



UDESC

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE EDUCAÇÃO SUPERIOR DO OESTE – CEO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**INFLUÊNCIA DO CONGELAMENTO DA
MASSA DE QUEIJO ÁCIDA NA
ELABORAÇÃO DE REQUEIJÃO CREMOSO**

ANDRESSA DALILA BIANCHI

PINHALZINHO, 2019

ANDRESSA DALILA BIANCHI

**INFLUÊNCIA DO CONGELAMENTO DA MASSA DE QUEIJO ÁCIDA NA
ELABORAÇÃO DE REQUEIJÃO CREMOSO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Elisandra Rigo

Coorientadora: Darlene Cavalheiro

PINHALZINHO, SC

2019

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CEO/UDESC,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Bianchi, Andressa Dalila

Influência do congelamento da massa de queijo ácida na
elaboração de requeijão cremoso / Andressa Dalila Bianchi. -- 2019.
76 p.

Orientadora: Elisandra Rigo

Coorientadora: Darlene Cavalheiro

Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de Santa
Catarina, Centro de Educação Superior do Oeste, Programa de
Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Chapecó,
2019.

1. Caseína ácida. 2. Armazenamento. 3. Queijo processado. I.
Rigo, Elisandra. II. Cavalheiro, Darlene. III. Universidade do Estado
de Santa Catarina, Centro de Educação Superior do Oeste, Programa
de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. IV.
Titulo.

ANDRESSA DALILA BIANCHI

**INFLUÊNCIA DO CONGELAMENTO DA MASSA DE QUEIJO ÁCIDA NA
ELABORAÇÃO DE REQUEIJÃO CREMOSO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Banca Examinadora:



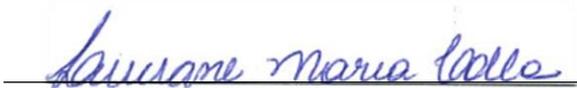
Prof. Dra. Elisandra Rigo – Orientadora

Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC



Prof. Dra. Andrea Zilio Dinon

Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC



Prof. Dra. Luciane Maria Colla

Universidade de Passo Fundo – UPF

Prof. Dra. Liziane Schittler Moroni

Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC

Pinhalzinho, 09 de setembro de 2019

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pelo dom da vida, por guiar meus passos e iluminar o meu caminho.

Aos meus pais, Adilson e Marlise, pelo incentivo e apoio aos estudos, por estarem ao meu lado sempre e pelo afeto que me motiva psicologicamente. Obrigada por todo amor.

Às minhas avós Pierina e Merly e aos meus avôs (*in memoria*) João e Elizeu, por todo apoio, orações e exemplos de vida.

Ao meu irmão Anderson por ser o braço direito, por me guiar nas escolhas e estar sempre por perto dividindo os momentos e incentivando-me a ser uma pessoa melhor.

À minha cunhada Talyta, pelas palavras de estímulo e pela ajuda em todo o processo de escrita da dissertação.

Aos meus sobrinhos, Bento e Betânia, por serem a luz que guia o meu caminho. São tesouros que me fazem sorrir ainda mais. Obrigada pela pureza.

À minha orientadora, Professora Elisandra, por ser quem me guiou, orientou e apoiou até aqui. Obrigada pelas palavras de sabedoria, ânimo e incentivo, pelas conversas, trocas de experiências e pelas risadas na viagem inusitada até Juiz de Fora.

À minha coorientadora, Professora Darlene, pela sabedoria, apoio e palavras de calma.

Um agradecimento, sem medida, com muita gratidão, para as bolsistas voluntárias Stefani e Isadora, companheiras de laboratório e das inúmeras análises de proteína. Obrigada por serem peças chave para essa conquista.

À equipe do Laticínios Tirolez (em especial ao Cleverson, Zé Renato, Rudinei, Beatriz, Marinho, Rebeca e Romário) pelo auxílio na fabricação das massas de queijo, requeijões e por todo o apoio ao longo do Mestrado.

Um agradecimento à Cris, por me hospedar em sua casa durante dois anos e por ser uma amiga e colega de profissão na qual tenho tanto orgulho. Agradeço também pela oportunidade de conviver com a Luísa, pessoa muito especial.

Às minhas amigas Joana e Jaqueline por sempre terem sido minhas companheiras durante a graduação e ainda mais durante o mestrado. Muitas vezes distantes, mas sempre presentes no coração.

Aos meus amigos Bruna e Daniel por serem os amiguinhos do colégio e continuarem sendo os amigos e companheiros da vida.

Às minhas amigas Cláudia, Daiana, Jessica e Priscila, por tornarem os momentos melhores e mais felizes.

À Juliana, amiga que Caxambu concedeu. Obrigada pelo carinho e pela amizade.

Um imenso agradecimento a colega de turma, Cristine, por estar presente desde o almoço da primeira aula e o auxílio na análise de eletroforese.

Aos colegas de Mestrado, Gabriela, Gisiéli, Ivan e Pâmela, pelas alegrias e por serem os presentes da vida acadêmica.

Agradeço também à UDESC, FAPESC e ICL Brasil por todo apoio e meios concedidos para realização da pesquisa.

Enfim, a todos demonstro minha gratidão e meu desejo de felicidade para vocês.

EPÍGRAFE

“Só se pode alcançar um grande êxito quando nos mantemos fiéis a nós mesmos.” (Friedrich Nietzsche)

RESUMO

O leite e produtos lácteos são alimentos de elevado consumo entre a população. A produção de leite vem aumentando consideravelmente no Brasil, especificamente em Santa Catarina. No entanto, o país apresenta problemas de sazonalidade de fornecimento do leite, implicados pela diversidade climática, disponibilidade de alimento aos animais e custo de produção. Com isso, as indústrias de lácteos buscam alternativas para minimizar e contornar os problemas de oferta e demanda de leite e seus derivados. Desta forma, o congelamento de massas lácteas surge como uma possibilidade para minimizar os impactos causados pela sazonalidade da matéria-prima, considerando que estas são a base para os queijos processados. No entanto, mesmo o congelamento das massas sendo um processo viável para as indústrias, são necessários estudos sobre as possíveis alterações que essa operação causa no produto e posteriormente a elaboração de legislação específica. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência da massa de queijo de coagulação ácida, fresca e congelada, nas características do requeijão cremoso elaborado em escala industrial em um laticínio de Santa Catarina. As massas de queijo oriundas de duas produções distintas foram submetidas ao congelamento e realizadas avaliações físico-químicas, estruturais e proteicas após a elaboração e com 30, 60, 90 e 120 dias de congelamento. Para cada intervalo requeijões cremosos foram elaborados e avaliados quanto ao tempo de processamento, características físico-químicas, perfil de textura e análise instrumental de cor do produto final. Observou-se um comportamento de redução de pH das massas ao longo do congelamento, com conseqüente aumento da acidez. O conteúdo de caseína relativa da massa fresca apresentou redução de 27,1% no tempo 120 dias em relação a massa fresca, assim como a microestrutura das massas apresentaram lacunas, indicando que nestes espaços da matriz proteica houve a maior formação de cristais de gelo durante os períodos de congelamento mais longos. Estes resultados corroboram com a menor intensidade das marcações no eletroforetograma das frações de caseínas observadas nas massas com 90 e 120 dias de congelamento e possivelmente no aumento de tempo de processo para fusão da massa em relação ao tempo de estocagem, sendo o maior observado durante a elaboração do requeijão com a massa congelada durante 120 dias. Os parâmetros físico-químicos dos requeijões encontram-se de acordo com o regulamento técnico de identidade e qualidade e os teores de minerais apresentaram variações. O parâmetro de cor b^* apresentou resultados positivos, indicando uma tendência a cor amarela para o requeijão. Sobre o perfil de textura, os requeijões com dureza mais acentuados foram os provenientes das massas congeladas por maiores tempos, o que possivelmente está relacionado a influência da redução de pH destas ao longo da estocagem. O congelamento das massas de queijo apresentou-se como uma alternativa para intempéries na sazonalidade do leite, resultando em requeijão com características aceitáveis ao padrão industrial. Ainda, é importante considerar que este estudo pode contribuir com dados técnicos e científicos para nortear as definições de normas legais referente ao congelamento de massas lácteas.

Palavras-chave: Caseína ácida. Armazenamento. Queijo Processado.

ABSTRACT

Milk is a high consumption food among the population, as well as dairy products. Milk production has been increasing considerably, especially in southern Brazil, specifically in Santa Catarina. However, the country has problems of seasonality of milk supply, implied by climate diversity, availability of animal feed and cost of production. With this, the dairy industries seek alternatives to minimize and circumvent the supply and demand problems of milk and its derivatives. Thus, the freezing of milk masses appears as a possibility to minimize the impacts caused by seasonality of the raw material, considering that these are the basis for processed cheeses. However, even though the freezing of the masses is a viable process for the industries, studies are needed on the possible changes that this operation causes in the product and later the elaboration of specific legislation. Thus, the objective of this study was to evaluate the influence of fresh and frozen acid coagulation cheese mass on the characteristics of processed cheese prepared on an industrial scale in a dairy in Santa Catarina. The cheese masses from two different productions were frozen and physicochemical, structural and protein evaluations were made after 15 and 30, 60, 90 and 120 days of freezing. For each interval, processed cheese was prepared and evaluated for processing time, physicochemical characteristics, texture profile and instrumental color analysis of the final product. The pH reduction behavior of the masses was observed during freezing, while the acidity had the opposite behavior. The relative casein content of fresh mass decreased by 27,1% compared to 120 days of freezing, as well as the microstructure of the masses presented gaps, indicating that in these spaces of the protein matrix there was the largest formation of ice crystals during longer freezing periods. These results corroborate the lower intensity of the electrophorograms of the casein fractions observed in the 90 and 120 days freezing masses and possibly in the increase of the melting process time in relation to the storage time. curd with frozen dough for 120 days. The physicochemical parameters of the processed cheese are in accordance with the technical regulation of identity and quality and the mineral contents presented variations. The color parameter b^* showed positive results, indicating a tendency to yellow color for the processed cheese. Regarding the texture profile, the most hardened processed cheese, came from the frozen masses for longer periods, possibly related to the influence of the pH reduction during storage. In general, the freezing of cheese masses presented as an alternative to weathering of milk seasonality, resulting in curd with characteristics acceptable to the industry standard. Also, it is important to consider that this study can contribute with technical and scientific data to guide the definition of legal norms regarding the freezing of milk masses.

Keywords: Acid casein. Storage. Processed cheese.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Micela de caseína e disposição das frações caseicas.....	24
Figura 2 - Peptização e reorganização da caseína pela ação do sal fundente.....	31
Figura 3 - Fluxo do transporte de massa e processamento do requeijão cremoso.....	37
Figura 4 - Ilustração da câmara de estocagem da massa de queijo sob congelamento a temperatura média de -10 °C.....	39
Figura 5 - Monitoramento da temperatura de estocagem das massas de queijo congeladas.....	46
Figura 6 - Representação do perfil eletroforético das proteínas nas massas de queijo fresca (MQF) e com 15 (MQ15), 30 (MQ30), 60 (MQ60), 90 (MQ90) e 120 (MQ120) dias de congelamento.	50
Figura 7 - Representação das micrografias das massas de queijo fresca (MQF) e congeladas durante 15 (MQ15), 30 (MQ30), 60 (MQ60), 90 (MQ90) e 120 (MQ120) dias de congelamento com aumento de 1000 vezes.....	52
Figura 8 - Análises do perfil de textura dos requeijões cremosos obtidos das massas de queijo fresca (MQF) e com 15 (MQ15), 30 (MQ30), 60 (MQ60), 90 (MQ90) e 120 (MQ120) dias de congelamento.....	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Caracterização físico-química do leite cru e leite pasteurizado.....	45
Tabela 2 – Resultados de pH, acidez, proteína total e teor de caseína relativa das massas de queijo fresca (MQF) e com 15 (MQ15), 30 (MQ30), 60 (MQ60), 90 (MQ90) e 120 (MQ120) dias de congelamento.....	48
Tabela 3 - Resultados dos parâmetros de processo para elaboração dos requeijões cremosos oriundo das massas de queijo fresca (MQF) e com 15 (MQ15), 30 (MQ30), 60 (MQ60), 90 (MQ90) e 120 (MQ120) dias de congelamento.....	54
Tabela 4 - Análises físico-químicas dos requeijões cremosos obtidos das massas de queijo fresca (MQF) e com 15 (MQ15), 30 (MQ30), 60 (MQ60), 90 (MQ90) e 120 (MQ120) dias de congelamento.....	56
Tabela 5 - Conteúdo mineral de cálcio e potássio dos requeijões cremosos obtidos das massas de queijo fresca (MQF) e com 15 (MQ15), 30 (MQ30), 60 (MQ60), 90 (MQ90) e 120 (MQ120) dias de congelamento.....	58
Tabela 6 - Análises de cor dos requeijões cremosos obtidos das massas de queijo fresca (MQF) e com 15 (MQ15), 30 (MQ30), 60 (MQ60), 90 (MQ90) e 120 (MQ120) dias de congelamento.....	59

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Proteínas lácteas utilizadas na elaboração de requeijões e as características peculiares destes produtos.....	27
Quadro 2 - Sais fundentes e suas propriedades para elaboração de requeijões.....	32
Quadro 3 - Análises utilizadas nas determinações analíticas dos leites, massas de queijo, e requeijão cremoso.....	41
Quadro 4 - Parâmetros e metodologias analíticas utilizadas.....	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Acidez.
CR	Caseína relativa.
E	Eletroforese.
GES	Gordura no extrato seco.
L	Lactose.
M	Minerais.
MEV	Microestrutura Eletrônica de Varredura.
MQ120	Massa de queijo com 120 dias de congelamento.
MQ15	Massa de queijo com 15 dias de congelamento.
MQ30	Massa de queijo com 30 dias de congelamento.
MQ60	Massa de queijo com 60 dias de congelamento.
MQ90	Massa de queijo com 90 dias de congelamento.
MQF	Massa de queijo fresca.
Ph	Potencial hidrogeniônico.
PT	Proteína total.
R	Rendimento.
RQ120	Requeijão produzido a partir da MQ120.
RQ15	Requeijão produzido a partir da MQ15.
RQ30	Requeijão produzido a partir da MQ30.
RQ60	Requeijão produzido a partir da MQ60.
RQ90	Requeijão produzido a partir da MQ90.
RQF	Requeijão produzido a partir da MQF.
SNG	Sólidos não-gordurosos.
ST	Sólidos totais.
TPA	Análise do Perfil de Textura.
U	Teor de umidade.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVOS	18
2.1	OBJETIVO GERAL	18
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
3.1	PRODUÇÃO DE LEITE	19
3.1.1	Produção de leite internacional e nacional	19
3.1.2	Sazonalidade na produção de leite	21
3.2	COMPOSIÇÃO DO LEITE	22
3.3	REQUEIJÃO CREMOSO	25
3.3.1	Proteína láctea	26
3.3.1.1	<i>Proteína láctea enzimática</i>	27
3.3.1.2	<i>Proteína láctea ácida</i>	28
3.3.1.3	<i>Proteína láctea fresca e maturada</i>	29
3.3.2	pH e Acidez	29
3.3.3	Sais emulsificantes	30
3.3.4	Parâmetros de processo	32
3.4	CONSERVAÇÃO DA MASSA DE QUEIJO	33
4	MATERIAIS E MÉTODOS	37
4.1	DELINEAMENTO DOS EXPERIMENTOS	38
4.1.1	Massa de queijo de coagulação ácida	38
4.1.2	Requeijão cremoso	39
4.2	MÉTODOS ANALÍTICOS	40
4.2.1	Rendimento	41
4.2.2	Caseína Relativa	42
4.2.3	Eletroforese de proteínas	42
4.2.4	Microscopia Eletrônica de Varredura	43
4.2.5	Análise do Perfil de Textura e Cor Instrumental	43
4.3	AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA	44
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	45
5.1	CARACTERIZAÇÃO DO LEITE	45

5.2	AVALIAÇÃO DA MASSA DE QUEIJO ÁCIDA	46
5.2.1	Condições de estocagem e descongelamento da massa de queijo	46
5.2.2	Avaliação do comportamento da massa de queijo fresca	47
5.2.3	Avaliação da massa de queijo fresca e congelada	47
5.2.4	Eletroforese	50
5.2.5	Microscopia Eletrônica de Varredura	51
5.3	AVALIAÇÃO DO REQUEIJAO	53
5.3.1	Condições de processo	53
5.3.2	Análises físico-químicas do requeijão cremoso	55
5.3.4	Análise de cor instrumental	59
5.3.5	Análise do perfil de textura	60
6	CONCLUSÃO	64
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

1 INTRODUÇÃO

A composição do leite o torna benéfico à saúde humana, em decorrência da presença de compostos bioativos, minerais, vitaminas e, acima de tudo, uma importante fonte de proteína (DAVE; SINGH, 2019; THORNING *et al.*, 2017). O leite é um alimento de elevado consumo e sua produção vem crescendo de forma significativa no Brasil. Este aumento é atribuído também a otimização dos processos nas propriedades rurais com a implantação de novas tecnologias e sistemas de produção. A região sul do Brasil apresenta os maiores índices de produção do setor leiteiro, sendo na região Oeste de Santa Catarina uma das regiões de maior crescimento (EPAGRI, 2016).

Dentre os produtos lácteos consumidos, destaca-se o requeijão, considerado uma *commodity* no Brasil desde 2014. Para sua elaboração faz-se necessária uma mistura envolvendo gordura láctea, sais emulsificantes e caseínas, provenientes de massas de queijo ou queijos, submetidas a fusão. As massas de queijo podem ser oriundas de coagulação ácida ou enzimática do leite, de acordo com as características desejadas no produto final (GOMES *et al.*, 2017; CERNÍKOVÁ *et al.*, 2017).

A cadeia leiteira ainda sofre oscilações causadas pela sazonalidade na produção, oriunda da diversidade climática no país, ligada a disponibilidade de alimento aos animais e aos custos de produção. Em regiões tropicais, como no sudeste do país, as temperaturas elevadas impossibilitam a criação de animais de raça e maior produção, além do clima não propiciar o desenvolvimento de sistemas de alimentação envolvendo pastagens. No entanto, na região sul, por possuir verões amenos e invernos frios, o cenário torna-se totalmente favorável para produtividade e otimização de custos na produção de leite (GABBI *et al.*, 2016).

Essa regionalização e sazonalidade na produção de leite é um desafio para as indústrias processadoras, gerando a necessidade de alternativas que minimizem os impactos de oferta e demanda, controlando a ociosidade industrial e buscando menores custos, principalmente, relacionados ao preço da matéria-prima utilizada. O congelamento é uma alternativa industrial de conservação que vem se difundindo como uma opção para a aumentar o tempo de validade dos queijos durante a comercialização, principalmente queijos com umidade maior, (LÜCK, 1977), possibilitando o processamento de acordo com a necessidade dos produtos, visto que o congelamento do

leite, além de ser algo não previsto em instruções normativas, torna-se inviável em virtude do volume necessário para armazenamento.

