio encontrado em queijos Muçarela comercializados em dez estados foi de 0,59 g/100 g com resultados variando entre 0,25 g e 1,14 g. Esses resultados destacam a importância das ações que estão sendo desenvolvidas pelo governo em conjunto com as associações das indústrias para a redução do teor de sódio nos alimentos processados (ANVISA, 2013).

A adição excessiva de sódio nos alimentos causa hipertensão arterial e a maior parte do sódio na dieta deriva de alimentos processados, principalmente na forma de cloreto de sódio (KHETRA et al., 2015). Entretanto, o cloreto de sódio no alimento é capaz de proporcionar o sabor, auxiliar no controle microbiológico e no aumento do *shelf life* do produto acabado.

Durante o *shelf life* de 60 dias, os queijos apresentaram valores de 20,79 a 20,14 g.100g^{-1} para gordura e de 38,08 a $39,42 \text{ g.100g}^{-1}$ para gordura no extrato seco, não apresentando diferença significativa. Conforme Portaria n.º. 146/96 (BRASIL, 1996), os queijos são classificados de acordo com o conteúdo de matéria gorda, como semigordo (25,0 – 44,9%), que é característico de queijos Muçarela.

Segundo o relatório sobre análise de gordura e colesterol em queijos feito pelo INMETRO, os queijos Muçarela apresentaram $27,70 \text{ g.100g}^{-1}$ de gordura, $99,87 \text{ mg.100g}^{-1}$ de colesterol, porém maiores teores de Ômega 3 ($0,06 \text{ mg.100g}^{-1}$) e ômega 6 ($0,52 \text{ mg.100g}^{-1}$) em relação aos queijos analisados. Diferentes estudos internacionais recentes

não comprovam a teoria de que as gorduras presentes no queijo podem ser causadoras ou estimuladoras de aumento de colesterol ou de doenças coronárias (INMETRO, 2011).

A gordura e a gordura no extrato seco em queijos Muçarela dependem principalmente da padronização da matéria-prima. No laticínio em estudo, o leite utilizado no processamento de queijo Muçarela é padronizado com 2,5 a 3,0 % de gordura. Valle et al. (2004) concluíram que a maioria dos parâmetros de textura de queijo Muçarela apresentou melhor performance quando o teor de gordura no leite foi padronizado em 2,5%, tornando importante a padronização da matéria-prima para ter queijos Muçarela uniformizados.

Os valores de proteína nos dias 20 e 40 apresentaram diferença significativa quando comparados com os demais dias de análise. O dia primeiro e o sexagésimo (27,54 e 26,35 g.100g⁻¹), quando comparados, não foram considerados estatisticamente diferentes ($p < 0,05$), isso devido às condições de armazenamento, como baixa temperatura e tipo de embalagem, impedindo a contaminação e a deterioração do queijo. A média do teor de proteína encontrado por Olivares et al. (2012) foi de 23,33 g.100g⁻¹, não apresentando diferença significativa durante o armazenamento. A diferença do teor de proteína entre o autor citado e o presente trabalho pode ser decorrente da não padronização do produto, da qualidade da matéria-prima ou do teor de umidade.

O índice de extensão proteolítica (IEP) está relacionado com as proteinases naturais do leite e do agente coagulante, que degradam as proteínas em peptídeos de alto peso molecular. A média do IEP aumentou significativamente ($p < 0,05$) com o transcorrer do tempo de armazenamento refrigerado, tendo variado de 0,22% para 0,67%, respectivamente (Tabela 3). UBALDO et al. (2015) também encontraram aumento significativo com o tempo de armazenamento de 60 dias, variando de 6,96 para 12,32. Com o passar dos dias, a hidrólise pode continuar aumentando, visto que o estudo apresentou valores menores que os descritos na literatura, as alterações nas suas características funcionais e sensoriais também serão menores.

No decurso de 60 dias de armazenamento, o índice de profundidade proteolítica (IPP) passou de 0,06% para 0,35%, sendo o nível mais elevado estatisticamente no último dia de análise, pelo acúmulo de aminoácidos provenientes da hidrólise de peptídeos pelas proteases de origem microbiana. O IPP em queijos Muçarela produzidos com diferente contagem de células somáticas utilizando cultura starter (TCC-20 – *Streptococcus salivarius ssp.*, *Thermophilus* e *Lactobacillus helveticus*) também apresentou aumento

significativo com o tempo de armazenamento de 60 dias, variando de 3,38 a 6,71% (UBALDO et al., 2015).