O congelamento das massas utilizadas como matéria-prima na produção de queijos processados pode ser uma alternativa para racionalizar os problemas envolvendo os impactos da produção sazonal de leite e a demanda pelo consumo de produtos lácteos. Entretanto, são relatadas modificações nos alimentos submetidos a esta operação, como desestabilização de proteínas e ruptura da estrutura da caseína (MEZA et al, 2011), sendo necessário realizar estudos sobre os impactos desta operação a fim de buscar respostas científicas para respaldar o processo de congelamento que sejam descritos em regulamentos técnicos específicos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar se o congelamento da massa de queijo de coagulação ácida, influência nas características do requeijão cremoso.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos foram:

- a. Avaliar se a composição físico-química da massa de queijo de coagulação ácida sofre alteração durante o congelamento até 120 dias.
- b. Caracterizar a massa de queijo de coagulação ácida, fresca e congelada, quanto aos parâmetros físico-químicos, caseína relativa, microestrutura e eletroforese das proteínas;
- c. Elaborar e caracterizar requeijões cremosos utilizando massa de queijo fresca e congelada

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 PRODUÇÃO DE LEITE

3.1.1 Produção de leite internacional e nacional

O aumento no consumo de produtos lácteos impulsiona o aumento na produção do setor de lácteos no mundo. De acordo com a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (2019) o país com maior produção de leite é a Índia, seguido dos Estados Unidos da América, China, Paquistão e Brasil. A produção mundial de leite atingiu 843 milhões de toneladas em 2018, 2,2% a mais que em 2017 (FAO, 2019).

O aumento da produção de leite foi impulsionado através das expansões neste setor na Índia, Turquia, União Européia, Paquistão, Estados Unidos da América e Argentina, possivelmente relacionado com inúmeros eventos, entre eles, o quantitativo aumento de rebanhos leiteiros, eficiência em sistemas integrados de produção de laticínios e maiores demandas de processamento. No entanto, houve também declínios na produção, principalmente na China e Ucrânia, ocasionados devido a processos de reestruturação industrial, redução de escala de fazendas e das margens de lucro de produção (FAO, 2019). Em relação à produção global de leite por espécies, em 2016, basicamente 83% do leite produzido foi oriundo de bovinos, 14% de búfalos, 2% de cabra, 1% de ovelha e 0,3% de camela (FAOSTAT, 2018).

Na Índia, país de maior produção leiteira, a pecuária e o setor de laticínios são atividades econômicas importantes, responsáveis por aproximadamente 33% do produto interno bruto (PIB) agrícola, com uma produção anual de 146,3 milhões de toneladas de leite no período de 2014 a 2015, ao longo do crescimento da economia. Desta forma, estudos feitos pelo Banco Mundial apontam que o consumo *per capita* de leite, assim como de produtos lácteos na Índia, deverá crescer para mais de 350 gramas por dia por pessoa até 2020 (LIKHI, 2016).

Na América do Sul a produção de leite em 2018 aumentou 1,6% em relação a 2017, atingindo 64,4 milhões de toneladas em 2018, refletidos pela produção na Argentina, Brasil, Chile, Uruguai e Colômbia. No Brasil, esta tendência foi moderada (0,8%) quando comparada a 4% em 2017, justificada por fatores climáticos e a greve dos trabalhadores de transporte (FAOSTAT, 2019).

No ano de 2006, a produção de leite atingiu aproximadamente 25 milhões de toneladas, 68% de aumento em comparação a 1996 até 2006, justificada pela aquisição de novas tecnologias pecuárias, expansão da área cultivada para pastagens, incentivo ao conhecimento do produtor e mecanização (VILELA *et al.*, 2017). Este crescimento continuou, de acordo com as pesquisas do IBGE (2016), sendo que a última década iniciou com a produção de 28 milhões de toneladas, chegando em 2014 com 35,1 milhões de toneladas.

Os anos de 2015 e 2016 foram marcados por um fato desconhecido desde o início da cadeia. A produção de leite teve queda, principalmente em virtude dos preços do leite e derivados no atacado e no varejo, preços do leite pago ao produtor, seu custo de produção, exportação e importação de leite e derivados. Já em 2017 e 2018 o Brasil voltou a apresentar crescimento na produção de leite, chegando no último ano a 35.539 milhões de toneladas (FAO, 2019; EMBRAPA, 2018).

O Sudeste do País, tradicionalmente, apresentava os maiores índices de produção de leite, especialmente no Estado de Minas Gerais. Porém, a partir de 2014, este passou para a região Sul do País, impulsionada pelos Estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Contudo, Minas Gerais individualmente, com aproximadamente 9 bilhões de litros por ano, representando cerca de 27% do total do País, continua o maior estado produtor, seguido por Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina (EMBRAPA, 2018).

O estado de Santa Catarina, em 2017, produziu 3,7 bilhões de litros de leite, enquanto em 2006 a produção foi de 1,7 bilhão, apresentando 92% de crescimento. Entende-se que essa expansão da produção no estado está estreitamente ligada ao crescimento da atividade leiteira da agricultura familiar no Oeste Catarinense. A região Oeste é responsável por 76% do leite produzido no estado (EMBRAPA, 2018). Todo avanço da cadeia do leite na região está intimamente ligado a dinamicidade da agricultura familiar da região e sua aptidão de promover rápidas mudanças produtivas e organizacionais, com inclusão de tecnologias e inovações (EPAGRI, 2019).

O cooperativismo destaca-se como um segmento de sucesso para a atividade leiteira do estado de Santa Catarina. As cooperativas estão aliadas com a produção familiar, disponibilizando assistência técnica especializada e acesso a inúmeros projetos como melhoramento genético e treinamentos de qualidade do leite, além de financiamentos para aquisição de tecnologias, pontos esses que são importantes para o fomento da cadeia leiteira (EMBRAPA, 2019).

3.1.2 Sazonalidade na produção de leite

A produção de leite pode ser estruturada em dois meios distintos de manejo de rebanho de animais. O primeiro refere-se a um sistema definido por um padrão de produção de leite relativamente uniforme ao longo do ano e o segundo sistema refere-se à produção de leite em determinado período do ano. Os processos relacionados à produção de leite sazonal, devem-se basicamente as diferenças climáticas ao longo do ano (O'BRIEN; GUINEE, 2016).

Nas últimas quatro décadas, a extensão dos fatores climáticos na produção de leite vem sendo avaliadas. Em áreas de clima temperado, onde os animais utilizam a pastagem como maior fonte de alimentação durante a maior parte do período de lactação, a produção de leite se torna mais eficiente em relação aos custos e com elevada produção quando comparada a outros sistemas ou climas. Desta forma, a relação entre os dados meteorológicos e a produção de leite tornam-se relevantes visando eficiência dos custos da indústria leiteira (ZHANG *et al.*, 2019).

As raças de bovinos leiteiros de alta produção como as raças Britânicas e Europeias foram criadas em regiões subtropicais e temperadas, com clima ameno, ou também em regiões onde as temperaturas e umidade relativa não favorecem estresse térmico dos animais (ORLANDO, 2015; SCHAFBERG; SWALVE, 2015).

Uma extensa área do território brasileiro está situada em regiões tropicais, onde as altas temperaturas impossibilitam a produção potencial de leite de vacas de raças Continentais. No entanto, a região sul do Brasil, possui algumas áreas com características subtropicais, onde os verões são amenos e invernos frios. As temperaturas médias dessas áreas encontram-se na faixa de conforto térmico ideal para raças de gado leiteiro de origem europeia (GABBI *et al.*, 2016).

A variação na disponibilidade de alimentos para os animais, em virtude da meteorologia, além da produção e custo, afeta também a composição do leite. Esse cenário é muito comum nas fazendas brasileiras, onde nos períodos de pouca chuva e calor intenso, além da redução da produção de leite, os níveis de proteína/sólidos totais sofrem uma queda, influenciando também as indústrias processadoras. (MARCONDES *et al.*, 2017).

A sazonalidade na produção de leite implica em oscilações do preço do leite. A definição do preço pago ao produtor no Brasil são oriundos da grande diversidade dos sistemas de produção e também da produção pulverizada em todo país. O setor de

pecuária de leite nacional por ser heterogêneo e disperso, encontra-se regiões, em determinadas épocas do ano com excedente, enquanto em outras há falta desta matéria-prima (VILELA *et al.*, 2017).

No Estado de Santa Catarina, principalmente na região oeste, as propriedades produtoras de leite possuem características importantes para o desenvolvimento do setor. As propriedades possuem áreas restritas e reduzida mão-de-obra, onde objetiva-se produzir leite com o menor custo com otimização dos recursos disponíveis. Também, em virtude do clima subtropical, a região tem sistema produtivo a base de pastagens como maior fonte de alimentação das vacas. A silagem, feno e alimentos concentrados são oferecidos somente como complemento ao animal. Conseqüentemente, há otimização do trabalho, menor custo de produção e melhores índices produtivos dos animais (EPAGRI, 2019).

3.2 COMPOSIÇÃO DO LEITE

A água é o principal componente do leite, representando cerca de 87,4%. Os sólidos totais (12,6%) são constituídos por sólidos gordurosos (3,7%) e sólidos não gordurosos: proteína (3,4%), lactose (4,8%) e minerais (0,7%) (DOMINGUES-SALAZ *et al.*, 2019).

Os lipídios do leite são gotículas esféricas complexas, denominados glóbulos de gordura. Dos lipídios presentes no leite bovino, os triacilgliceróis estão em maior proporção (98%), os demais são subdivididos em classes menores, como diacilgliceróis, monoacilgliceróis, ácidos graxos livres, fosfolipídios e colesterol. A gordura do leite age como uma fonte energética, além de ser um importante portador de constituintes lipossolúveis, como os carotenoides e as vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) (SINGH, 2019).

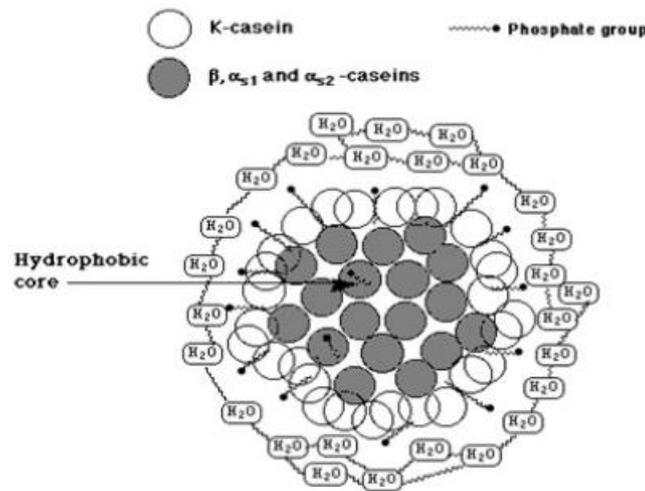
A lactose é o principal carboidrato presente no leite, além de fornecer energia, está diretamente envolvida na absorção intestinal de cálcio, magnésio, fósforo e vitamina D. Este carboidrato é hidrolisado no intestino delgado pela enzima lactase (β -galactosidase) em glicose e galactose para que possa ser absorvido através da mucosa intestinal. Na grande maioria dos adultos, ao longo dos anos, a atividade enzimática da lactase diminui, reduzindo a hidrólise do açúcar e, conseqüentemente, causando transtornos intestinais (PEREIRA, 2014; VAN SCHEPPINGEN *et al.*, 2017).

O cálcio no leite encontra-se em equilíbrio dinâmico entre as fases coloidal e sérica. O mineral na fase coloidal está presente nas micelas de caseína ou como íons de cálcio ligados à fosfoserina. Já o cálcio solúvel na fase sérica é encontrado como citrato de cálcio, fosfato ou íons livres (LIN *et al.*, 2018). A concentração de cálcio em queijos atua na sua capacidade de fusão. Em queijos com altos teores deste mineral, a fusão é mais dificultada quando comparada a queijos com menores teores. Grande parte do cálcio encontra-se na forma insolúvel, assim, as ligações cruzadas fortalecem a rede de caseína, proporcionando maior rigidez e menor fusão quando submetido ao aquecimento (BRICKLEY *et al.*, 2008).

As frações nitrogenadas do leite, em geral, podem ser divididas em dois grandes grupos: caseínas e proteínas do soro. Além das proteínas, o leite apresenta uma fração de compostos nitrogenados não-proteicos (NNP), constituindo aproximadamente 5% do nitrogênio total do leite. Estes compostos nitrogenados são oriundos do sangue e constituídos, principalmente, por ureia seguida de creatina e creatinina (WALSTRA; JENNESS, 1984).

A caseína no leite é dividida em $\alpha 1$, $\alpha 2$, β e κ -caseína, as quais são frações fosforiladas que lhes garante boa capacidade de ligação ao fosfato de cálcio, porém cada fração possui especificidades diferentes (BROYARD; GAUCHERON, 2015). Em relação ao ponto isoelétrico, a fração $\alpha 1$ apresenta o menor ponto (4,42), seguido da β -caseína (4,65), $\alpha 2$ (4,95) e por fim, κ -caseína (5,6). A massa molecular das frações também diferem entre si, sendo 23,599 kDa para $\alpha 1$, 25,206 kDa para a $\alpha 2$, 23,973 kDa da β -caseína e 19,052 kDa para a κ -caseína (DAVE; SINGH, 2019).

Figura 1 - Micela de caseína e disposição das frações caseicas.



Fonte: Walstra (1999)

Ocorre precipitação da caseína pela acidificação do leite em pH de 4,6 ou hidrólise enzimática, diferentemente das proteínas do soro que são solúveis se submetidas a estes processos. A caseína no leite possui uma rede tridimensional denominada micela, formadas a partir das ligações do cálcio com os grupos fosfatos. As micelas de caseína possuem aproximadamente 40 a 150 nm de tamanho e armazenam entre 3,5 e 4 g de água por g de caseína. As α_1 , α_2 , β encontram-se distribuídas na parte central da micela, já a κ -caseína situa-se na superfície, assumindo papel importante na estabilidade da micela de caseína (DAVE; SINGH, 2019).

A fração caseíca α_1 precipita-se com níveis de cálcio muito baixos, diferentemente da caseína α_2 que tem menor sensibilidade a este mineral. A κ -caseína, por ser uma glicoproteína e possuir apenas um grupo fosfoserina, é estável na presença de íons de cálcio tornando-se fundamental na estabilidade da micela de caseína. No entanto, a β -caseína é mais fosforilada que a κ -caseína, sendo mais sensível a concentrações elevadas de sais de cálcio, mas apresenta menor susceptibilidade a precipitação quando comparadas com as caseínas α_1 e α_2 (WALSTRA, 1999).

As micelas de caseína têm sua estrutura perceptivelmente estável durante as operações de processamento de rotina. No entanto, existem condições que desestabilizam a estrutura micelar das caseínas como a temperatura, o abaixamento do pH, o sequestro de íons cálcio e a presença de substâncias co-solventes. Em processos de aquecimento, o teor de fóstato de cálcio ligado às micelas aumenta, assim, ocorre a dissociação da κ -

caseína, diminuindo a sua estabilidade, além da redução de pH ocasionado pela presença de ácidos orgânicos oriundos da degradação da lactose (DAVE; SINGH, 2019; O'CONNEL *et al.*, 2006).

Outra característica estrutural importante das frações caseicas é a proximidade de resíduos de aminoácidos, com propriedades semelhantes, em sua estrutura primária. Essa peculiaridade é responsável pela formação de aglomerados de regiões hidrofóbicas, relacionadas com a capacidade de formação de micelas, interações com o cálcio e propriedades funcionais como a emulsificação (DAVE; SINGH, 2019).

A determinação proteica do leite deve ser baseada em compostos nitrogenados: nitrogênio total, nitrogênio caseico (obtido da precipitação da caseína em pH 4,6), nitrogênio não caseico (soma das proteínas do soro e nitrogênio não proteico) e nitrogênio não proteico (nitrogênio não proteico solúvel em ácido tricloroacético a 12%) (CRUZ *et al.*, 2016).

3.3 REQUEIJÃO CREMOSO

O requeijão cremoso é um queijo processado, tipicamente brasileiro. Sua produção aumentou significativamente nos últimos anos, tornando-se a principal *commodity* entre os queijos inspecionados comercializados no Brasil, superando o queijo mussarela, atingindo 325 milhões de toneladas em 2014 (GOMES *et al.*, 2017).

Diversos estudos mostraram que em 2015 aproximadamente 70% de todos os lares americanos consumiam diariamente queijos processados, influenciando, principalmente, a grande variedade disponível no mercado. Toda essa demanda reflete em um amplo crescimento de mercado projetado para países em desenvolvimento no mundo, o que fortalece a necessidade de pesquisas envolvendo estes produtos (TALBOT-WALSH, 2018).

O requeijão pode ser classificado de acordo com as matérias-primas utilizadas na sua produção. Comumente, são elaborados a partir de uma combinação de queijos e outros ingredientes lácteos, como manteiga, creme de leite, leite em pó e soro de leite, adicionados de ingredientes não lácteos como estabilizantes, conservantes, intensificadores de sabor e os mais importantes que são os sais emulsionantes (NAGYOVÁ *et al.*, 2014). De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do produto, o requeijão deve conter no mínimo 55% de matéria gorda no extrato seco e no máximo 65% de umidade. Suas características sensoriais principais são

textura cremosa, fina e lisa ou compacta, com sabor levemente ácido ou opcionalmente salgado (BRASIL, 1997).

A produção do requeijão ocorre pela fusão de proteína láctea de coagulação ácida ou enzimática, seguido de adição de gordura láctea e sais emulsionante como citratos e fosfatos de sódio. A consistência tem característica de espalhamento com faca a temperatura ambiente. Esta característica de espalhabilidade é decorrente da ausência de uma matriz proteica rígida, que pode ser controlada pelos parâmetros de processo como: temperatura de fusão, tempo e velocidade de agitação a que o produto é submetido durante a fusão, tipo de sal fundente empregado, matriz proteica utilizada (tipo de queijo, grau de maturação dos queijos utilizados, teor de proteína), acidez, bem como o processo de resfriamento e condições de armazenamento (RAMOS *et al.*, 2012; BELSITO *et al.*, 2017; CERNÍKOVÁ *et al.*, 2017).

O processo de fusão de um queijo processado pode ser dividido em uma série de reações sequenciais: remoção do cálcio do sistema proteico, solubilização e dispersão da proteína, ligação da caseína com água e gordura (hidratação), estabilização do pH e formação de nova estrutura proteica no período de resfriamento (BONELL, 1971; LEE *et al.*, 2003).

3.3.1 Proteína láctea

As propriedades de um queijo processado têm significantes reflexos da proteína da matéria-prima utilizada (SCHEURER, 2005). Conhecer o conteúdo de caseína intacta é fator relevante na produção do requeijão, pois apresenta o conteúdo de proteína funcional capaz de formar uma estrutura proteica. No caso do requeijão cremoso o teor de caseína relativa presente na massa de queijo deve ser maior que 50% (VAN DENDER, 2014).

A matriz proteica mais utilizada na elaboração de queijos processados são as massas de queijo de coalho (fresco ou maturado) e massas de queijo de origem ácida, no entanto, as indústrias fazem uso de outras matérias-primas proteicas complementares a fim de redução de custo, como é o caso do leite em pó desnatado e soro de leite em pó. Estes complementos podem ser usados como fontes de proteína, porém, podem reduzir a capacidade de fusão durante o processo (GUINEE *et al.*, 2004; KAPOOR, *et al.*, 2007; Lee; Anema, 2009). Neste sentido, o Quadro 1 apresenta de forma simplificada os tipos

de proteínas lácteas, suas características e, conseqüentemente, os tipos de requeijão produzido a partir destas.

Quadro 1 – Proteínas lácteas utilizadas na elaboração de requeijões e as características peculiares destes produtos.

Proteína láctea	Características	
	Proteínas	Requeijões
Proteína láctea enzimática	Coágulo firme e mineralizado	Menor elasticidade
Proteína láctea ácida	Coágulo desmineralizado e frágil	Maior elasticidade
Proteína láctea fresca	Queijos de textura longa	Maior adesividade bloco/barra
Proteína láctea maturada	Queijos de textura curta	Maior capacidade de derretimento

Fonte: Cruz *et al.* (2017), Fox *et al.* (2004), Scheurer (2005) e Van Dender (2014).

3.3.1.1 Proteína láctea enzimática

A obtenção de massas lácteas oriundas de coagulação enzimática deve-se a adição de enzimas específicas, sendo a quimosina a mais utilizada. Esta protease é responsável pela clivagem das ligações da κ -caseína, onde são liberados caseino-macropéptídeos e desestabilização de micelas de caseína, resultando na coagulação do leite (EGITO *et al.*, 2007).

No momento da fusão de uma massa de queijo obtida por coagulação enzimática necessita-se a remoção do cálcio bivalente que se encontra ligado nas micelas de caseína. Esta remoção da molécula, em específico, ocorre através da ação dos sais emulsificantes que tornam o paracaseinato de cálcio mais solúvel, permitindo a substituição do cálcio pelo sódio monovalente na sua molécula (KOSIKOWSKI, 1978; SHIMP, 1985; PIROT 1988; FOX *et al.*, 2000; VAN DENDER, 2014).

Os requeijões produzidos com massa de queijo de coagulação enzimática possuem tendência a apresentarem elasticidade menor quando comparados com requeijões oriundos de processo utilizando massa de queijo de coagulação ácida, devido a presença do cálcio, que é maior na enzimática (VAN DENDER, 2014; RODRIGUES, 2006).

As massas de queijo de coagulação enzimática, são comumente utilizadas em virtude do menor tempo de processo. Também, é observado maior rendimento quando

comparadas às massas de coagulação ácida, por se tratar de um coágulo mais rígido, estável e com menos perdas de massa para o soro (SOBRAL, 2007).

3.3.1.2 Proteína láctea ácida

As massas de queijo ácidas utilizadas na produção de queijo processado podem ser obtidas por fermentação láctica ou acidificação direta. Na coagulação ácida por fermentação, o leite é acidificado por meio da ação de culturas mesofílicas, normalmente *Lactococcus lactis ssp. lactis* e *Lactococcus lactis ssp. cremoris*, ambos utilizam a lactose como substrato (LI; ZHAO, 2019; VAN DENDER, 2014).

A diminuição do pH resulta na redução da carga negativa da caseína, minimizando a repulsão eletrostática e estabilização estérica (estabilização de partículas coloidais por macromoléculas não iônicas) que são responsáveis pela estabilidade micelar do leite, considerando que a maioria das proteínas possuem cargas negativas, causando repulsão eletrostática de longo alcance e repulsão de hidratação de curto alcance (BRINGE; KINSELLA, 1987).

A acidificação provoca também a migração de cálcio e fosfatos da caseína para a fase aquosa em virtude do aumento da solubilização destas moléculas em água. Com valor de pH entre 5 e 4,6, próximos ao ponto isoelétrico das proteínas, as cargas da caseína são neutralizadas, causando redução do caráter anfílico das β -caseínas e κ -caseínas resultando na agregação tridimensional das moléculas (BRULE, et al, 2000; LUCEY; SINGH, 2003; LUCEY, 2004).

O coágulo resultante da fermentação ácida do leite possui característica frágil, no entanto, quando em uma dessora eficaz, o precipitado torna-se firme e ressecado, porém, bastante quebradiço (VAN DENDER, 2014; OLIVEIRA, 1986). A massa ácida possui moléculas intactas da k -caseína, assim, a caseína ácida atua como emulsificante natural, mas não possibilita estrutura similar do queijo devido à falta de cálcio (SCHEURER, 2005).

Em termos comparativos, o coágulo ácido e o coágulo enzimático diferem significativamente em termos de composição. A caseína ácida possui um teor mineral muito mais baixo, resultando em uma capacidade de ligação à água superior em comparação com o coágulo enzimático. Também, a massa de queijo ácida tem característica de ser menos gomosa do que a obtida por coagulação ácida, além de ter menor tendência a sinérese. Acredita-se que isso esteja relacionado ao fato de que as

micelas de caseína em uma coalhada ácida têm uma menor tendência de se fundirem ou coalescerem (O'CONNELL; FLYNN, 2007). A massa de queijo ácida é menos compacta e com rede proteica mais frágil se comparada a enzimática. Essa característica ocorre em virtude das partículas de caseína serem menores e com maior grau de desmineralização. A menor quantidade de minerais presentes na matriz é em virtude da queda de pH, que compromete a extensão das ligações entre as micelas de caseína, perdendo o cálcio e o fosfato, resultando em uma microestrutura menos compacta (FOX *et al.*, 2004).

3.3.1.3 Proteína láctea fresca e maturada

O uso de queijos jovens, como o caso do Mussarela, se torna mais vantajoso economicamente por não ocorrer a maturação, por outro lado, as proporções de uso devem ser ajustadas, pois quantidades elevadas podem levar a um requeijão sem sabor e com textura gomosa (PURNA *et al.*, 2006; MULSOW *et al.*, 2007).

A caseína nos queijos maturados é extensamente hidrolisada ao longo do seu armazenamento, resultando em um requeijão espesso. No entanto, nos queijos não maturados, a caseína não foi submetida a uma proteólise extensa, assim, há uma maior porcentagem de caseína intacta, resultando em um queijo processado com uma textura mais firme e elástica. (BRICKLEY *et al.*, 2007; GUINEE *et al.*, 2004).

Neste contexto, nas elaborações de queijos processados, para se obter um produto com as características desejáveis, opta-se pela mistura de proteínas lácteas de diferentes graus de maturação (CHEN; LIU, 2012).

3.3.2 pH e Acidez

A acidez é um fator que influencia na consistência, estrutura, sabor e solidez do produto. O pH das proteínas lácteas pode interferir nas características do produto, podendo alterar a microestrutura e textura dos queijos processados, em virtude dos efeitos dos íons nas interações das proteínas, hidratação da caseína e emulsificação da gordura (MARCHESSAU *et al.*, 1997; TALBOT-WALSH *et al.*, 2018).

Em requeijões produzidos a partir de massas de coagulação ácida, é recomendado que o pH esteja entre 5,2 a 5,5, de forma a garantir a qualidade e cremosidade típica do queijo processado (VAN DENDER, 2014).

Proteínas lácteas com valores de pH entre 4,6 e 4,9, resultam em requeijões de coloração branca e com menor propriedade elástica, pois a caseína quando está próxima do seu ponto isoelétrico causa agregação proteica, redução da afinidade da água e aumento da dispersão da luz. No entanto, as com pH acima de 6 possuem consistência menos firme e elástica, pois as proteínas são capazes de se ligar mais a água, aumentando o teor de umidade do produto (KAPOOR, *et al.*, 2007, LUCEY, 2013, SÁDLÍKOVÁ *et al.*, 2010, LEE *et al.*, 2015, BRICKLEY *et al.*, 2008; MARCHESSEAU *et al.*, 1995). Os ajustes de pH podem ser feitos através de lavagens das massas de queijo ou também com o uso de sais fundentes específicos (VAN DENDER, 2014).

Em proteínas lácteas maturadas, o pH é maior, considerando que ao longo do período de maturação devido o metabolismo microbiano ocorre a formação de ácido láctico, proteólise e a metabolização dos aminoácidos livres com formação de compostos alcalinos como as aminas (BUNKA *et al.*, 2013).

3.3.3 Sais emulsificantes

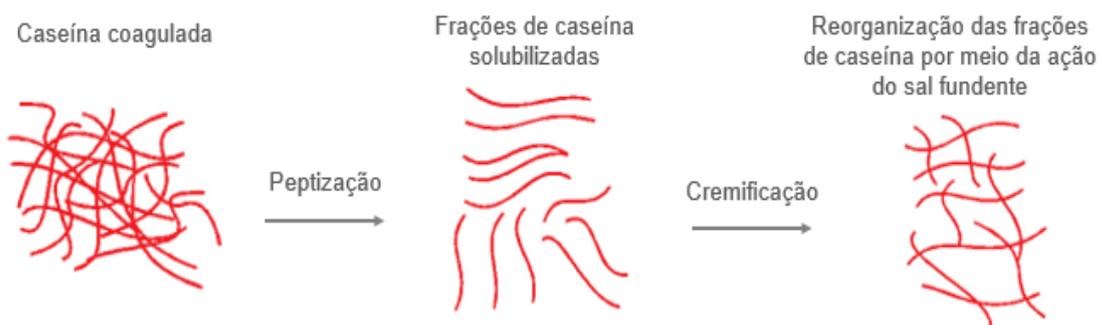
Para a fusão da massa de queijo os sais emulsificantes e ou fundentes são aditivos importantes e consistem em compostos iônicos constituídos de cátions monovalentes e ânions polivalentes. As funções de maior importância destes sais na produção de queijos processados são o ajuste do pH e o sequestro de cálcio, modificando as propriedades de emulsificação das caseínas e gordura bem como, da hidratação com a água livre (CHEN; LIU, 2012). Assim, o processo de fusão do requeijão ocorre simultaneamente através da remoção de cálcio do sistema proteico, seguido da peptização e dispersão da proteína, hidratação, estabilização de pH e formação de uma nova estrutura proteica, conforme exemplificado na Figura 2 (VAN DENDER, 2014; CERNÍKOVÁ *et al.*, 2017).

As frações de caseína possuem radicais não polares no segmento C-terminal, resultando em características hidrofóbicas nesta região, no entanto, na região N-terminal, por conter fosfato de cálcio, identifica-se como hidrofílica. Esta especificidade está intimamente ligada com a solubilidade da caseína em água, onde a sua capacidade emulsificante é potencializada com a redução do fosfato de cálcio. Quando ocorre o sequestro do cálcio do caseinato através da ação dos sais emulsificantes, ocorre uma troca iônica, transformando o caseinato de cálcio solúvel em caseinato de sódio insolúvel (CARIC; KALÁB, 1987; SHIMIZU *et al.*, 1984).

A adição do sal fundente remove o cálcio que se encontra ligado às moléculas de caseína substituindo-o por íons de sódio. Essa troca de íons proporciona a emulsificação das proteínas e interação com a gordura presente, tornando a massa homogênea com dispersão de gotículas de gordura altamente uniformes (PURNA *et al.*, 2006; WEISEROVÁA *et al.*, 2011).

A organização e composição da matriz proteica é responsável pelas características qualitativas dos queijos processados, como textura, derretimento e espalhabilidade. A hidratação interior das micelas de caseína exerce influência direta com as interações promovidas pelo fosfato coloidal e os sais emulsificantes. A agregação de *nanocluster* de fosfato de cálcio/proteína devem-se as interações hidrofóbicas que resultam também em formação de ligações de hidrogênio e interações de *van der Waals* que fortalecem a estabilidade das micelas, conforme representado na Figura 2 (DALGLEISH, 2011).

Figura 2 - Peptização e reorganização da caseína pela ação do sal fundente.



Fonte: Lourenço Neto *et al.*, (2015).

A escolha do sal fundente é dependente das características da massa de queijo, pH, grau de maturação e estrutura desejada do produto final. Para queijos sem maturação, onde a estrutura é longa, em virtude da caseína estar mais intacta, são necessários sais com grande poder cremificante. Por outro lado, para queijos maturados, utiliza-se sais com menor capacidade de modificação da massa, visto que a caseína encontra-se com alto grau de hidrólise. Da mesma forma, em relação ao pH, quando utiliza-se massa ácida, opta-se por um sal alcalino e vice-versa. (VAN DENDER, 2014).

Os sais fundentes mais utilizados pelas indústrias são os fosfatos, polifosfatos e citratos ou uma combinação deles. O Quadro 2 representa os tipos de sais fundentes e suas características. A quantidade utilizada depende exclusivamente da proporção de

caseína e o tipo de matriz proteica, usualmente variando de 2% a 3% (PURNA *et al.*, 2006).

Quadro 2 - Sais fundentes e suas propriedades para elaboração de requeijões.

Tipo de Sal	Propriedades
Monofostatos	<ul style="list-style-type: none"> - São hidrossolúveis, possuem propriedade tamponante e são utilizados para estabilização de pH. - Destacam-se o monofostato dissódico, comumente usado para produtos untáveis e ortofostatos monossódico e trissódico, mais utilizados como corretores de pH e não possui propriedade cremificante.
Polifostatos	<ul style="list-style-type: none"> - Alta capacidade de reter água, apresentando impacto na textura do queijo processado. - As peculiaridades, em geral, dependem do tamanho na cadeia do sal. - Polifostatos de cadeia longa: possuem ação cremificante lenta e ótima capacidade de peptizar proteínas, resultando em queijos processados de textura firme com maior dificuldade de derretimento. - Polifostatos de cadeia curta: possuem propriedade tamponante, sendo utilizados em combinação com outros sais fundentes.
Citratos	<ul style="list-style-type: none"> - Baixa solubilidade em água e baixo poder cremificante, sendo largamente utilizado em queijos processados em barra. - Capacidade tamponante; - Citratos resultam em queijos processados com estrutura mais longa e elástica.
Sais de Potássio	<ul style="list-style-type: none"> - Utilizados em produtos com redução de sódio. - Aplicados em combinação com sais de sódio, pois podem promover gosto amargo nos queijos processados.

Fonte: Cruz *et al.* (2017).

3.3.4 Parâmetros de processo

Em relação aos parâmetros de processo, como os principais controles e pontos que contribuem para as características dos requeijões, destaca-se a temperatura de fusão, homogeneização, tempo de processo e resfriamento do produto.

A temperatura de fusão apresenta-se como um aspecto importante no que diz respeito a estrutura do produto final. No início do processo as proteínas estão organizadas em moléculas individuais, contendo estruturas proteicas fortemente unidas. Com o aquecimento, as proteínas desintegram formando uma rede com forte interação proteína-proteína. O calor, juntamente com as forças mecânicas e químicas dos sais fundentes, auxiliam a caseína na absorção de água e cremificação na faixa de 70 até 90 °C (VAN DENDER, 2014; LEE; ANEMA, 2009).

Juntamente com a temperatura, a homogeneização e o tempo de processo são parâmetros importantes para as características do requeijão. O tempo de processo tem duração dependente da matéria-prima utilizada e das características do produto obtido, ou seja, para queijos processados cremosos a duração é menor quando comparada a requeijões em bloco. Já a ação mecânica promove a homogeneização da matéria-prima e dos sais fundentes, garantindo a dispersão, estabilidade da emulsão e aceleração do processo de cremificação (VAN DENDER, 2014). A combinação do tempo de processo e temperatura comumente utilizada em processos de batelada, são 70 – 95 °C / 4 - 15 minutos. O binômio é dependente da formulação e das características de textura e consistência desejadas no produto final (ALVES *et al.*, 2007).

Por fim, o resfriamento do produto e a forma de acondicionamento na embalagem variam de acordo também com o tipo de queijo processado. No caso do requeijão cremoso, após o envase do produto quente, o resfriamento deve acontecer de forma rápida para pausar a cremificação e garantir as características de untabilidade ideal em uma temperatura de resfriamento inferior a 10 °C (VAN DENDER, 2014).

Durante a vida útil do produto, notadamente nos primeiros 14 dias de armazenamento refrigerado, ocorre mudança adicional na consistência ocasionando um aumento na dureza dos queijos processados (NAGYOVÁ *et al.*, 2014).

Estudos mostram que as variáveis do processo dependem das características desejadas no produto final. Fu e Nakamura (2018), estudaram o efeito de amidos nas propriedades mecânicas e na microestrutura de queijos processados com diferentes tipos de estruturas de rede de caseína. Utilizaram uma mistura binária de polifosfato com fosfato dissódico, em uma temperatura de 90°C por 27 minutos, seguido de resfriamento a 5 °C. Weiserova *et al* (2011) avaliaram o efeito da mistura binária de fosfatos nas características texturais de queijo processado, onde a temperatura de fusão utilizada foi 90 °C em um tempo de 12 minutos, seguido de resfriamento a 6 ± 2 °C.

3.4 CONSERVAÇÃO DA MASSA DE QUEIJO

Todas as oscilações do mercado do leite, causados pela sazonalidade de produção mencionados no item 3.1.2, levam as indústrias beneficiadoras de leite buscarem alternativas para minimizar os impactos causados pelas alterações de oferta de matéria-prima e ociosidade industrial. Neste contexto, métodos de conservação, como o congelamento de massas de queijo, são alternativas promissoras, visto que o

congelamento de leite, em virtude do volume e também por instruções normativas inexistentes inviabiliza esta operação.

O congelamento é uma operação empregada para a conservação de alimentos, sendo utilizado também para estender o tempo de vida útil de queijos de umidade mais elevada e outros produtos lácteos durante a comercialização (LÜCK, 1977; KUO; GUNASEKARAN, 2003). Porém, estudos demonstram que este método de conservação pode causar alterações indesejadas nos produtos, pois durante o processo, o congelamento pode levar à desestabilização de proteínas que gera a ruptura da rede de caseína (MEZA et al, 2011). No processo de congelamento, a primeira etapa na formação dos cristais de gelo, é a nucleação, ou seja, parte da água livre presente cristaliza-se formando um pequeno cristal de gelo, que servirá como o núcleo para a propagação e crescimento do cristal (WHATEN; JIA, 2005). A segunda etapa é o crescimento dos cristais, ou seja, consiste na adição de moléculas de água sobre a superfície destes núcleos (FENNEMA *et al.*, 1973).