Os valores encontrados neste estudo para os índices de proteólise são menores que os descritos na literatura, pelo fato de a indústria em estudo utilizar apenas *Streptococcus thermophilus*, que apresenta baixa atividade proteolítica (HASSAN E FRANK, 2001), assim os queijos conseguem se manter adequados para o consumo durante seis meses de armazenamento. A maioria das indústrias utiliza cultura *starter*, que é composta de bactérias, principalmente *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus helveticus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, utilizadas de forma combinada ou isolada. Silva et al. (2006) avaliaram o efeito da adição de *Streptococcus thermophilus* como cultura adjunta e verificaram que os índices de profundidade e extensão da maturação foram menores, confirmando que as alterações do queijo foram pequenas durante o armazenamento quando comparadas com os demais estudos, mantendo as características desejáveis por maior período de armazenamento.

O queijo Muçarela é usado principalmente em pizza, devendo apresentar propriedades funcionais específicas, submetido ou não ao aquecimento. As características funcionais do queijo Muçarela estão apresentadas na Tabela 4 e mostram influências estatísticas em função do tempo de armazenamento a 5% de significância.

Tabela 4. Características funcionais de queijo Muçarela em função do tempo de armazenamento sob refrigeração.

	Período de estocagem (dias)				CV%
	0	20	40	60	
Derretimento (%)	9,62 ± 0,80 ^d	10,32 ± 0,77 ^c	11,42 ± 1,10 ^b	12,16 ± 0,97 ^a	8,47
Óleo livre (%)	2,67 ± 0,69 ^a	2,37 ± 0,50 ^a	2,54 ± 0,98 ^a	2,51 ± 0,46 ^a	27,46
L*	60,39 ± 4,74 ^b	64,12 ± 2,70 ^a	60,75 ± 5,15 ^b	53,98 ± 3,86 ^c	7,05
C*	18,29 ± 1,29 ^a	18,71 ± 2,22 ^a	18,21 ± 1,48 ^a	16,46 ± 1,13 ^b	8,83
H _{ab}	87,66 ± 0,81 ^a	86,74 ± 0,59 ^c	87,35 ± 0,52 ^b	87,43 ± 0,64 ^{ab}	0,74

L*: Luminosidades, C*: Cromo, h_{ab}: tonalidade, CV: coeficiente de variação.

Os valores médios com letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas (P < 0,05).

A capacidade de derretimento da Muçarela aumentou significativamente ao longo do período de estocagem. No dia 0 de armazenamento, o queijo Muçarela apresentava capacidade de derretimento de 9,62%, e após 60 dias houve aumento de 2,54%. Esse aumento está relacionado proporcionalmente com o incremento do índice de extensão da proteólise durante o armazenamento. A hidrólise das proteínas enfraquece a matriz proteica, fazendo com que o queijo perca a capacidade de manter sua estrutura durante o

aquecimento, assim o derretimento tende a ser maior quando a degradação das proteínas aumenta (ROIG et al., 2003). Essa evolução na capacidade de derretimento se faz importante em razão de o queijo Muçarela ser o principal ingrediente utilizado na elaboração de pizzas, apresentando característica sensorial desejada pelos consumidores.

As mudanças ocorridas durante o armazenamento não foram significativas ($p < 0,05$) quanto à proporção de óleo livre, apresentando valores entre 2,67% e 2,37%. A liberação de óleo está relacionada com a integridade da matriz proteica e com o teor de gordura do queijo, pois quanto mais maturado o queijo, maior será a liberação de óleo livre (CHIESA et al., 2011). Visto o queijo Muçarela em estudo ser considerado semigordo e ter apresentado baixa atividade proteolítica, o aumento significativo da proteólise no último dia de armazenamento não foi suficiente para degradar a matriz proteica do queijo e aumentar a liberação de óleo livre.