Em relação a taxa de congelamento, se o calor for removido do meio de forma rápida, ocorre a formação de um número maior de cristais, com tamanho reduzido e mais estáveis. Usualmente, no congelamento rápido, independente da forma na qual é induzido, o alimento congela em temperatura inferior a -29°C em aproximadamente 30 minutos. No entanto, se a remoção do calor for de forma lenta, o produto pode levar de 3 até 72 horas para congelar, resultando em cristais de gelo maiores e em menor quantidade (FREITAS; FIGUEIREDO, 2000; GOFF, 2005).

A formação de cristais maiores no espaço intercelular pode causar ruptura das membranas celulares da matriz, modificando a textura, desnaturando as proteínas, causando forte exsudação/liberação de água no descongelamento, com decorrente perda de compostos nutritivos, além de modificações nas propriedades físico-químicas de alimentos como pH, força iônica e concentração de solutos (WALSTRA, 2003).

Os cristais de gelo oriundos do congelamento lento podem aprisionar os glóbulos de gordura, gerando alterações irreversíveis à estrutura destes, podendo desestabilizar a emulsão e propiciar a coalescência dos glóbulos após o descongelamento. Em relação as proteínas, a desnaturação, a desestabilização e a agregação destas é influenciada pelo aumento da pressão osmótica, em resultante da alta concentração do cálcio na fase líquida remanescente, resultante da intensa cristalização de água. Os minerais também são afetados pelo congelamento, pois a formação de uma solução de cálcio saturada durante

a cristalização altera a concentração do cálcio de solúvel (ZHANG *et al.*, 2006; FONTECHA *et al.*, 1993; KLJAJEVIC *et al.*, 2016. KOSCHAK *et al.*, 1981).

Há um considerável número de estudos relacionados ao queijo mussarela, onde objetiva-se prolongar o tempo de armazenamento através do congelamento, sempre buscando manter as suas funcionalidades, no entanto, estes indicam que o congelamento de queijo, em função da formação dos cristais de gelo, pode causar a desidratação e consequente ruptura na estrutura das proteínas, aumentando a porosidade e capacidade de filagem e redução da elasticidade do queijo mussarela (KUO E GUNASEKARAN 2003).

Existem alternativas que buscam minimizar as alterações provocadas pelo congelamento lento. Silva (2012) estudou o congelamento de massas para elaboração de queijo Petit Suisse com adição de espessantes em temperatura de $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$. A massa adicionada de goma xantana apresentou poros menores que a massa sem adição de espessantes. O uso da goma diminuiu a água disponível na matriz, mostrando-se como uma alternativa eficaz para reduzir os danos provocados pelo congelamento.

Em produtos nos quais utiliza-se queijos submetidos à conservação a baixas temperaturas, a caseína comporta-se de forma a ocasionar cremificação aparente. Em virtude disso, durante a estocagem, os queijos processados podem desenvolver uma textura de maior gomosidade (SCHEURER, 2005).

Em termos gerais, os alimentos submetidos a congelamento rápido demonstram melhor qualidade quando comparados aos produtos congelados de forma lenta, pois os cristais menores no espaço intercelular, oriundos do congelamento rápido, não causam danos às células (COLLA; PRENTICE-HERNÁNDEZ, 2003). Contudo, há necessidade de estudos que demonstrem as alterações em decorrência do alimento a ser congelado e qual a consequência nas características de qualidade do produto, em especial sobre a proteína que apresenta funções distintas e indispensáveis na elaboração de produtos lácteos.

As flutuações comerciais no setor de lácteos, atribuídas a inúmeros interferentes como a produtividade, consumo econômico e tendência de consumo, como os lácteos especiais para dietas, reduzidos em sódio e gordura e ainda os adicionados de proteínas ou compostos naturais bioativos gerando produtos diferenciados, respalda a importância do congelamento de leite e queijos para o setor de lácteos, considerando que ao mesmos necessitam participar de forma competitiva no cenário atual, o congelamento seria uma possível alternativa para aumentar a autonomia da produção de lácteos diferenciados e com qualidade. Contudo, são necessários estudos que determinem a influência deste

processo nas características da matéria prima e conseqüentemente do produto elaborado. Neste sentido o presente estudo avaliou a massa de queijo de coagulação ácida congelada e a aplicação desta na produção de requeijão cremoso em escala industrial, envolvendo a logística real de um laticínio.

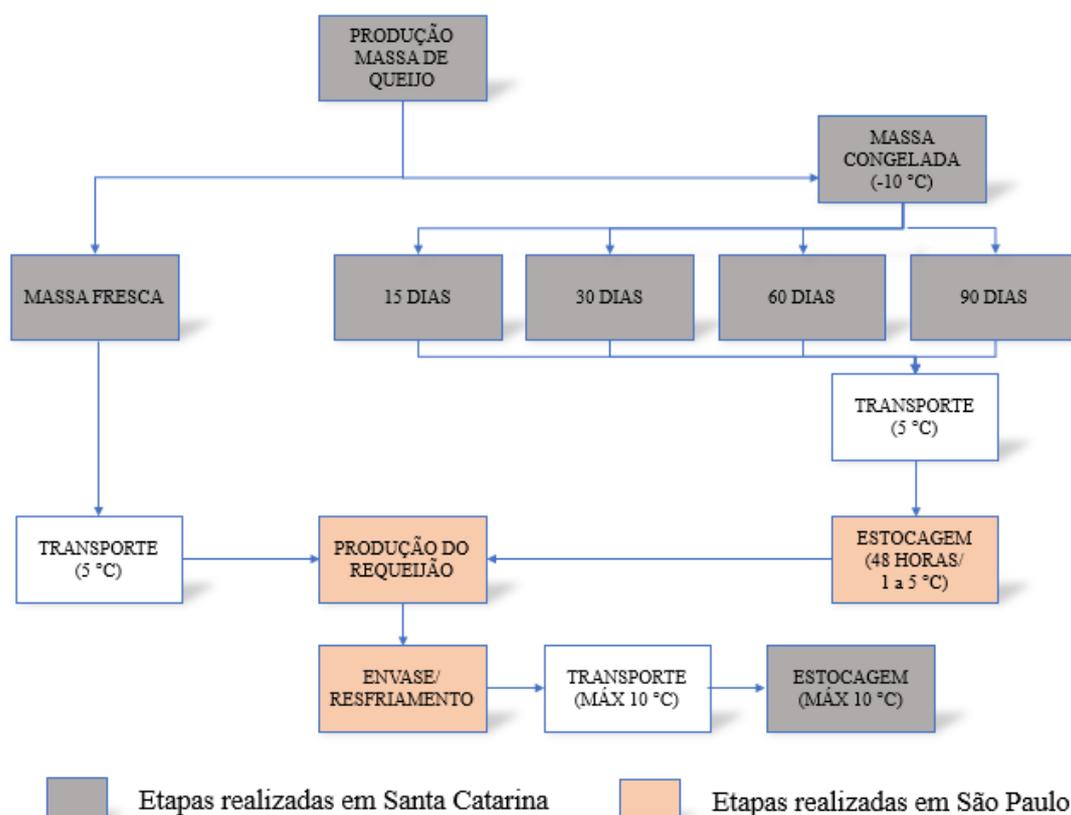
4 MATERIAIS E MÉTODOS

As análises físico-químicas, análises frações proteicas, eletroforese das proteínas e os parâmetros tecnológicos do requeijão foram conduzidas no Departamento de Engenharia de Alimentos e Engenharia Química, Departamento de Zootecnia e no Centro de Ciências Tecnológicas da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC. O experimento foi conduzido em triplicada de análise e réplica de amostra.

As duas bateladas de massa de queijo ácida foram produzidas por um Laticínio da Região Oeste de Santa Catarina, assim como o processo de conservação por congelamento. Avaliou-se a massa de queijo fresca (MQF) e após 15 (MQ15), 30 (MQ30), 60 (MQ60), 90 (MQ90) e 120 (MQ120) dias de congelamento. As massas congeladas foram enviadas para uma indústria processadora situada na região Noroeste de São Paulo para a produção dos requeijões cremosos.

O fluxo do transporte da massa de queijo, elaboração do requeijão e conservação do produto estão na Figura 3.

Figura 3 - Fluxo do transporte de massa de queijo congelada e processamento do requeijão cremoso.



Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

4.1 DELINEAMENTO DOS EXPERIMENTOS

4.1.1 Massa de queijo de coagulação ácida

O leite cru foi totalmente desnatado e submetido ao tratamento térmico, a 75 °C por 15 segundos. Em seguida, foi transferido para o tanque de produção para a adição de fermento lácteo, composto por cepas de *Streptococcus salivarius subsp. t*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus*. Após adição do fermento, o leite permaneceu por aproximadamente 3 horas até a formação da coalhada (pH 4,90), seguindo para o corte. O soro obtido do corte foi parcialmente retirado do tanque de produção e a massa aquecida até 65 °C. Após foi realizada a dessoragem total. A massa ácida passou por lavagens com água a 5 °C para estabilização do pH. O intuito da lavagem da massa com água gelada é reduzir a acidez até atingir valor inferior a 1 °D. Em seguida, foi realizada a prensagem da massa durante 1 hora, e envase em embalagem de polietileno de baixa densidade com capacidade aproximada para 17 kg de produto.

As embalagens de massa fresca destinadas a análise sem congelamento foram mantidas por 12 horas em câmara fria a 5 °C e, posteriormente, transportadas de acordo com a Figura 3.

As demais massas de queijo de ambas as bateladas foram estocadas em câmara de congelamento lento com temperatura estabelecida em -10°C, empilhadas sob paletes, conforme representado na Figura 4, para ambas as bateladas. A câmara continha sensor de temperatura localizado no ponto central desta, próximo ao teto. Ainda, as massas foram submetidas a monitoramentos constantes de temperatura até atingir aproximadamente -10 °C, através de termômetro infravermelho com mira a laser (Modelo Testo 830-T1). Ao longo dos 120 dias de congelamento a temperatura do produto foi monitorada diariamente.

Figura 4 - Ilustração da câmara de estocagem da massa de queijo sob congelamento a temperatura média de $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$.



Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

As massas de queijo, a cada intervalo de avaliação, foram enviadas para produção do requeijão, seguindo o fluxo descrito na Figura 2. O tempo de transporte da indústria de origem até a de produção do requeijão foi de aproximadamente 24 horas, sob temperatura média de $5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Após a chegada na indústria, as massas permaneceram estocadas por 48 horas em câmara fria com temperatura de $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ para a realização do descongelamento e em seguida para a etapa de processamento do requeijão.

4.1.2 Requeijão cremoso

Para a produção do requeijão utilizou-se a mesma formulação e processo rotineiro da indústria processadora. Os ingredientes utilizados na fabricação foram: creme de leite 55 % de gordura), massa coalhada de coagulação ácida (MQF, MQ15, MQ30, MQ60, MQ90 e MQ120), leite em pó desnatado, cloreto de sódio, estabilizantes tetrapirofosfato de sódio e fosfato trissódico e conservantes sorbato de potássio e nisina. Para cada produção obteve-se requeijões oriundos das massas fresca e congelada, sendo RQF (requeijão obtido da MQF), RQ15 (requeijão obtido da massa MQ15), RQ30 (requeijão obtido da MQ30), RQ60 (requeijão obtido da MQ60), RQ90 (requeijão obtido da MQ90) e RQ120 (requeijão obtido da MQ120). A massa de queijo e ingredientes foram fundidos

a 90 °C e o tempo de paralisação do processo de cremificação foi definido de acordo com o teor de umidade atingido (máximo 65 g/100 g).

Após a produção os requeijões foram envasados em embalagens plásticas de 200 gramas e direcionados para resfriamento em câmara fria a -10°C até atingir temperatura inferior a 10 °C. Em seguida, estocados e transportados em temperatura máxima de 10 °C. O requeijão foi estocado por 10 dias até análises.

4.2 MÉTODOS ANALÍTICOS

As análises físico-químicas realizadas no leite cru e pasteurizado, massa de queijo e requeijão foram: acidez, pH, lipídios, sólidos totais, sólidos não gordurosos, proteína total, umidade, gordura no extrato seco e minerais cálcio e potássio. Além das caracterizações das massas de queijo e requeijões, efetuou-se a determinação de caseína relativa, eletroforese, rendimento, microestrutura eletrônica de varredura, análise do perfil de textura e cor instrumental.

No Quadro 3 estão descritas as análises realizadas em cada matriz e no Quadro 4 encontram-se a metodologia e referências metodológicas.

Quadro 3 - Análises utilizadas nas determinações analíticas dos leites, massas de queijo, e requeijão cremoso.

Matriz	Análises físico-químicas
LC e LP	A, pH, L, ST, SNG, PT e M
MQF	A, pH, L, U, PT, M, CR, MEV e E
MQ15, MQ30, MQ60, MQ90 e MQ120	A, pH, CR, MEV e E
RQF, RQ15, RQ30, RQ60, RQ90 e RQ120	A, pH, L, U, PT, GES, M, R, TPA e COR

Massa de queijo fresca (MQF), massa de queijo com 15 (MQ15), 30 (MQ30), 60 (MQ60), 90 (MQ90) e 120 (MQ120) dias de congelamento, leite cru (LC), leite pasteurizado (LP), Acidez (A), pH (pH), lipídios (L), sólidos totais (ST), sólidos não gordurosos (SNG), proteína total (PT), umidade (U), gordura no extrato seco (GES) e minerais cálcio e potássio (M). Além das caracterizações das massas de queijo e requeijões, efetuou-se a determinação de caseína relativa (CR), eletroforese (E), rendimento (R), microestrutura eletrônica de varredura (MEV), análise do perfil de textura (TPA) e cor instrumental (COR).

Fonte: Elaborado pela autora, 2019

Quadro 4 - Parâmetros e metodologias analíticas utilizadas.

Parâmetro	Método	Referência
A	Titulométrico n° (947.05)* Titulométrico	(AOAC, 2016) (IAL, 2005)
pH	Potenciométrico	Medidor de pH de bancada (DIGIMED DM22)
L	*Gerber (n° 2000.18) **Gerber	(AOAC, 2016)
P	*Micro - Kjeldahl para N total, F 6,38 (n° 991.20) **(n° 2001.14)	(AOAC, 2016 e Silva et al., 1997)
ST	(n° 990.20)	(AOAC, 2016)
SNG	(n° 990.21)	(AOAC, 2016)
M	Espectrofotometria de absorção atômica n° 985.35	(AOAC, 2016)
U	Analizador de Infravermelho	(MB 35 – OHAUS)
GES	Fórmula	(AOAC, 2016)

Acidez (A), pH (pH), lipídios (L), sólidos totais (ST), sólidos não gordurosos (SNG), proteína total (PT), umidade (U), gordura no extrato seco (GES) e minerais cálcio e potássio (M). * Método usado somente no LC e LP. ** Método utilizado para os demais MQF, MQ15, MQ30, MQ60, MQ90 e MQ120 e RQF, RQ15, RQ30, RQ60, RQ90 e RQ120.

Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

4.2.1 Rendimento

O rendimento foi calculado a partir da quantidade em quilogramas resultante do produto final.

4.2.2 Caseína Relativa

A caseína relativa foi determinada pela Equação (1) (VAN DENDER, 2014), sendo necessário determinar os compostos nitrogenados: Nitrogênio Total (NT), Nitrogênio Não Proteico (NNP) e Nitrogênio Não Caseico (NNC), pelo método de *Micro-Kjedahl* (AOAC, 2016).

$$\% \text{ Caseína Relativa} = (\text{NC} * 100) / \text{NT} \quad (1)$$

Onde: Nitrogênio caseico (NC) e nitrogênio total (NT).

Para o preparo das amostras seguiu-se o proposto por Silva *et al* (1997). As massas de queijo foram trituradas e acrescidas de citrato de sódio 0,5 M seguindo para a determinação das frações nitrogenadas. Para a determinação do nitrogênio total (NT), uma alíquota foi destinada para análise de *Micro-Kjedahl*. Para quantificação de nitrogênio não caseico (NNC) adicionou-se ácido clorídrico 1,41 M e para a determinação do nitrogênio não proteico (NNP), adicionou-se ácido tricloroacético 24%, na amostra da massa de queijo triturada. Ambas soluções seguiram para filtração do sobrenadante em papel filtro qualitativo *Whatmann 2* (*Sigma, Aldrich*) e posterior análise por *Micro-Kjedahl* do filtrado.

A fração de nitrogênio caseico (NC) foi obtida através da Equação 2 após a determinação dos compostos nitrogenados:

$$\text{NC} = \text{NT} - \text{NNC} - \text{NNP} \quad (2)$$

Onde: Nitrogênio caseico (NC), nitrogênio total (NT), nitrogênio não caseico (NNC) e nitrogênio não proteico (NNP).

4.2.3 Eletroforese de proteínas

A caracterização parcial das proteínas (α -caseína, β -caseína e κ -caseína) foi realizada utilizando eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS PAGE), com modificações (Laemmli, 1970 e Magenis *et al.*, 2014).

As amostras foram liofilizadas (TFD5503, Ilshin Lab. Co. Ltd., Coréia) e posteriormente diluídas em 4 mg/mL de água e agitadas em um agitador “vortex” por 10

minutos e mantidas em repouso por 1 hora. Retirou-se 10 μL em um tubo tipo Eppendorf e adicionou-se 40 μL do tampão de amostra. A seguir foi aquecido a 95 °C durante 5 minutos. Os géis utilizados foram de separação a 15% e de empacotamento a 4%. Alíquotas de 20 μL de amostra e 15 μL do marcador padrão (*Broad Range Protein Molecular Weight Markers* - Promega) foram injetadas em cada poço vertical e a Eletroforese foi realizada em tensão constante de 250 V e 30 A por 210 minutos. Posteriormente, os géis foram corados com *Coomassie Brilliant Blue R-250* (0,3%) em 40% de metanol e 10% de ácido acético em *overnight*. As massas moleculares foram estimadas comparando as bandas de proteínas padrões em relação as amostras.

4.2.4 Microscopia Eletrônica de Varredura

As amostras de massa de queijo fresca e congelada foram preparadas para a microscopia eletrônica de varredura (MEV), de acordo com a metodologia utilizada por Lobato-Calleros *et al.* (2002) e Freire (2009), com modificações. As amostras foram congeladas a -80 °C e posteriormente liofilizadas em equipamento (TFD5503, Ilshin Lab. Co. Ltd., Coréia) por 24 horas. As amostras liofilizadas foram fixadas em superfície adesiva condutora e recobertas com ouro em *sputter coater* (SCD 050, Baltech, Brasil), de modo a torná-las condutoras. Foi utilizado um microscópio eletrônico de varredura de emissão de campo (FEG) (JSM6701F, JEOL, Brasil) equipado com sistema de microanálise por espectrometria de raios X (EDS), do Laboratório de Microscopia Eletrônica da UDESC-Joinville. As análises foram realizadas a 15 kV e ampliação da imagem de 1000 vezes.

4.2.5 Análise do Perfil de Textura e Cor Instrumental

A TPA do requeijão cremoso foi realizada em texturômetro (Brookfield, CT3 Texture Analyzer), (10 \pm 1 °C), com probe cilíndrica de acrílico, de 25,4 mm de diâmetro. O teste foi conduzido nas seguintes condições: célula de carga de 500 N, distância de compressão de 20% da altura do produto, velocidade de 1,0 mm/s, tempo de contato de 5 segundos com dois ciclos de penetração de acordo com Rapacci *et al.* (1998). Foram analisadas as características mecânicas de dureza, adesividade, elasticidade, coesividade e gomosidade.

Para avaliação instrumental da cor foi utilizado o colorímetro digital modelo CR 300 (Minolta). A cor foi expressa em parâmetros do modelo tridimensional, L* (luminosidade, variando do branco ao negro) e b* (cromaticidade, azul ao amarelo), visto que o requeijão tem sua cor variando do creme ao branco (BOSI, 2008).

4.3 AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA

As formulações do estudo foram elaboradas em réplica de batelada e as análises conduzidas em triplicata de experimentos. Os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de média de LSD a 5% através Software STATGRAPHICS CENTURION 9.0, considerando um nível de 95% de confiança ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados das análises físico-químicas, frações proteicas, eletroforese e dos parâmetros tecnológicos do requeijão elaborado com a massa sem congelamento (MQF) e congeladas MQ15, MQ30, MQ60, MQ90 e MQ120 serão apresentados nesta sessão.

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO LEITE

Os resultados médios da composição do leite cru e pasteurizado utilizados na elaboração das massas de queijo encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1 - Caracterização físico-química do leite cru e leite pasteurizado.

Parâmetro	Leite Cru	Leite Pasteurizado
pH	6,75 ± 0,01	*
Acidez (g/100 g)	0,16 ± 0,00	*
Gordura (g/100 g)	3,65 ± 0,00	*
Sólidos totais (g/100 g)	12,60 ± 0,08	*
Sólidos não gordurosos (g/100 g)	8,86 ± 0,08	*
Proteína (g/100 g)	3,35 ± 0,03	*
Cálcio (mg/L)	3146 ± 632	2001 ± 365
Potássio (mg/L)	816 ± 185	980 ± 108

* Parâmetro não analisado.

Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

Os valores encontrados estão de acordo com o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA (BRASIL, 2017), no qual a acidez deve estar entre 14 e 18 °D, gordura acima de 3 g/100 g, sólidos totais acima de 11,40 g/100 g, sólidos não gordurosos acima de 8,4 g/100 g e proteína maior que 2,9 g/100 g.

Giroux *et al* (2018) encontraram teor de cálcio inferior (1143 ± 7 mg/L) e o teor de potássio superior (1510 ± 24 mg/L) aos deste estudo. O conteúdo de cálcio no leite pode sofrer variações ocasionados por diversos fatores, como estágio de lactação e nutrição dos animais, fatores genéticos e variações climáticas (KALYANKAR *et al.*, 2016). Após a pasteurização do leite, observa-se redução dos teores de minerais. Os tratamentos térmicos podem deslocar parte do cálcio e fosfato solúvel para a fase coloidal, resultando na precipitação do fosfato tricálcico (SILVA; ALMEIDA, 2000). O teor de

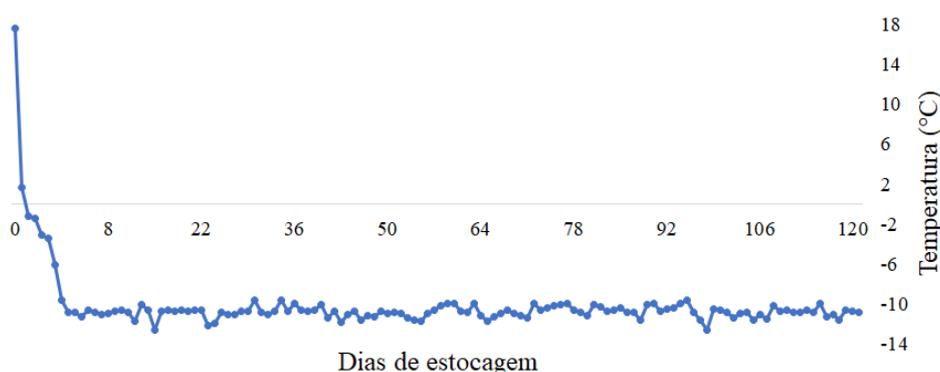
cálcio tem grande importância na coagulação do leite, pois encontra-se em equilíbrio entre o fosfato de cálcio coloidal e o cálcio sérico, onde estão ligadas biomoléculas, especialmente o citrato e outros ácidos orgânicos (SORENSEN *et al.*, 2019).

5.2 AVALIAÇÃO DA MASSA DE QUEIJO ÁCIDA

5.2.1 Condições de estocagem e descongelamento da massa de queijo

A Figura 5 apresenta o monitoramento das temperaturas de estocagem das massas submetidas ao congelamento.

Figura 5 - Monitoramento da temperatura de estocagem das massas de queijo congeladas em câmara fria do laticínio.



Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

As massas de queijo apresentaram temperatura média de $17,6 \pm 0,8$ °C ao entrarem na câmara de congelamento. Após aproximadamente 14 horas, atingiram a temperatura de -10 °C. Ao longo dos 120 dias de congelamento houveram variações da temperatura permanecendo em temperatura média de $-10,9 \pm 1,4$ °C.

Diante do tempo transcorrido para atingir o congelamento e frente a temperatura de estocagem das massas, o processo na qual as massas foram conservadas, de acordo com Freitas e Figueiredo (2000), caracteriza-se como congelamento lento.

A formação de maiores cristais de gelo, resultantes de uma taxa lenta de redução de temperatura, propiciam as alterações na massa de queijo, alterando a proteína e aprisionando os glóbulos de gordura (ZHANG *et al.*, 2006, FONTECHA *et al.*, 1993, KLJAJEVIC *et al.*, 2016, KOSCHAK *et al.*, 1981).

5.2.2 Avaliação do comportamento da massa de queijo fresca

As características físico-químicas da massa de queijo fresca foram: gordura ($1,0 \pm 0,0$ g/100 g) e teor de umidade ($61,853 \pm 0,674$ g/100 g). O teor de gordura relativamente baixo encontrado no presente estudo está relacionado ao processo de desnatado do leite antes da pasteurização. Zacarchenco *et al.* (2017) em um estudo de caracterização de massa básica de requeijão cremoso obtiveram teor lipídico de $2,64 \pm 0,09$ g/100 g nas massas de queijo obtidas de leite desnatado.

Em relação a umidade, as massas de queijo ácida para elaboração de requeijão são caracterizadas como de muito alta umidade (BRASIL, 1996). A matriz proteica com esta característica pode ocasionar um aumento da atividade de água do queijo processado, tornando-o mais susceptível ao crescimento bacteriano e deterioração do produto (EL-BAKRY, 2012)

O conteúdo mineral em relação ao potássio para as massas de queijo fresca foi de 804 ± 157 mg/L. Para o teor de cálcio obteve-se 5314 ± 681 mg/L. Rappaci (1997), em estudo envolvendo produção de requeijão com massa de queijo obtida por coagulação ácida, relatou valores no teor de cálcio e potássio de 696 mg/L e 614 mg/L, respectivamente. Os valores elevados de cálcio na massa de queijo pode estar ligado com o expressivo conteúdo mineral proveniente do leite utilizado como matéria-prima na produção da massa.

O teor de cálcio no queijo é um dos principais parâmetros que contribuem para a capacidade de fusão das massas usadas em queijos processados. Em formulações com teores de cálcio elevados na matriz proteica, conforme os dados do estudo, implica em maior dificuldade de fusão da massa devido as ligações do cálcio com as caseínas, o que requer o uso de um sal fundente adequado para promover a fusão (LUCEY e FOX, 1993).

5.2.3 Avaliação da massa de queijo fresca e congelada

Na Tabela 2 estão apresentadas as análises de pH, acidez, proteína total e caseína relativa da massa de queijo fresca e das massas de queijo submetidas a estocagem sob congelamento até 120 dias.

Tabela 2 - Resultados de pH, acidez, proteína total e teor de caseína relativa das massas de queijo fresca (MQF) e com 15 (MQ15), 30 (MQ30), 60 (MQ60), 90 (MQ90) e 120 (MQ120) dias de congelamento.

Amostra	pH	Acidez (g/100 g)	Proteína Total (g/100 g)	Caseína Relativa (%)
MQF	4,83 ± 0,03 ^a	0,226 ± 0,03 ^a	24,40 ± 4,51 ^a	93,30 ± 7,70 ^a
MQ15	4,74 ± 0,03 ^b	0,251 ± 0,03 ^a	22,23 ± 4,55 ^a	92,50 ± 5,10 ^a
MQ30	4,72 ± 0,04 ^{bc}	0,295 ± 0,03 ^b	24,93 ± 4,56 ^a	94,00 ± 5,00 ^a
MQ60	4,69 ± 0,04 ^{cd}	0,310 ± 0,03 ^b	21,62 ± 4,51 ^a	89,60 ± 5,10 ^{ab}
MQ90	4,67 ± 0,04 ^d	0,311 ± 0,03 ^b	23,62 ± 4,55 ^a	86,30 ± 5,00 ^b
MQ120	4,66 ± 0,04 ^d	0,318 ± 0,03 ^b	23,38 ± 4,52 ^a	68,00 ± 5,10 ^c

Média de três valores de cada batelada ± desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não apresentam diferença estatística entre si pelo teste LSD ($p < 0,05$). Massa de queijo fresca (MQF), massa de queijo com 15 (MQ15), 30 (MQ30), 60 (MQ60), 90 (MQ90) e 120 (MQ120) dias de congelamento.

Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

Todos os parâmetros físico-químicos avaliados apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) ao longo dos tempos de congelamento das massas quando comparados aos resultados para a massa de queijo fresca, exceto o teor de proteína total, resultando em um valor médio de 22,70 g/100 g.

O pH das massas de queijo congeladas sofreram redução ao longo do período de congelamento em relação à MQF. A acidez da massa manteve-se constante ao longo dos 15 dias de estocagem (MQ15) em relação a MQF. No entanto, a partir dos 30 até os 120 dias de congelamento, houve aumento da acidez da massa em relação a MQF e MQ15, mostrando-se inversamente proporcional ao pH. Cabe ressaltar que as variações de pH não foram expressivas, bem como que as massas foram lavadas até o soro atingir acidez de 0,1 g/100 g, buscando ajustes de pH ou pelo uso de sal fundente específico, conforme indicado em Van Dender (2014), sendo neste estudo realizado pelo laticínio em escala normal de produção.

Considerando que valores de pH entre 4,6 e 4,9, resultam em requeijões com menor propriedade elástica, e acima de 6 possuem consistência menos firme e elástica, (KAPOOR, *et al.*, 2007, LUCEY, 2013, SÁDLÍKOVÁ *et al.*, 2010, LEE *et al.*, 2015, BRICKLEY *et al.*, 2008 e MARCHESSEAU *et al.*, 1995) o pH da MQF ($4,83 \pm 0,03$) apresenta valor característico de requeijão de maior dureza.

Esse fenômeno de redução de pH e aumento da acidez pode ser ocasionado em virtude do congelamento das massas, pois na primeira fase, a água livre do alimento cristaliza-se e o soluto concentra-se, conforme a temperatura vai reduzindo, a formação

de cristais aumenta e conseqüentemente o aumento da concentração de solutos nas soluções celulares também, podendo causar as alterações de pH (NEVES, 1991).

Ressalta-se que o processo de descongelamento das massas foi realizado segundo Scheurer (2005), onde em temperatura de 5°C pelo período de 48 horas evita-se a formação de característica indesejável em queijo processados em relação a sua consistência, em câmara fria, o que estaria assegurando o possível desenvolvimento de contaminações e alterações de pH e acidez.

O teor de caseína relativa calculado a partir das frações de nitrogênio sofreu alterações em função do tempo de congelamento, mas manteve-se constante até os primeiros 60 dias. A MQ90 apresentou teores estatisticamente iguais ($p < 0,05$) a MQ60. A massa estocada no período máximo de congelamento (MQ120) apresentou redução de 27,1 % de caseína relativa em relação a massa de queijo fresca.

O congelamento lento, em virtude da formação dos cristais de gelo em tamanhos maiores, resulta na desnaturação e desestabilização da proteína, fato observado com a redução do teor de caseína relativa ao longo da estocagem das massas de queijo sob congelamento (ZHANG *et al.*, 2006, FONTECHA *et al.*, 1993, KLJAJEVIC *et al.*, 2016, KOSCHAK *et al.*, 1981).

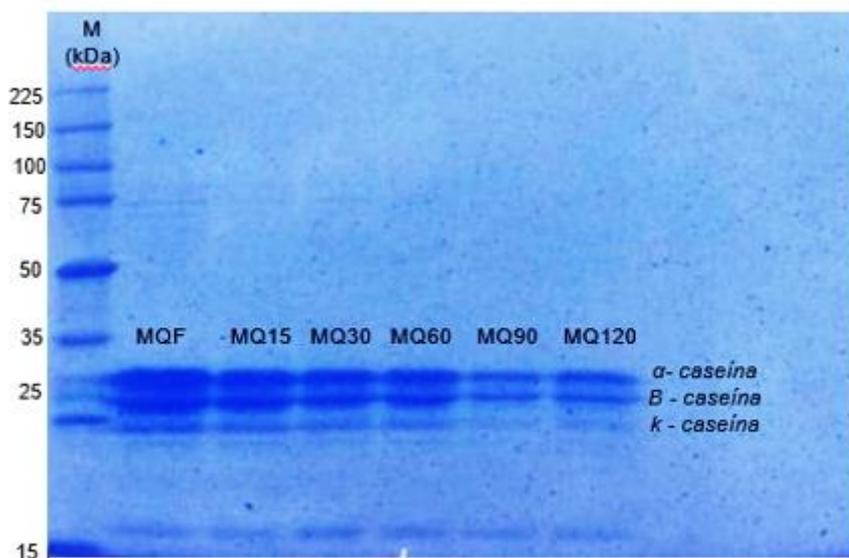
De acordo com Van Dender (2014), para que o requeijão cremoso tenha as propriedades características, o teor de caseína relativa presente na matriz proteica deve ser acima de 50%, já que esta define o índice de cremificação do requeijão, como por exemplo, os queijos maturados que possuem maior índice de caseína hidrolisada pode não atingir o recomendado, resultando em requeijão com menor dureza, já que possuem menor conteúdo de caseína relativa, também definida como intacta.

O teor de caseína relativa em queijos maturados é similar aos processos onde a massa de queijo é submetida ao congelamento lento, como na presente pesquisa, já que este resultou também em menores níveis de caseína relativa. No entanto, mesmo apresentando redução ao longo do congelamento, a massa com 120 dias de estocagem (MQ120) apresentou teor de caseína relativa acima de 50%, sendo portanto indicada para produção do requeijão considerando que as massas de queijo com maiores índices de caseína relativa tendem a formar um requeijão com maior dureza, devido a maiores interações entre proteína (caseína relativa) e gordura (GUINEE *et al.*, 2004, LEE *et al.*, 2003).

5.2.4 Eletroforese

A Figura 6 apresenta o perfil eletroforético das massas de queijo fresca (MQF) e congeladas nos tempos 15 (MQ15), 30 (MQ30), 60 (MQ60), 90 (MQ90) e 120 (MQ120) dias. As massas de queijo fresca e congeladas apresentaram bandas indicativas de frações de caseínas presentes.

Figura 6 - Representação do perfil eletroforético das proteínas nas massas de queijo fresca (MQF) e com 15 (MQ15), 30 (MQ30), 60 (MQ60), 90 (MQ90) e 120 (MQ120) de congelamento.



Massa de queijo fresca (MQF), massa de queijo com 15 (MQ15), 30 (MQ30), 60 (MQ60), 90 (MQ90) e 120 (MQ120) dias de congelamento.

Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

A MQF apresentou as bandas com maior intensidade de marcações no eletroforetograma das frações de caseínas quando comparadas as massas de queijo congeladas. Em relação a banda de caseína de menor massa molecular (próxima a 15 kDa), a partir dos 90 e 120 dias de congelamento, observou-se menor intensidade da banda formada quando comparadas as demais massas congeladas e a massa padrão (MQF).

No leite, as caseínas α_1 , α_2 , β -caseína, κ -caseína apresentam massas moleculares de 23,599 kDa, 25,206 kDa, 23,973 kDa e 19,052 kDa, respectivamente (DAVE; SINGH, 2019), tais bandas evidenciadas no eletroforetograma do presente estudo. Magenis (2014) em estudo de avaliação de autenticidade de queijo minas frescal,

observou pesos moleculares das frações de caseína acima dos indicados pela literatura, apresentando-se na faixa de 32 kDa.

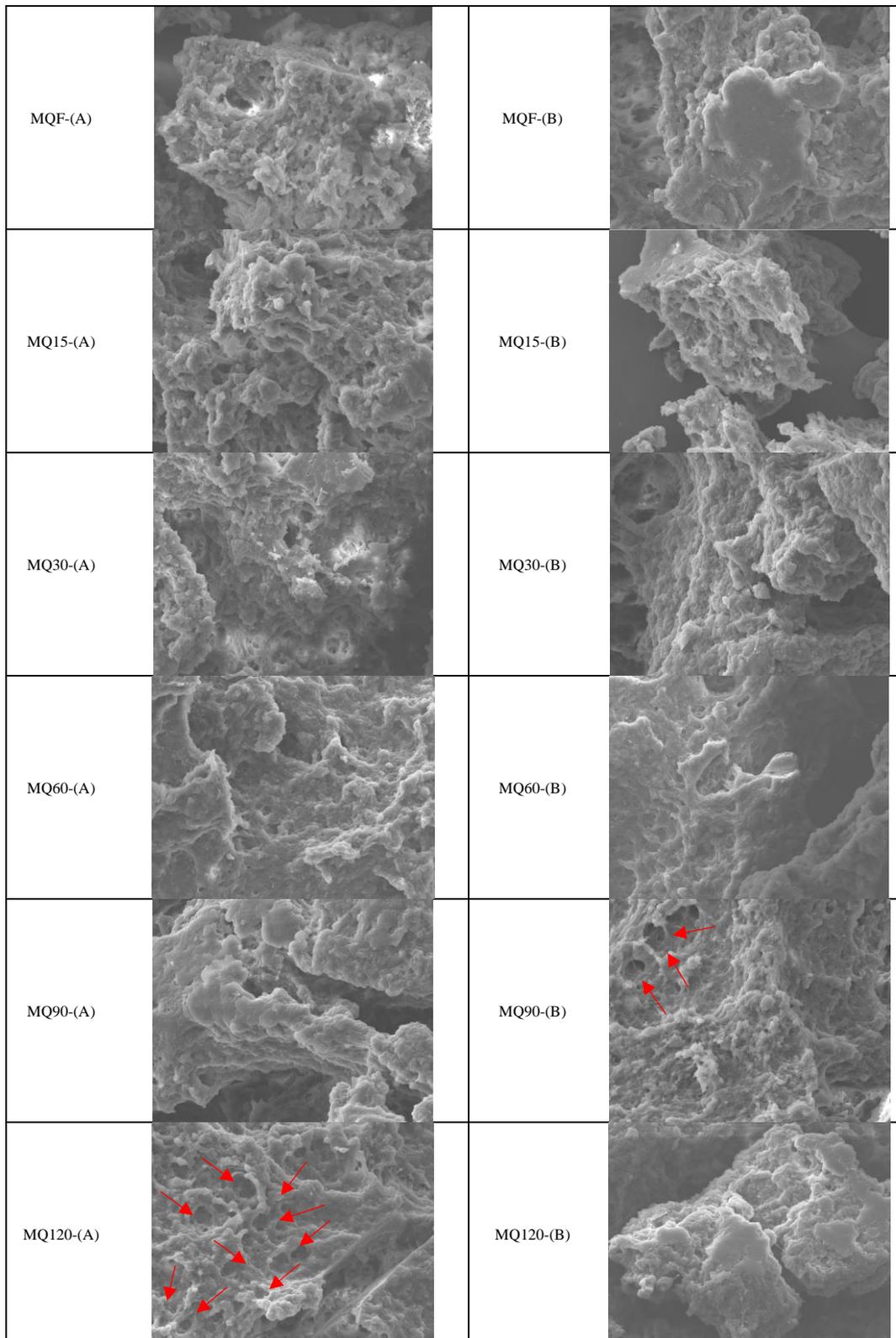
O eletroforetograma (Figura 6) exhibe uma degradação da caseína de menor massa molecular (*k*-caseína) nos tempos 90 e 120 dias e possivelmente refletindo na mudança das bandas de massa molecular próxima a 15 kDa nos tempos 30, 60 e 90 dias, o que pode ser um produto secundário resultante da degradação das frações de caseínas.