Os parâmetros de cor do queijo Muçarela apresentados na Tabela 4 se alteraram significativamente durante o armazenamento refrigerado, em função do pequeno aumento no teor de gordura no último dia de armazenagem.

O parâmetro Luminosidade (L^*), que define o produto entre a cor preta (0) e branca (100) (GRANATO; MASSON, 2010), teve diminuição significativa ($p < 0,05$) quando comparado o primeiro com o último dia de análise, variando de 60,39 a 53,98. ZHONG et al. (2014) encontraram em queijo Muçarela valores variando de 76,81 a 57,67 durante 14 dias de armazenamento. A diferença da luminosidade entre os trabalhos é explicada pelo tipo de leite utilizado na fabricação do queijo. Todavia, os queijos analisados indicaram tendência à coloração clara, a qual é desejada pelos consumidores.

O Croma (C^*) indica a intensidade ou pureza do tom, independentemente de quão clara ou escura seja a cor. Quanto maior seu valor, mais intensa é a cor, enquanto valores baixos indicam cor acinzentada (GRANATO; MASSON, 2010). O valor de Croma no dia um de armazenamento foi 18,29 e manteve-se constante até o quadragésimo dia de armazenamento, posteriormente apresentou queda significativa ($p < 0,05$) de 10% em virtude da menor luminosidade do produto. ZHONG et al. (2014), avaliando queijo Muçarela, encontraram média de 16,67 para Croma, próximo do descrito no presente estudo, requerido para queijos Muçarela.

O H_{ab} (ângulo de coloração) identifica cores como vermelha, verde, azul ou amarela. O ângulo de 90° representa a cor amarela que, no queijo, provém do pigmento caroteno presente no leite (GRANATO; MASSON, 2010; SILVA, 1997). Nos dias 20 e 40, houve diminuição significativa, porém quando comparado o dia inicial com o final, não

houve diferença ($p < 0,05$), tendo apresentado ângulo de tonalidade de 86,74 a 87,66 graus. Queijos frescos analisados por Zamora et al. (2011) apresentaram valores entre 89 e 94 e por Zhong et al. (2014) apresentaram 84,28 e 78,45 para a angulação de H_{ab} . O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de queijo Muçarela (BRASIL, 1996) especifica que a cor deve variar do branco ao amarelo, segundo o conteúdo de umidade, matéria gorda e grau de maturação, assim, os queijos se apresentaram conforme o descrito pela legislação e pela preferência dos consumidores.

A Tabela 5 mostra o teste de análise do perfil de textura de queijos Muçarela armazenados ao longo de 60 dias.

Tabela 5. Perfil de textura de queijo Muçarela após 0, 20, 40 e 60 dias de armazenamento.

	Período de estocagem (dias)				CV%
	0	20	40	60	
Dureza*	67,54 ± 15,82 ^a	61,32 ± 12,02 ^b	51,16 ± 9,75 ^c	47,43 ± 14,42 ^c	23,22
Adesividade**	2,76 ± 0,88 ^b	3,47 ± 0,10 ^a	2,96 ± 0,90 ^b	2,73 ± 0,67 ^b	29,25
Coesividade	0,61 ± 0,04 ^a	0,59 ± 0,03 ^b	0,61 ± 0,03 ^a	0,59 ± 0,03 ^b	5,78
Elasticidade***	7,09 ± 0,69 ^a	7,26 ± 0,50 ^a	7,14 ± 0,98 ^a	6,81 ± 0,46 ^a	22,51
Gomosidade*	40,73 ± 1,07 ^a	36,27 ± 2,45 ^b	30,93 ± 1,49 ^c	27,61 ± 0,89 ^d	21,91
Mastigabilidade**	288,41 ± 8,70 ^a	265,86 ± 7,32 ^a	219,27 ± 5,58 ^b	187,46 ± 7,74 ^c	31,81

Os valores médios com letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas ($P < 0,05$). *:Newton (N), **: miliJoules (mJ) e ***: milímetros (mm)

A dureza do queijo se refere à firmeza do alimento. Ao longo de 60 dias, o queijo Muçarela apresentou diminuição significativa na dureza de 29,77%, passando de 67,54N para 47,43N, em decorrência do enfraquecimento da matriz proteica do queijo pela ação do coagulante residual e de enzimas de origem microbiana, provocando aumento da proteólise (AYYASH e SHAH, 2011). Queijos avaliados por Zisu e Shah (2005) apresentaram queda em 60 dias de armazenamento, com valores entre 60N e 10N, apresentando maior degradação da matriz proteica quando comparados com o presente estudo.