Esta apresentação do eletroforetograma pode correlacionar a fração de caseína de menor nitidez com o teor de caseína relativa do produto (Tabela 2), onde as massas com maiores tempos de congelamento apresentaram menor conteúdo de caseína relativa e bandas menos aparentes em relação a massa de queijo fresca.

5.2.5 Microscopia Eletrônica de Varredura

As micrografias das massas de queijo das duas bateladas produzidas no laticínio encontram-se representadas na Figura 7.

Figura 7 – Representação das micrografias das massas de queijo fresca (MQF) e congeladas durante 15 (MQ15), 30 (MQ30), 60 (MQ60), 90 (MQ90) e 120 (MQ120) dias de congelamento com aumento de 1000 vezes para as réplicas A e B.



Massas de queijo fresca (MQF) e congeladas durante 15 (MQ15), 30 (MQ30), 60 (MQ60), 90 (MQ90) e 120 (MQ120) dias de congelamento.

Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

As réplicas das massas frescas (MQF) apresentaram um comportamento semelhante. Em relação as avaliações das massas submetidas ao congelamento, a MQ120-A e a MQ90- B apresentaram visualmente uma estrutura porosa (espaços vazios), o que pode ser explicado por superfícies onde haviam se formado cristais de gelo. O crescimento dos cristais de gelo acontece nos poros devido a presença de água na matriz que está sendo transformada ao longo do armazenamento por congelamento (BAIER-SCHENK *et al.*, 2005).

O fato da estrutura mais porosa observada na MQ120-A mostra-se interligada com o menor teor de caseína relativa do produto nesse tempo, comportamento atribuído a formação dos cristais de gelo maiores, que tem início no ponto de congelamento do alimento, causando alteração na temperatura de transição vítrea. A cristalização da água, com a redução gradativa da temperatura, resulta no aumento da temperatura de transição vítrea, de forma que a fase crioconcentrada alcance o máximo teor de sólidos, paralisando a formação de cristais (AZEREDO, 2012). Desta forma, no momento em que o produto atingiu a temperatura congelamento, ao longo do período de estocagem, as oscilações de temperatura ($-10,9 \pm 1,4$ °C) podem ter propiciado alterações no meio e modificações dos cristais de gelo já formados, ocasionado pequenas rupturas na matriz proteica originando as alterações nos índices de caseína relativa, especialmente devido ao congelamento deste estudo ser caracterizado como lento (-10 °C), de acordo com a Figura 5.

5.3 AVALIAÇÃO DO REQUEIJAO

5.3.1 Condições de processo

A Tabela 3 apresenta os parâmetros de processo de produção dos requeijões elaborados a partir das massas de queijo fresca e congeladas.

Tabela 3 - Resultados dos parâmetros de processo na elaboração dos requeijões cremosos oriundo das massas de queijo fresca (MQF) e com 15 (MQ15), 30 (MQ30), 60 (MQ60), 90 (MQ90) e 120 (MQ120) dias de congelamento.

Parâmetros	Período de Armazenamento (dias)			
	Temperatura Fusão (°C)	Tempo Fusão (min)	Umidade (g/100 g)	Rendimento (kg)
RQF	90,00 ± 0,00 ^a	44,00 ± 3,30 ^a	64,41 ± 0,32 ^a	411,23 ± 0,55 ^a
RQ15	90,00 ± 0,00 ^a	41,00 ± 3,40 ^a	62,28 ± 0,31 ^b	383,00 ± 0,41 ^f
RQ30	90,00 ± 0,00 ^a	50,50 ± 3,30 ^b	61,91 ± 0,31 ^c	403,40 ± 0,55 ^b
RQ60	90,30 ± 0,40 ^a	56,50 ± 3,40 ^{cd}	61,26 ± 0,31 ^d	396,00 ± 0,72 ^e
RQ90	90,00 ± 0,00 ^a	54,00 ± 3,10 ^c	61,03 ± 0,31 ^e	400,80 ± 0,55 ^c
RQ120	90,00 ± 0,00 ^a	59,00 ± 3,10 ^d	62,06 ± 0,32 ^c	397,40 ± 0,50 ^d

Média de cada batelada ± desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra na linha não apresentam diferença estatística significativa entre si pelo teste LSD ($p < 0,05$).

RQF (Requeijão produzido a partir da MQF), RQ15 (Requeijão produzido a partir da MQ15), RQ30 (Requeijão produzido a partir da MQ30), RQ60 (Requeijão produzido a partir da MQ60), RQ90 (Requeijão produzido a partir da MQ90), RQ120 (Requeijão produzido a partir da MQ120).

Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

Ao observar a temperatura de fusão entende-se que o processo foi conduzido conforme indicado (VAN DENDER, 2014), em temperaturas entre 70 e 90 °C, entre as quais ocorre o processo de cremificação dos queijos processados, ou seja, a hidratação da caseína da massa de queijo, estruturalmente modificadas pelo sal, aumentando assim a sua viscosidade. A temperatura é importante para a fusão, pois o calor auxilia a peptização da caseína (separação dos agregados hidrofóbicos de caseína em unidades menores), além de, juntamente com os sais emulsificantes, aumentar a capacidade de absorção de água das caseínas. Também, pelo fato de os requeijões cremosos necessitarem de um menor extrato seco, torna-os mais susceptíveis a deteriorações microbianas. Por este fato, a cremificação precisa ser mais intensa e as temperaturas de processo estarem na faixa de 90 – 95 °C (VAN DENDER, 2014).

O tempo de processo apresentou diferença estatística ($p < 0,05$), sendo que o alcance do ponto final do requeijão apresentou aumento para os requeijões elaborados com massa congelada em comparação com a massa de queijo fresca. A variação de tempo entre o RQF e RQ120 foi de 15 minutos.

A duração do processo é um importante parâmetro de controle para garantir a estrutura do produto, no entanto, o tempo varia de acordo com as características da

matéria-prima e produto a ser elaborado (VAN DENDER, 2014). Aquecimentos prolongados podem resultar em requeijões supercremificados, mais viscosos e de menor teor de umidade (CRUZ *et al.*, 2017). Também, a duração do processo é ligada com a produtividade, fator de grande impacto para as indústrias.

Este aumento de aproximadamente 25% no tempo do processo de fusão do requeijão elaborado com MQF em relação as massas congeladas pode estar relacionado a ruptura na estrutura da matriz proteica e redução do teor de caseína relativa em função da estocagem sob congelamento das massas, onde em uma estrutura de caseína mais hidrolisada, necessita-se de maior tempo de agitação. Também, com o congelamento, os glóbulos de gordura podem coalescer resultando na desestabilização da emulsão (ZHANG *et al.*, 2006, FONTECHA *et al.*, 1993, KLJAJEVIC *et al.*, 2016, KOSCHAK *et al.*, 1981).

A umidade apresenta-se como parâmetro importante para a qualidade do requeijão cremoso, principalmente em relação à textura do produto. O ponto do requeijão foi obtido no momento em que a umidade encontrava-se inferior a 65%, valor recomendado por Van Dender (2014). Os valores variaram de 61,26 g/100 g a 64,45 g/100 g. A umidade também está ligada com o rendimento do produto, ou seja, quanto maior o teor, maior quantidade de produto será obtida. O maior rendimento foi obtido no RQF, o qual apresentou maior teor de umidade e menor tempo de processo. Todas as massas são provenientes das mesmas respectivas bateladas.

Guinee e O'Callaghan (2013) estudaram os efeitos da redução de gordura nas propriedades físico-químicas de queijo processado. Para as amostras padrão, com teor de gordura normal (32,5 g/100 g) o teor de umidade encontrado foi de 52,7 g/100 g. Ferrão *et al* (2018) em um estudo também de redução de gordura e com redução de sódio, as amostras padrão de requeijão apresentaram 64,77 g/100 g de umidade, valor próximo ao determinado no presente estudo. Ambos os estudos envolveram queijos processados de matrizes lácteas obtidos de misturas de massas de queijo fresca e maturada sem serem submetidas a processos de congelamento.

Em geral, os requeijões obtidos da massa de queijo fresca apresentaram maior teor de umidade e maior rendimento quando comparado com as massas de queijo congeladas. O RQ15 e RQF apresentaram os menores tempos de processo de elaboração do produto.

5.3.2 Análises físico-químicas do requeijão cremoso

Na Tabela 4 estão apresentados os resultados físico-químicos de pH, acidez, gordura e gordura no extrato seco (GES) dos requeijões cremosos obtidos a partir das massas de queijo fresca e congeladas.

Tabela 4 - Análises físico-químicas dos requeijões cremosos obtidos das massas de queijo fresca (MQF) e com 15 (MQ15), 30 (MQ30), 60 (MQ60), 90 (MQ90) e 120 (MQ120) dias de congelamento.

Período de Armazenamento (dias)	pH	Acidez (g/100 g)	Gordura (%)	GES (%)
RQF	5,73 ± 0,05 ^b	0,36 ± 0,02 ^a	28,57 ± 0,56 ^a	83,47 ± 1,79 ^c
RQ15	5,68 ± 0,05 ^{ab}	0,42 ± 0,03 ^b	28,33 ± 0,57 ^a	74,98 ± 1,79 ^b
RQ30	5,84 ± 0,05 ^c	0,37 ± 0,02 ^a	28,16 ± 0,57 ^a	73,94 ± 1,79 ^{ab}
RQ60	5,64 ± 0,05 ^a	0,41 ± 0,02 ^b	28,50 ± 0,56 ^a	74,42 ± 1,82 ^b
RQ90	5,66 ± 0,05 ^a	0,41 ± 0,02 ^b	28,16 ± 0,44 ^a	72,62 ± 1,79 ^a
RQ120	5,67 ± 0,05 ^a	0,41 ± 0,02 ^b	28,08 ± 0,57 ^a	74,20 ± 1,70 ^{ab}

Média de três valores de cada batelada ± desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não apresentam diferença estatística pelo teste LSD ($p < 0,05$). GES (Gordura no extrato seco), RQF (Requeijão produzido a partir da MQF), RQ15 (Requeijão produzido a partir da MQ15), RQ30 (Requeijão produzido a partir da MQ30), RQ60 (Requeijão produzido a partir da MQ60), RQ90 (Requeijão produzido a partir da MQ90), RQ120 (Requeijão produzido a partir da MQ120).

Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

Os valores de pH apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) entre as amostras avaliadas. O requeijão obtido de massa com 120 dias de congelamento apresentou menor pH quando comparado ao requeijão produzido com MQF. A acidez apresentou comportamento inverso ao parâmetro de pH, ou seja, o requeijão das massas congeladas apresentou acidez maior quando comparado ao requeijão obtido da massa de queijo fresca (MQF). O comportamento de acidez e pH dos requeijões podem ser resultantes das características das massas nas quais foram produzidos, onde a MQF apresentou maior pH e menor acidez quando comparados a MQ120.

Em decorrência da solubilidade, interação e hidrólise dos sais de cálcio, o pH final dos queijos processados geralmente varia de 5,4 a 5,9, possivelmente devido as matérias-primas e ingredientes utilizados na produção (GUINEE et al., 2004).

O tetrapirofosfato de sódio utilizado na produção do requeijão do estudo é um sal largamente utilizado em queijos processados por tornar a consistência do produto mais firme. Já o fosfato trissódico tem seu uso designado para ação tamponante, de forma a aumentar o pH da matriz proteica para a realização da fusão. Essa mistura de sais, garante a maximização da capacidade emulsificante, sequestrante e tamponante, possibilitando a elaboração de um requeijão com características desejáveis (BUNKA *et al.*, 2012).

Queijos processados com valores de pH entre 5,5 e 5,7, como na maioria dos requeijões do estudo, são considerados requeijões com consistência cremosa e de maior dureza. Em pH inferior a 5,4, os queijos processados têm tendência a apresentarem-se mais firmes e acima de 6, requeijões com consistência gomosa, propiciando a separação de gordura devido a menor interação proteína-proteína (VAN DENDER, 2006).

Purna *et al* (2006), em um estudo envolvendo matrizes proteicas de diferentes estágios de maturação, encontrou valores de pH variando de 5,65 a 5,75, resultados próximos ao estudo em questão.

Os valores de gordura não apresentaram diferença estatística ($p > 0,05$). Chen e Liu (2012) em estudo envolvendo requeijão cremoso encontram valores médios de gordura de 22,9 %, sendo que a diferença pode estar relacionada as características desejáveis de cada produto.

A GES apresentou diferença estatística ($p < 0,05$) entre as amostras, sendo que o requeijão da MQF apresentou o maior valor. A GES é uma relação da gordura presente na matéria seca e de acordo com o regulamento de identidade e qualidade do produto, o requeijão cremoso deve conter no mínimo 55% de GES. Os valores mais baixos de GES no estudo foi no RQ90, apresentando-se acima do limite mínimo preconizado pela legislação.

Em um estudo feito por Lee *et al* (2015), o valor médio da gordura no extrato seco encontrado foi de 67,9 g/100 g, valor inferior ao mínimo encontrado no presente estudo.

Os resultados das análises físico-químicas mostram que mesmo havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) para os parâmetros avaliados para os requeijões produzidos, estes encontram-se de acordo com os regulamentos técnicos de identidade do produto, porém, apresentam diferença de alguns estudos realizados por outros autores. A composição química, como a umidade, gordura, gordura na matéria seca e pH são fatores determinantes para as características reológicas e texturais dos requeijões cremosos, além das condições e parâmetros de processamento (BOWLAND; FOEGEDING, 2001).

5.3.3 Teor mineral

A Tabela 5 apresenta os resultados analíticos dos conteúdos minerais (cálcio e potássio) presentes nas amostras de requeijão cremoso obtido das massas de queijo fresca e congeladas.

Tabela 5 - Conteúdo mineral de cálcio e potássio dos requeijões cremosos obtidos das massas de queijo fresca (MQF) e com 15 (MQ15), 30 (MQ30), 60 (MQ60), 90 (MQ90) e 120 (MQ120) dias de congelamento.

Período de Armazenamento (dias)	Cálcio (mg/L)	Potássio (mg/L)
RQF	5344,5 ± 1438,2 ^a	1254,4 ± 253,7 ^{ab}
RQ15	5061,4 ± 1416,9 ^a	1044,1 ± 250,7 ^a
RQ30	5653,2 ± 1433,2 ^a	1458,7 ± 253,5 ^b
RQ60	5013,1 ± 1400,6 ^a	1160,7 ± 253,7 ^a
RQ90	4878,0 ± 1417,9 ^a	1269,9 ± 253,7 ^{ab}
RQ120	2948,6 ± 1416,9 ^b	1428,4 ± 253,7 ^b

Média de três valores de cada batelada ± desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não apresentam diferença estatística pelo teste LSD ($p < 0,05$). RQF (Requeijão produzido a partir da MQF), RQ15 (Requeijão produzido a partir da MQ15), RQ30 (Requeijão produzido a partir da MQ30), RQ60 (Requeijão produzido a partir da MQ60), RQ90 (Requeijão produzido a partir da MQ90), RQ120 (Requeijão produzido a partir da MQ120).

Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

O conteúdo mineral de cálcio demonstrou diferença estatística ($p < 0,05$) para os requeijões elaborados com a massa fresca e congelada. O requeijão RQ120 apresentou redução no conteúdo de cálcio de aproximadamente 44%. Em relação ao potássio, os requeijões com massa congelada não apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) quando comparados ao requeijão produzido com a massa fresca.

O teor de cálcio da massa de queijo foi similar aos encontrados nos requeijões elaborados com as massas fresca e congeladas, o que pode estar relacionado, com as alterações da matriz proteica ao longo da estocagem, verificadas no eletroforetograma e para a caseína relativa, onde o congelamento lento pode formar uma solução de cálcio saturada durante a cristalização, alterando concentração do cálcio solúvel (ZHANG *et al.*, 2006, FONTECHA *et al.*, 1993, KLJAJEVIC *et al.*, 2016, KOSCHAK *et al.*, 1981).

O conteúdo obtido para ambos minerais avaliados foi superior aos valores obtidos por Ferrão *et al* (2018) em estudo de adição de xilooligossacarídeos e redução de sódio em requeijão cremoso, no qual os teores foram $202,00 \pm 2,00$ mg/100 g e $90 \pm 2,00$ mg/100 g para cálcio e potássio, respectivamente. Os teores de minerais no requeijão sofrem influência da quantidade disponível do composto nas matérias-primas utilizadas, sendo que no presente estudo os teores tanto no leite, quanto nas massas de queijo foram relativamente altos. Também, o teor mineral contido nos ingredientes utilizados no produto pode alterar o conteúdo de cálcio no requeijão, assim como o sal fundente utilizado, que quando dissolvido reduz a concentração de cálcio, devido a permeação nos espaços intermicelares (CRUZ, et al., 2017).

5.3.4 Análise de cor instrumental

A Tabela 6 apresenta os resultados das análises de cor (L^* e b^*) dos requeijões elaborados a partir das massas de queijo fresca e congeladas.

Tabela 6 - Resultados das análises de cor instrumental dos requeijões cremosos obtidos das massas de queijo fresca (MQF) e com 15 (MQ15), 30 (MQ30), 60 (MQ60), 90 (MQ90) e 120 (MQ120) dias de congelamento.