A adesividade se refere à força requerida para remover o material que adere à boca durante o processo de mastigação, sendo que aos 20 dias de estocagem houve aumento significativo quando comprado aos demais dias. Observação semelhante foi relatada por Wadhvani et al. (2011), que afirmaram que durante o armazenamento a rede de caseína se enfraquece com o aumento da proteólise causada por coagulante residual no queijo, resultando numa textura menos firme e adesiva.

A coesividade é considerada a proporção pela qual um queijo pode ser deformado entre os dentes antes de se romper. Nos dias 0 e 40, os valores não diferiram significativamente e foram (0,61) maiores que nos dias 20 e 60 (0,59). Ren et al. (2013)

encontraram valores variando de 0,45 a 0,72 em função do genótipo K-caseína, valores próximos aos encontrados neste estudo. Essa alteração está relacionada principalmente com a umidade do queijo, Zisu e Shah (2005) relataram que o aumento da umidade e da suavidade dos queijos é responsável pela diminuição da coesividade.

O queijo Muçarela não mostrou redução significativa ($P < 0,05$) na elasticidade com o passar do tempo, mantendo assim o grau como o queijo volta à sua forma original depois da compressão entre os dentes. Os valores encontrados para elasticidade durante o armazenamento foram 7,09mm, 7,26mm, 7,14mm e 6,81mm. A pequena diminuição da elasticidade dos queijos durante a estocagem pode ser explicada pela diminuição da firmeza.

A gomosidade, força necessária para desintegrar a massa do queijo, obtida durante a mastigação, até que atinja o ponto de engolir, diminuiu ao longo de 60 dias, passando de 40,73N para 27,61N, assim como a mastigabilidade, que apresentou queda significativa de 100,95 mJ de energia requerida para desintegrar um alimento até o ponto de engolir. Ambas estão relacionadas com a dureza, pois quanto maior a degradação da rede proteica do queijo, menor a dureza e menos força é requerida para mastigar um alimento sólido até a deglutição.

CONCLUSÃO

O queijo Muçarela produzido em laticínio no município de Rio Verde se apresentou adequado para o consumo ao longo do período de armazenamento de 60 dias a 7°C, sendo as mudanças ocorridas aceitáveis e requeridas pelo fato de os queijos serem comumente utilizados em pizzas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC. Official Methods of Analysis. 18th Edition, Revision 3, Association of Official Analytical Chemists, Washington DC. 2010.
- AYYASH, M. M., SHAH, N. P. The effect of substitution of NaCl with KCl on chemical composition and functional properties of low-moisture Mozzarella cheese. **Journal of Dairy Science**. v. 94, p.3761–3768, 2011.
- BARUZZI, F.; LAGONIGRO, R.; QUINTIERI, L.; MOREA, M; CAPUTO, L. Occurrence of non-lactic acid bacteria populations involved in protein hydrolysis of cold-stored high moisture Mozzarella cheese. **Food Microbiology**, v. 30, p. 37–44, 2012.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146 de 07 de março de 1996. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Queijos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 11 de março de 1996.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução – RDC nº12 de 2 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 02 janeiro 2001.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria da Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Instrução Normativa 62, de 26 de agosto de 2003. **Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água**. Brasil, 2003.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 68 – Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para controle de leite e produtos lácteos. **Diário Oficial da União**. Brasil, 12 dezembro 2006.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Informe Técnico n. 54/2013: Teor de sódio nos alimentos processados, 2014**. Disponível em:

http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/8ab9538040695edd83fed3dc5a12ff52/INFO_RME+T%C3%89CNICO+JULHO+2013.pdf?MOD=AJPERES. Acessado em: 23/02/2016.

CANTONI, C.; SONCINI, G.; MILESI, S.; COCOLIN, L.; IACUMIN, L.; COMI, G. Colorazioni anomale e rigonfiamento di formaggi fusi e mozzarelle. **Industrie Alimentari**, v. 45, p. 276–281, 2006.

CHIESA, M. O., CAMISA, J., VIEIRA, A. T. B., SIVIERI, K., VIANNA, P. C. B., RENSIS, C. M. V. B. Avaliação da composição química, proteólise e propriedades funcionais do queijo Mussarela comercial com teor reduzido de gordura. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.66, nº 381, p. 28-33, 2011.

FARKYE NY; FOX PF. Objective indices of cheese ripening. *Trends Food Sci Technol*. v. 11, p. 37-40, 1990.

GARCIA, E. F., OLIVEIRA, M. E. G., QUEIROGA, R. C. R. E., MACHADO, T. A. D., & SOUZA, E. L. Development and quality of a Brazilian semi-hard goat cheese (coalho) with added probiotic lactic acid bacteria. **International Journal of Food Science and Nutrition**, v. 63, p. 947–956, 2012.

GRANATO, D.; MASSON, M. L. Instrumental color and sensory acceptance of soy-based emulsions: a response surface approach. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 4, p. 1090-1096, 2010.

HASSAN, A. N. FRANK, J. F. Starter cultures and their use. In: MARTH, E. H., STEELE, J. L. **Applied Dairy Microbiology**. 2 ed. New York: Marcel Decker, 2001.

IDF - International Dairy Federation. ISO 8968-1. IDF 020-1. Milk and Milk products: Determination of nitrogen content. Brussels: IDF, 2014.

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Relatório sobre análise de gordura e colesterol em queijos 2011**. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/gordura-colesterol-queijos.pdf>. Acessado em: 20/02/2016.

JONGHE, V.; COOREVITS, A.; VAN HOORDE, K.; MESSENS, W.; VAN LANDSCHOOT, A.; DE VOS, P.; HEYNDRIKX, M. Influence of storage conditions on the growth of *Pseudomonas* species in refrigerated raw milk. **Appl. Environ. Microbiol.** 77, 460-470, 2011.

KHETRA, Y., CHAVHAN, G. B., KANAWJIA, S. K., PURI, R. Storage changes in low sodium-processed Mozzarella cheese prepared using potassium-based emulsifying salts. **Dairy Sci. & Technol.** v. 95, p. 639–649, 2015.

- KINDSTEDT, P. S.; FOX, P. F. Modified Gerber test for free oil in melted Mozzarella cheese. **Journal of Food Science**, v. 56, n. 4, p. 1115- 1116, July-Aug.,1991.
- KINDSTEDT, P.S. Effect of manufacturing factors, composition and proteolysis on the functional characteristics of mozzarella cheese. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 33, p.167-187, 1993.
- KOSIKOWSKI, F.; MISTRY, V.V. 1997. **Cheese and fermented milk foods. Michigan: Edwards Brothers.** 323p, 1997.
- MARINHEIRO, M. F., GHIZZI, L. G., CERESER, N. D., LIMA, H. G., TIMM, C. D. Qualidade microbiológica de queijo Mussarela em peça e fatiado. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n. 3, p. 1329-1334, 2015
- MARSHALL RT. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 16th ed. APHA, Washington, D.C 1992.
- NEPA - Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação – Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO**, 2011.
- OLIVARES, M. L.; SIHUFE, G. A.; CAPRA, M. L.; RUBIOLO, A. C.; ZORRILLA, S. E. Effect of protective atmospheres on physicochemical, microbiological and rheological characteristics of sliced Mozzarella cheese. **LWT - Food Science and Technology**, v. 47, p. 465-470, 2012.
- PERRY, K.S.P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 2, p. 293-300, 2004.
- PIAZZON-GOMES, J.; PRUDÊNCIO, S. H.; SILVA, R. S. S. F. Queijo tipo minas frescal com derivados de soja: características físicas, químicas e sensoriais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, Supl.1, p. 77-85, 2010.
- PIRES, A. C. S.; SOARES, N. F. F.; ANDRADE, N. J.; SILVA, L. H. M.; CAMILLOTO, G. P.; BERNARDES, P. C. Increased presevation of sliced mozzarella cheese by antimicrobial sachet incorporated with allyl isothiocyanate. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 40, n°.4, p. 1002-1008, 2009.
- R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, ISBN 3- 900051-07-0. 2011. Disponível em: <http://www.R-project.org>. Acessado em: 21/09/2015.
- REN, D.; CHEN, B.; CHEN, Y.; MIAO, S.; LIU, J. The effects of k-casein polymorphism on the texture and functional properties of mozzarella cheese. **International Dairy Journal**, v. 31, p. 65-69, 2013.