Requeijão	L^*	b^*
RQF	$88,71 \pm 0,71^a$	$13,99 \pm 0,93^a$
RQ15	$87,47 \pm 0,72^b$	$15,03 \pm 0,94^b$
RQ30	$86,80 \pm 0,71^b$	$15,69 \pm 0,93^b$
RQ60	$85,83 \pm 0,70^c$	$19,65 \pm 0,93^c$
RQ90	$85,51 \pm 0,73^c$	$18,47 \pm 0,90^c$
RQ120	**	**

Média de três valores de cada batelada \pm desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra na linha não apresentam diferença estatística pelo teste LSD ($p < 0,05$). RQF (Requeijão fabricado a partir da MQF), RQ15 (Requeijão produzido a partir da MQ15), RQ30 (Requeijão produzido a partir da MQ30), RQ60 (Requeijão produzido a partir da MQ60), RQ90 (Requeijão produzido a partir da MQ90), RQ120 (Requeijão produzido a partir da MQ120).

** Parâmetro não analisado.

Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

Em relação ao parâmetro de cor L^* , que relaciona as cores do branco ao negro, houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras. O requeijão da massa de queijo fresca apresentou maior índice quando comparado aos requeijões de massas congeladas.

Porém, o mesmo parâmetro no RQ15 e RQ30 foi maior em relação ao RQ60 e RQ90. O tempo de congelamento influenciou L^* indicando uma diminuição da luminosidade da amostra com tempo, ou seja, os requeijões tornaram-se menos brilhosos quanto maior o tempo de congelamento das massas de queijo.

A redução da luminosidade dos requeijões produzidos de massas congeladas, pode estar relacionado também com o menor teor de umidade e maior tempo de fusão. Hoffmann (2003), em estudo de requeijão cremoso com utilização de concentrado proteico de soro em queijo ultrafiltrado, observou que o maior brilho do produto foi evidenciado em requeijões com maior umidade.

Para o parâmetro b^* (azul ao amarelo) também houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os requeijões avaliados. O requeijão da massa de queijo fresca (RQF) apresentou-se diferente dos demais havendo um aumento dos valores de b^* nos demais requeijões das massas de diferentes tempos de congelamento, evidenciado principalmente no RQ60 e RQ90. Maiores valores de b^* indicaram que os requeijões apresentaram-se mais amarelados quanto maior o tempo de congelamento das massas de queijo.

Belsito *et al* (2016), em um estudo envolvendo a adição de galactooligossacarídeo em requeijão cremoso, para a amostra tradicional, obtiveram valor de luminosidade (L^*) de $94,3 \pm 1,31$, valor superior ao encontrado no estudo.

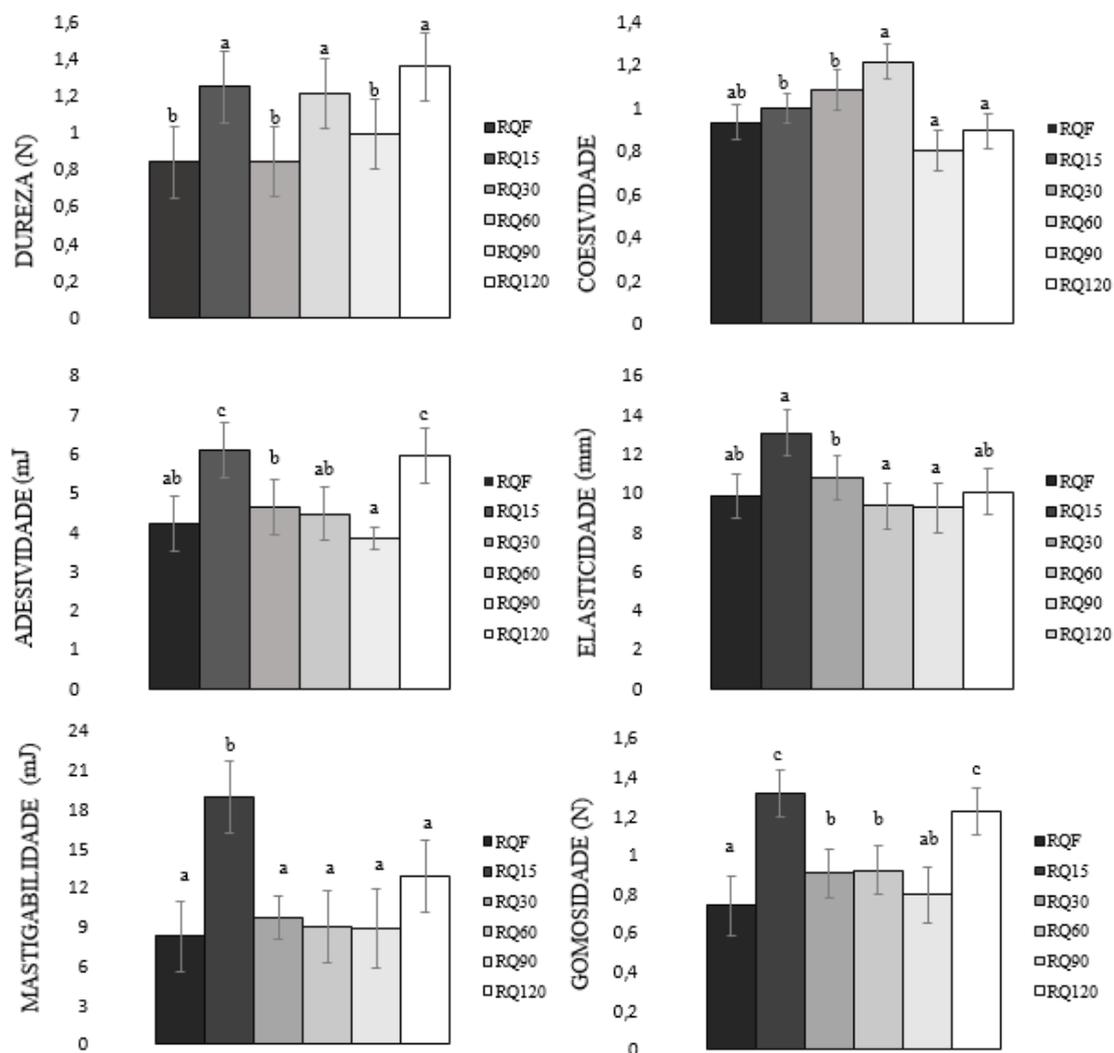
Os requeijões cremosos são caracterizados por possuírem coloração amarelada branca. Os valores positivos para o parâmetro b^* indicam uma tendência para a cor amarela (CUNHA *et al.*, 2010). A cor do queijo processado pode estar relacionada com as características de cor e tamanho dos glóbulos da matéria gorda utilizada, visto que a porcentagem de lipídios presentes na elaboração é elevada. No estudo, o maior valor do parâmetro L^* foi encontrado no RQF, cujo requeijão apresentou também o valor mais elevado de gordura (29,5 g/100 g).

5.3.5 Análise do perfil de textura

A Figura 8 apresenta os parâmetros da análise do perfil de textura dos requeijões cremosos produzidos a partir das massas de queijo fresca e congeladas.

A textura é considerada um parâmetro de qualidade dos queijos processados, sendo desejável uma estrutura lisa e homogênea (CARIC; KALÁB, 1993). De acordo com Van Dender (2014), as avaliações principais para a textura de requeijões são: dureza, coesividade, elasticidade, gomosidade e mastibabilidade.

Figura 8. Apresentação das análises do perfil de textura dos requeijões cremosos obtidos das massas de queijo fresca (MQF) e com 15 (MQ15), 30 (MQ30), 60 (MQ60), 90 (MQ90) e 120 (MQ120) dias de congelamento.



Massa de queijo fresca (MQF), massa de queijo com 15 (MQ15), 30 (MQ30), 60 (MQ60), 90 (MQ90) e 120 (MQ120) dias de congelamento. Barras seguidas pela mesma letra não apresentam diferença estatística pelo teste LSD ($p < 0,05$).

Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

A dureza apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tempos avaliados. Os requeijões obtidos da massa fresca e com 30 e 90 dias de congelamento não diferiram estatisticamente, assim como os requeijões RQ15, RQ60 e RQ120 não apresentaram diferenças estatísticas entre eles ($p < 0,05$). A dureza não apresentou um padrão de comportamento correspondente ao aumento do tempo de congelamento.

A dureza dos requeijões é um parâmetro dependente das características da massa de queijo e matéria gorda que produto foi elaborado. O pH dos requeijões obtidos no

estudo variaram de 5,64 a 5,84. Tais valores de pH, conforme mencionado anteriormente, são capazes de conferir maior firmeza aos requeijões (VAN DENDER, 2006). Ainda, os requeijões com maior dureza foram os requeijões RQ15, RQ60 e RQ120, produtos cujo processo resultou nos menores valores de rendimento e também menor teor de umidade como o RQ60 e RQ90.

Piska e Stetina (2004) em um estudo de influência da matéria-prima maturada e taxa de resfriamento, obtiveram valores de dureza próximos ao relatados no presente estudo, variando de 0,797 a 1,325 N, para requeijões com pH de 5,48 a 5,72.

A adesividade diferiu estatisticamente ($p < 0,05$) do requeijão elaborado com a massa fresca em relação as demais massas. Houve aumento significativo no RQ15 e RQ120. Piska e Stetina (2004) na produção de requeijão cremoso com matriz proteica maturada, encontraram valores de adesividade variando de 0,449 a 0,733 mJ, enquanto no presente trabalho encontrou-se valores mais elevados 3,840 a 6,085 mJ.

Para massas de queijo estocadas a baixas temperaturas é característico um maior poder de emulsificação e, em decorrência disso, um aumento na adesividade do queijo processado (Cruz *et al.*, 2017). Requeijões produzidos com massas com maior teor de caseína intacta, maior adesividade é evidenciada (CRUZ *et al.*, 2017; FOX *et al.*, 2004).

A coesividade do requeijão obtido das massas com congelamento e sem congelamento não apresentou diferenças, no entanto, os requeijões das massas com 15 e 30 dias de congelamento apresentaram maior valor de coesividade em relação a MQ60, MQ90 e MQ120, indicando requeijões mais firmes, de maior ligações internas do produto (VAN DENDER, 2006).

A elasticidade não apresentou diferenças entre os requeijões avaliados, porém o RQ15 foi o requeijão que apresentou maior valor no parâmetro. No caso dos requeijões, quanto maior o valor da elasticidade, mais elástica e contínua é a matriz de caseína (FOX *et al.*, 2004). Os queijos processados elaborados a partir de massa de queijo de coagulação ácida caracterizam-se por possuir textura elástica mais acentuada se comparados aos requeijões de massa enzimática (CRUZ *et al.*, 2017; SCHEURER, 2005).

A gomosidade aumentou nos requeijões elaborados com massa congelada, porém, a RQF e RQ90 não apresentaram diferença estatísticas ($p > 0,05$), já os demais tempos de congelamento resultaram em um aumento na gomosidade. Em relação a mastigabilidade somente o requeijão produzido com a massa com 15 dias de congelamento apresentou diferença estatística ($p < 0,05$) em relação as demais. Bosi (2008) em estudo envolvendo requeijão de baixo teor de gordura e adição de fibras, demonstrou que a gomosidade

tendencia a reduzir quando há aumento na umidade, fator positivo para requeijões cremosos, onde busca-se melhor espalhabilidade.

6 CONCLUSÃO

O congelamento de massas lácteas conforme demonstrado nesse trabalho é uma alternativa para minimizar os impactos causados pela sazonalidade e oferta/demanda de leite/produtos lácteos, contornando a ociosidade industrial, otimizando processos e custos.

Os resultados obtidos neste estudo mostraram que o congelamento da massa de queijo altera suas características físico-químicas, como pH e acidez, além do teor de caseína relativa. No entanto, mesmo havendo redução do teor de caseína relativa a matriz proteica encontra-se com teores aceitáveis para a fabricação de requeijão cremoso. A microestrutura das massas, em seus maiores tempos de congelamento, apresentou espaços vazios indicando a formação de maiores cristais de gelo na matriz proteica indicando a propensão a alterações destas pelo processo de congelamento lento, confirmado pelo perfil eletroforético das frações de caseína.

Os requeijões obtidos de massas de queijo fresca e congeladas apresentaram padrões físico-químicos de acordo com as legislações vigentes, porém, com diferenças entre eles, ocasionadas possivelmente pela matéria-prima, ingredientes e pelo processo de congelamento lento das massas de queijo, resultando em requeijões com dureza mais atenuada, em decorrência do pH, estrutura da gordura e proteína.

O congelamento das massas resultou em requeijões com características similares ao produto elaborado com massa fresca, porém é importante verificar as diferenças dos parâmetros de processo como maior tempo de fusão e menor rendimento, fatores impactantes para as indústrias sugerindo-se assim um estudo para otimização destas variáveis de processo.

7 REFERÊNCIAS

ALVES, R. M. V.; VAN DENDER, A. G. F.; JAIME, S. M.; MORENO, I.; PEREIRA, B. C. Effect of light and packages on stability of spreadable processed cheese. **International Dairy Journal**, v. 17, p. 365-373, 2007.

AZEREDO, H., M., C. Fundamentos de estabilidade de alimentos. **Embrapa**, 2 ed. revisada e ampliada, 326 p, 2012.

BAIER-SCHENK, A.; HANDSCHIN, S.; CONDE-PETIT, G. Ice in prefermented frozen bread dough: na investigation based on calorimetry and microscopy. **Cereal Chemistry**, v. 82, p. 251-255, 2005.

BELSITO, P. C.; FERREIRA, M. V. S.; CAPPATOA, L. P.; CAVALCANTI, R. N.; VIDAL, V. A. S.; PIMENTEL, T. C.; ESMERINO, E. A.; BALTHAZAR, C. F.; NETO, R. P. C.; TAVAREZ, M. I. B.; ZACARCHENCOG, P. B.; FREITAS, M. Q.; SILVA, M. C.; RAICES, R. S. L.; PASTORE, G. M.; POLLONIO, M. A. R.; CRUZ, A. G. Manufacture of Requeijão cremoso processed cheese with galactooligosaccharide. **Carbohydrate Polymers**, 2017, p. 869–875.

BONELL, W. **Chimico-physical process in the manufacture of processed cheese**. Deutsche Molkerei Zeitung, Berlin, v.92, n.32, p. 1415-1420, 1971.

BOSI, M. G. **Desenvolvimento de processo de fabricação de requeijão light e de requeijão sem adição de gordura com fibra alimentar**. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2008.

BOWLAND, E. L.; FOEGEDING, E. A. Small strain oscillatory shear and microstructural analyses of a model processed cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 2372-2380, 2001.

BRASIL, Decreto nº 9013, de 29 de março de 2017. **Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal**. Diário Oficial da União. Brasília, 29 de março de 2017.

BRASIL. Portaria nº 359, de 04 de setembro de 1997. **Aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Requeijão ou Requesón**. Ministério da

Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diário Oficial da União. Brasília, 8 de setembro de 1997.

BRASIL. Portaria nº 146, de 07 de março de 1996. **Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diário Oficial da União. Brasília, 7 de março de 1996.

BRICKLEY, C. A.; AUTY, M. A. E.; PIRAINO, P.; MCSWEENEY, P. L. H. The effect of natural cheddar cheese ripening on the functional and textural properties of the processed cheese manufactured. **Journal of Food Science**, 2007, p. C483-C490.

BRICKLEY, C.A.; GOVINDASAMY-LUCEY, S.; JAEGGI, J.; JOHNSON, M.E.; MCSWEENEY, P.L.H.; LUCEY, J. A. Influence of Emulsifying Salts on the Textural Properties of Nonfat Process Cheese Made from Direct Acid Cheese Bases. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 39-48, 2008.

BRINGE, N.A.; KINSELLA J. E. Forces involved in the enzymatic and acidic coagulation of casein micelles. In *Developments in food proteins*. **Elsevier Applied Science Publishers**, London, 1987, p. 159-194.

BRULE', G.; LENOIR, J.; REMEUF, F. The casein micelle and milk coagulation. In *Cheesemaking: From Science to Quality Assurance*. **Lavoisier Publishing**, Paris, ed. 2ª, p. 7-40, 2000.

BUNKA, F.; DOUDOVÁ, L.; WEISEROVÁ, E.; KUCHAR, D.; MICHÁLEK, J. SLAVIKOVÁ, S. The effect of different ternary mixtures of sodium phosphates on hardness of processed cheese spreads. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, p. 2063-2071, 2012.

BUNKA, F.; DOUDOVÁ, L.; WEISEROVÁ, E.; KUCHAR, D.; PONÍZEOL, P.; ZACALOVÁ, D.; NAGYOVÁ, G.; PACHLOVÁ, V.; MICHÁLEK, J. The effect of ternary emulsifying salt composition and cheese maturity on the textural properties of processed cheese. **International Dairy Journal**, v. 29, p. 1-7, 2013.

CARIC, M.; KALÁB, M. **Processed cheese products**. ed. 2, p. 467-505, 1993.

CARIC', M.; KALÁB, M. Processed cheese product. **Cheese chemistry, physics and microbiology**. New York: Elsevier Applied Science, v. 2, p. 339 – 393, 1987.

CERNÍKOVÁ, M.; NEBESÁROVÁ, J.; SALEK, R. N.; RIHÁCKOVÁ, L.; BUNKA, F. Microstructure and textural and viscoelastic properties of model processed cheese with different dry matter and fat in dry matter content. **Journal of Dairy Science**, v. 100, p. 4300 – 4307, 2017.

CHEN, L.; LIU, H. Effect of emulsifying salts on the physicochemical properties of processed cheese made from Mozzarella. **Journal of Dairy Science**, v.95, p. 4823-4830, 2012.

COLLA, L. M.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. Congelamento e descongelamento: a sua influência sobre alimentos. **Vetor**, v. 13, p. 53-66, 2003.

CRUZ, A. G.; ZACARCHENCO, P. B.; OLIVEIRA, C. A. F.; CORASSIN, C. H. **Processamento de produtos lácteos**. ELSEVIER, 2017, p. 93.

CRUZ, A. G.; ZACARCHENCO, P. B.; OLIVEIRA, C. A. F.; CORASSIN, C. H. **Química, bioquímica, análise sensorial e nutrição no processamento de leite e derivados**. ELSEVIER, 2017, p. 93.

CUNHA, C. R.; DIAS, A. I.; VIOTTO, W. H. Microstructure, texture, colour and sensory evaluation of a spreadable processed cheese analogue made with vegetable fat. **Food Research International**, v. 43, p. 723-729, 2010.

DALGLEISH, D. G. On the structural models of bovine's casein micelles-review and possible improvements. **Soft Matter** - The Royal Society of Chemistry. v 7, p. 2265-2272, 2011.

DAVE, A.C.; SINGH, D.H. Milk Protein Interactions. **Encyclopedia of Food Chemistry**, 2019, p. 63-69.