- RICCIARDI, A, GUIDONE, A.; ZOTTA, T.; MATERA, A.; CLAPS, S.; PARENTE E. Evolution of microbial counts and chemical and physico-chemical parameters in high-moisture Mozzarella cheese during refrigerated storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 63, p.821-827, 2015.
- ROIG, S. M.; NARIMATSU, A.; DORNELLAS, J. R. F.; SPADOTI, L. M.; PIZAIA, P. D. Avaliação da proteólise e do derretimento do queijo Prato obtido por ultrafiltração **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 23 p. 177 – 182, 2003.
- ROWNEY, M. K.; ROUPAS, P.; HICKEY, M. W.; EVERETT, D. W. Salt-induced structural changes in 1-day old Mozzarella cheese and the impact upon free oil formation. **International Dairy Journal**, v.14, p. 809–816, 2004.
- SANTOS-KOELL, F. T.; MATTANA, A.; HERMES, E. Avaliação microbiológica do queijo tipo Muçarela e queijo colonial comercializado na região oeste do Paraná. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Ponta Grossa, v. 3, n. 2, p. 66-74, 2009.
- SILVA, P. H. F. Leite: Aspectos de Composição e Propriedades. **Química nova na escola**, Campinas, n. 6, 1997.
- SILVA, C. R. B., NABUCO, A. C., MORETTI B. R., PENNA, A. L. B. Efeito da adição de *Streptococcus thermophilus* como cultura adjunta na maturação e caracterização físico-química e sensorial de queijo Prato. **Rev Inst Adolfo Lutz**, 65(3): 199-203, 2006.
- STEELE, J., BROADBENT, J., & KOK, J. Perspectives on the contribution of lactic acid bacteria to cheese flavor development. **Current Opinion in Biotechnology**, v.24, p.135–141, v. 2013.
- UBALDO, J. C. S. R.; CARVALHO, A. F.; FONSECA, L. M.; GLÓRIA, M. B. A. Bioactive amines in Mozzarella cheese from milk with varying somatic cell counts. **Food Chemistry**, v. 178, p. 229–235, 2015.
- VALLE, J.L E, CAMPOS, S. D. S., YOTSUYANAGI, K., SOUZA, G. Influência do teor de gordura nas propriedades funcionais do queijo tipo mozzarella. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n.4, p. 669-673, 2004.
- WADHWANI R., MCMANUS, W. R., MCMAHON, D. J. Improvement in melting and baking properties of low-fat Mozzarella cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 1713–1723, 2011.
- WOLF, I. V., PEROTTI, M. C., BERNAL, S. M., & ZALAZAR, C. A. Study of the chemical composition, proteolysis, lipolysis and volatile compounds profile of commercial Reggianito Argentino cheese: Characterization of Reggianito Argentino cheese. **Food Research International**, v. 43, p. 1204–1211, 2010.

YAGOUB, A. H., ABDEL-RAZIG, K. A., ABDALLA, M. I., EL-KABASHI, A. E. T. Quality of Mozzarella Cheese as Affected by Levels of Sun Flower Oil and Storage Period. **Pakistan Journal of Nutrition**, v.14, p. 524-530, 2015.

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

ZAMORA, A., FERRAGUT, V., JUAN, B., GUAMIS, B., TRUJILLO, A. J. Effect of ultrahigh pressure homogenisation of Milk on the texture and water-typology of a starter-free fresh cheese. **Innovative food science and emerging Technologies**, v. 12, p. 484-490, 2011.

ZHONG, T., CAVENDER, G. e ZHAO, Y. Investigation of different coating application methods on the performance of edible coatings on Mozzarella cheese. **LWT - Food Science and Technology**. v. 56. p. 1-8, 2014.