DOMINGUEZ-SALAS, P.; GALIÉ, A.; OMORE, A.; OSMOSA, E.; OUMA, E. Contributions of Milk Production to Food and Nutrition Security. **Encyclopedia of Food Security and Sustainability**, v.3, p. 278-291, 2010.

EL-BAKRY, M. Reducing sodium in cheese: A solution for excess sodium intake as a cause of hypertension and heart diseases. **International Journal of Medical and Biological Frontiers**, v. 18, p. 13, 2012.

EMBRAPA. **Anuário Leite 2018 - Indicadores, tendências e oportunidades para quem vive no setor leiteiro**. Texto Comunicação Corporativa, 2018.

EMBRAPA. **Anuário Leite 2019 – Sua excelência, o consumidor. Novos produtos e novas estratégias da cadeia do leite para ganhar competitividade e conquistar os clientes finais.** Texto Comunicação Corporativa, 2019.

EPAGRI. **Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina 2017 - 2018.** Florianópolis: Epagri/Cepa, 206p. 2019.

FAOSTAT (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2019. **Dairy Market Review.** Disponível em: <http://www.fao.org/3/ca3879en/ca3879en.pdf>. Acesso em: 19 abr. 2019.

FAOSTAT (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2013. **Milk Facts.** Disponível em: <http://www.fao.org/assets/infographics/FAO-Infographic-milk-facts-en.pdf>. Acesso em: 17 mar. 2019.

FAOSTAT (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2013. **Milk Facts.** Disponível em: <http://www.fao.org/assets/infographics/FAO-Infographic-milk-facts-en>. Acesso em: 17 mar. 2019.

FENNEMA, O. R.; WILLIAM, D.; ELMER, H. **Low-temperature preservation of foods and living matter.** 1973. New York, NY, USA: Marcel Dekker Inc.

FERRÃO, L.L.; FERREIRA, M. V. S.; CAVALCANTI, R. N.; CARVALHO, A. F. A.; PIMENTEL, C.; SILVA, H. L.; SILVA, R.; ESMERINO, E. A.; NETO, R. P. C.; TAVARES, M. I. B.; FREITAS, M. Q.; MENEZES, J. C. V.; CABRA, L. M.; MORAES, J.; SILVA, M. C.; MATHIAS, S. P.; RAICES, R. S. L.; PASTORE, G. M.; CRUZ, A. G. The xylooligosaccharide addition and sodium reduction in requeijão cremoso processed cheese. **Food Research International**, v. 107, p. 137-147, 2018.

FONTECHA, J.; BELLANATO, J.; JUAREZ, M. Infrared and Raman spectroscopic study of casein in cheese: Effect of freezing and frozen storage. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 3303-3309, 1993.

FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H.; COGAN, T. M.; GUINEE, T.P. **Cheese: chemistry, physics and microbiology.** London, Chapman & Hall, v. 1, p. 167, 2004.

FREITAS, A.C.; FIGUEIREDO, P. Conservação por Utilização de Baixas Temperaturas. **Conservação de Alimentos.** Lisboa, 2000, p. 129-136.

FU, W.; NAKAMURA, T. Effects of starches on the mechanical properties and microstructure of processed cheeses with different types of casein network structures. **Food Hydrocolloids**, v. 79, p. 587-595, 2018.

GABBI, A. M.; COBUCCI, J. A.; FISCHER, V.; MCMANUS, C. M. Temporal Relationship Between Milk Production and Meteorological Variables in Southern Brazil. In *Climate Change Adaptation, Resilience and Hazards* (pp. 395-408). Springer, Cham. 2016.

GIRI, A.; KANAWJIA, S. K.; RAJORIA, A. Effect of phytosterols on textural and melting characteristics of cheese spread. **Food Chemistry**, v. 157, p. 240-245, 2014.

GIROUX, H. J.; VEILLETE, N.; BRITTEN, M. Use of denatured whey protein in the production of artisanal cheeses from cow, goat and sheep milk. **Small Ruminant Research**, v. 161, p. 24-42, 2018.

GOFF, H. D. **Food at subzero temperatures. Soft materials structure and dynamics**. New York, cap. 12, p. 229-320, 2005.

GOMES, R. A. R.; PITHAN, R. O.; VAN DENDER, A. G. F.; ZACARCHENCO, P. B. **Brasil dairy trends - Tendências do Mercado de Produtos Lácteos 2020**. ITAL Campinas, 2017, p. 16-17.

GUINEE, T. P.; CARIC, M.; KALAB, M. Pasteurized processed cheese and substitute/imitation cheese products. **Cheese: Chemistry, physics and microbiology**, v. 2, 2004.

GUINEE, T. P.; O'CALLAGHAN, D. J. Effect of increasing the protein-to-fat ratio and reducing fat content on the chemical and physical properties of processed cheese product. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 6830-6839, 2013.

GUINEE, T.P. Protein in Cheese and Cheese Products: Structure-Function Relationships. **Advanced Dairy Chemistry**, 2016, p.347–415.

HOFFMANN, C. M. **Estudo da utilização de concentrado protéico de soro de queijo ultrafiltrado (CPSU), em requeijão cremoso**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, p. 52, 2003.

IBGE. **Pesquisa da pecuária municipal e censo agropecuário**. Rio de Janeiro: Sidra, 2016. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=94&z=p&o=29>>. Acesso em: 19 abr. 2019.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4ª. edição. Brasília: IAL, 2005.

KALYANKAR, S. D.; SARODE, A. R.; KHEDKAR, C. D.; DEOSARKAR, S. S.; PAWSHE, R. D. Sheep: Milk. **Encyclopedia of Foods & Health**, 1º Ed, p. 758–763, 2016.

KAPOOR, R.; METZGER, L.E.; BISWAS, A.C.; MUTHUKUMMARAPPAN, K. Effect of natural cheese characteristics on process cheese properties. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 1625-1634, 2007.

KLJAJEVIC, N. V.; JOVANOVIC, S. T.; MILORADOVIC, Z. N.; MACEJ, O. D.; VUCIC, T. R.; ZDRAVKOVIC, I. R. Influence of the frozen storage period on the coagulation properties of caprine milk. **International Dairy Journal**, v. 58, p. 36-38, 2016.

KOSCHAK, M.S.; FENNEMA, O.; AMUNDSON, C. H.; LEE, J. Y. Protein stability of frozen milk as influenced by storage temperature and ultrafiltration. **Journal of Food Science**, v. 46, p. 1211-1217, 1981.

KOSIKOWSKI, F. V. **Cheese and Fermented milk food**. New York, cap. 17, p. 290 – 303, 1978;

KUO, M. I.; GUNASEKARAN, S. Effect of frozen storage on physical properties of pasta filata and non-pasta filata Mozzarella cheeses. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 1108-1117, 2003.

LAEMMLI, U. K. **Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4**. *Nature*, v. 227, p. 680-685, 1970.

- LATIMER, G. W. **Official methods of analysis: of AOAC international**. ed. 20. Maryland: AOAC, v. 2, 2016
- LEE, S. K., KLOSTERMEYER, H., ANEMA, S. Effect of fat and protein-in-water concentrations on the properties of model processed cheese. **International Dairy Journal**, v.50, p. 15-23, 2015.
- LEE, S. K.; ANEMA, S. G. The effect of the pH at cooking on the properties of processed cheese spreads containing whey proteins. **Food Chemistry**, v. 115, p. 1373-1380, 2009.
- LI, Q.; ZHAO, Z. Acid and rennet-induced coagulation behavior of casein micelles with modified structure. **Food Chemistry**, v. 291, p. 231-238, 2019.
- LIKHI, A. Animal husbandry and dairy development: State of Haryana's initiatives in India. **The world Bank**, 2016.
- LIN, L.; WONG, M.; DEETH, H. C.; OH, H.E. Calcium-induced skim milk gels using different calcium salts. **Food Chemistry**, v.245, p. 97-103, 2018.
- LOBATO-CALLEROS, C.; RAMÍREZ-SANTIAGO, C.; OSORIO-SANTIAGO, V. J.; VERNON-CARTER, E. J.; HORNELAS-URIBE, Y. Microstructure and texture of manchego cheese-like products made with canola oil, lipophilic and hydrophilic emulsifiers. **Journal of Texture Studies**, v. 33, p. 165-182, 2002.
- LOURENÇO NETO, J. P. M.; KNUDSEN, H. H.; MOREIRA, M. T. C.; DUTRA, E. R. P.; MATTOS, P. B. **Requeijão culinário: considerações sobre a sua fabricação - Parte II**. Boletim de tecnologia de laticínios - Sacco, Personal Grafik Gráfica e Editora Ltda , 49 ed, Julho/Agosto/Setembro, 2015.
- LUCEY, J. A. Formation, structural properties and rheology of acid-coagulated milk gels. **In Cheese: chemistry, physics, and microbiology**, Burking, 3^a ed., 2004.
- LUCEY, J. A; SINGH, H. Acid coagulation of milk. **Advanced dairy chemistry**. Gaithersburg, v. 2, p. 997-1021. 2003.
- LUCEY, J. The balancing act of making process cheese. **Dairy Foods**, v. 114, p. 1, 2013.

LUCEY, J.A; FOX, P.F. Importance of calcium and phosphate in cheese manufacture: A review. **Journal of Dairy Science**, v.76, p. 1714-1725, 1993.

LÜCK, H. **Preservation of cheese and perishable products by freezing**. South African Journal of Dairy and Technology, v. 9, p. 127 – 132, 1977.

MAGENIS, R. B.; PRUDÊNCIO, E. S.; FRITZEN-FREIRE, C. B.; STEPHAN, M. P.; EGITO, A. S.; DAGUER, H. Rheological, physicochemical and authenticity assessment of Minas Frescal cheese. **Food Control**, v.45, p.22-28, 2014.

MARCHESSEAU, S., GASTALDI, E., LAGAUDE, A. J., CUQ, L. Influence of pH on protein interactions and microstructure of process cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 6, 1995

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

MARCONDES, M.I.; BRANDÃO, V. L. N.; FERREIRA, G.A.T.; SILVA, A.L. Impact of farm size on milk quality in the Brazilian dairy industry according to the seasons of the year. **Ciência Rural**, v.47, n.11, 2017.

MEZA, B. E.; VERDINI, R. A.; RUBIOLO, A. C., Effect of freezing on the viscoelastic behaviour during the ripening of a commercial low-fat soft cheese. **International Dairy Journal**, v. 21, p. 346-351, 2011.

MULSOW, B. B.; JAROS, D.; ROHM, H. Processed cheese and cheese analogues. **Structure of dairy products**, 2007, p. 210-235.

NAGYOVÁ, G.; BUNKA, F.; SALEK, R.N.; CERNÍKOVÁ, M.; MANCÍK, P.; GRUBER, T.; KUCHAR, D. Use of sodium polyphosphates with different linear lengths in the production of spreadable processed cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 97, p. 111 – 112, 2014.

NEVES, L. A. C. F. **Resfriamento, congelamento e estocagem de alimentos**. São Paulo: Instituto do Frio, 1991.

O'BRIEN, B.; GUINEE, T.P. Seasonal Effects on Processing Properties of Cows' Milk. **Encyclopedia of Dairy Sciences**, p. 598-606, 2016.

O'CONNELL, J. E. et al. Influence of ethanol on the rennet- induced coagulation of milk. **Journal of Dairy Research**, v. 73, p. 312-317, 2006.

O'CONNELL, J. E.; FLYNN, C. The manufacture and applications of casein – derived ingredients. **Handbook of food products manufacturing**, p. 557- 591, 2007.

OLIVEIRA, J. S. **Queijo: fundamentos tecnológicos**. Campinas: Ícone, 146p, 1986.

ORLANDO, L. The first Aurochs genome reveals the breeding history of British and European cattle. **Genome Biol.** 2015

PARK, Y. W.; JUÁREZ, M.; RAMOS, M.; HAENLEIN G.F.W. Physico-chemical characteristics of goat and dairy sheep. **Small Ruminant Research**, v. 68, p. 88-113, 2007.

PEREIRA, P.C. Milk nutritional composition and its role in human health. **Nutrition**, p. 619–627, 2014.

PIROT, Y. La fabrication du fromage fondu dans notre pays – Deuxième partie. **Le Lait et Nour**, Lige, v. 3, p. 11-20, 1988.

PISKA, I.; STETINA, J. Influence of cheese ripening and rate of cooling of the processed cheese mixture on rheological properties of processed cheese. **Journal of Food Engineering**, v. 61, p. 551-555, 2004.

PURNA, S. K. G.; POLLARD A.; METZGER, L. E. Effect of formulation and manufacturing parameters on process cheese food functionality - Trisodium citrate. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 2386-2396, 2006.

RAMOS, F.M.; HADDAD, F.F.; RAMOS, R.A.; PINTO, S.M. **Adequação de requeijão cremoso aos padrões de identidade e qualidade e aos padrões de rotulagem**. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, 389, p. 5 – 14, 2012.

RAPACCI, M.; CAMPOS, S. D. S.; VAN DENDER, A. G. F. **Requeijão cremoso: avaliação do perfil de textura**. Revista Instituto de Laticínio Cândido Tostes; 3:64-9. 1998.

RODRIGUES, F. **Requeijão, Fondue, Especialidade, Queijo Processado**. Juiz de Fora: Do Autor, 2006.

ROYARD, C.; GAUCHERON, F. Modifications of structures and functions of caseins: a scientific and technological challenge. **Dairy Science & Technology**, V.95, p. 831-862, 2015.

SÁDLÍKOVÁ, I.; BUNKA, F.; BUDINSKÝ P.; BARBORA, V.; PAVLÍNEK, V., HOZA, I. The effect of selected phosphate emulsifying salts on viscoelastic properties of processed cheese. **Food Science and Technology**, v. 43, p. 1220-1225, 2010.

SCHAFBERG, R.; SWALVE, H. The history of breeding for polled cattle. *Livest Sci*, 2015.

SCHEURER, A. M. G. **Estabilização dos sistemas proteicos do leite**. JOHA, 2005, p. 35-43.

SHIMIZU, M.; LEE, S. W.; KAMINOGAWA, S.; YAMAUCHI, K. Emulsifying of an N-terminal peptine obtained from the peptic hydrolyzate od α 1-casepina. **Journal of Food Science, Champaign**, v. 49, p. 11170-1120, 1984.

SHIMP, L. A. Process cheese principles. **Food Technology**, Chigado, v. 39, p. 63-69, 1985.

SILVA, B. C. **Efeito do congelamento e do tempo de armazenamento nos queijos Petit Suisse processado com diferentes espessantes**. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2012, p. 57 – 59.

SILVA, P. H.; F. S.; PEREIRA, D. B. C.; OLIVEIRA, L. L.; JUNESE, L. C. G. C. **Físico-química de leite e derivados: métodos analíticos**. **Juiz de Fora**, 1997.

SILVA, P. H. F.; ALMEIDA, M. C. F. **Estabilidade térmica do leite**. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 15, Juiz de fora, 2000. Anais do XV Congresso nacional de laticínios. Juiz de Fora: EPAMIG- Centro Tecnológico – ILTC, 2000. 500p. p. 157-163.

SINGH, H. Symposium review: Fat globules in milk and their structural modifications during gastrointestinal digestion. **Journal of Dairy Science**, v. 102, 2019.

SOBRAL, D. Otimização do processo de fabricação de análogos de requeijão culinário. 2007. Dissertação (mestrado em Ciência e Tecnologia de alimentos) Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2007.

SORENSEN, T.; LE, T. T.; LARSEN, L. B.; WIKING, L. Rennet coagulation and calcium distribution of raw milk reverse osmosis retentate. **International Dairy Journal**, v. 95, p. 71-77, 2019.

TALBOT-WALSH, G.; KANNAR, D.; SELOMULVA, C. A review on technological parameters and recent advances in the fortification of processed cheese. **Trends in Food Science & Technology**, v. 81, p. 193-202, 2018.

THORNING, T.K.; BERTRAM, H.C.; BONJOUR, J.P.; GROOT, L.; DUPONT, D.; FEENEY, G.; GIVENS, I. Whole dairy matrix or single nutrients in assessment of health effects: Current evidence and knowledge gaps. **The American Journal of Clinical Nutrition**, p. 1033-1045, 2017.

VAN DENDER, A. G. F. **Requeijão Cremoso e outros queijos fundidos: Tecnologia de Fabricação, Controle de Processo e Aspectos do Mercado**. 2ª Ed. Revisada e Ampliada – São Paulo: Setembro Editora, 2014.

VAN DENDER, A.G.F. **Requeijão cremoso e outros queijos fundidos: tecnologia de fabricação, controle do processo e aspectos de mercado**. São Paulo, SP: Fonte Comunicações e Editora Ltda, 2006. 392 p.

VAN SCHEPPINGEN, W. B.; VAN HILTEN, P. H.; VIJVERBERG, M. P.; DUCHATEAU, A. L. Determinação seletiva e sensível de lactose em laticínios de baixa lactose produtos com HPAEC-PAD. **Journal of Chromatography B**, 2017, p. 395–399.

VILELA, D.; RESENDE, J. C.; LEITE, J. B.; ALVES, E. A evolução do leite no Brasil em cinco décadas. **Revista de Política Agrícola**. 2017.

WALSTRA, P. Casein sub-micelles: do they exist? **International Dairy Journal**, v. 9, p. 189-192, 1999.

WALSTRA, P. **Physical Chemistry of Food**. Nova Iorque, 2003.

WALSTRA, P.; JENNESS, R. Proteins. **Dairy Chemistry and Physics**, 1984, p. 8-122.

WEISEROVÁ, E.; DOUDOVÁ, L.; GALIOVÁ, L.; ZÁK, L.; MICHÁLEK, J.; JANISA, R.; BUNKA, F. The effect of combinations of sodium phosphates in binary mixtures on selected texture parameters of processed cheese spreads. **International Dairy Journal**, v.21, p.979-986, p 979-986, 2011.

WHATEN, B.; JIA, Z. Controlling the freezing process with antifreeze proteins. **Emerging Technologies for Food Processing**, London, cap. 25, p. 653-673, 2005.

ZACARCHENCO, P. B.; COSTA, A. M.; TRENTO, F.; CZAIKOSKI, A.; SPADOTI, L.; VAN DENDER, A. G. F. **Caracterização de massa básica de requeijão obtida por acidificação direta a quente a partir de leite lactosehidrolisado**. In Embrapa Cerrados-Artigo em anais de congresso. In: do 31º CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS. Juiz de Fora, 2017.

ZHANG, F.; UPTON, J.; SHALLOO, L.; SHINE, P.; MURP, M. Effect of Introducing Weather Parameters on the Accuracy of Milk Production Forecast Models. **Information Processing in Agriculture**, 2019.

ZHANG, R.H.; MUSTAFA, A. F.; NG-KWAI-HANG, K. F.; ZHAO, X. Effects of freezing on composition and fatty acid profiles of sheep milk and cheese. **Small Ruminant Research**, v. 64, p. 203-210, 2006.