



**RAQUEL FRANÇA DE OLIVEIRA**

**EFEITO DE DIFERENTES CULTURAS  
LÁTICAS NAS CARACTERÍSTICAS DE  
QUEIJO TIPO *PETIT SUISSE* COM RETENÇÃO  
DE SORO**

**LAVRAS-MG  
2015**

**RAQUEL FRANÇA DE OLIVEIRA**

**EFEITO DE DIFERENTES CULTURAS LÁTICAS NAS  
CARACTERÍSTICAS DE QUEIJO TIPO *PETIT SUISSE* COM  
RETENÇÃO DE SORO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora  
Dra. Sandra Maria Pinto

**LAVRAS-MG  
2015**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Oliveira, Raquel França de.

Efeito de diferentes culturas lácticas nas características de queijo  
tipo *petit suisse* com retenção de soro / Raquel França de Oliveira. –  
Lavras : UFLA, 2015.

110 p. : il.

Dissertação (mestrado acadêmico)—Universidade Federal de  
Lavras, 2015.

Orientador(a): Sandra Maria Pinto.

Bibliografia.

1. Sinérese. 2. Check-all-that-apply. 3. Microscopia. 4.  
Mesofílicas. 5. Termofílicas. I. Universidade Federal de Lavras. II.  
Título.

**RAQUEL FRANÇA DE OLIVEIRA**

**EFEITO DE DIFERENTES CULTURAS LÁTICAS NAS  
CARACTERÍSTICAS DE QUEIJO TIPO *PETIT SUISSE* COM  
RETENÇÃO DE SORO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 19 de junho de 2015.

Dr. Fernando Antônio Resplande Magalhães    ILCT/EPAMIG

Dra. Ana Carla Marques Pinheiro                UFLA

Dr. Luiz Ronaldo de Abreu                        UFLA

Orientadora  
Dra. Sandra Maria Pinto

**LAVRAS-MG  
2015**

DEDICO

*A Deus e aos meus pais, Ricardo e Maria Auxiliadora.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser presença constante em minha vida e mais do que ter me concedido a vida, permitir que eu a desfrute ao lado de pessoas especiais.

Aos meus pais, que são meu maior e incondicional apoio, por terem me ensinado que com dedicação e paciência conseguimos alcançar nossos objetivos.

Aos meus irmãos, Ricardo, Fernanda e Renata, pela maior e mais sincera amizade que alguém possa ter.

Aos meus sobrinhos, por encherem de alegria a minha vida.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Ciência dos Alimentos, por concederem cada vez mais aos seus estudantes, um ensino de qualidade.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

À minha orientadora Sandra Maria Pinto, por me permitir alcançar este objetivo, e pelos ensinamentos, paciência e pela confiança em mim depositada.

Ao professor Luiz Ronaldo de Abreu, pelos ensinamentos.

À Creusa e ao Paulo, meu muito obrigada pelo carinho, atenção, pelos conselhos e por levarem alegria por onde quer que vocês estejam.

Às amigas, Daniela e Nathane, por estarem sempre ao meu lado, quantos momentos difíceis e quantas alegrias nós compartilhamos.

Aos amigos do Laboratório de Laticínios, Sérgio, Marcel, Giovana, Tatiana, Raniely, Elisângela, Vinicius, muito obrigada pela ajuda e por tornarem meus dias mais alegres.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Ciência dos Alimentos.

Aos amigos que mesmo distantes se fazem presentes, pelo apoio e por torcerem por mim.

Ao pessoal do Laboratório de Microscopia, muito obrigada pelo auxílio.

À Secretaria da Educação, por permitir que parte deste estudo fosse realizada com as crianças.

A Tate & Lyle Gemacom Tech® e a Chr. Hansen® por ter cedido os ingredientes e os fermentos utilizados nesta pesquisa.

A todos que contribuíram para a realização desta pesquisa.

*“Comece fazendo o necessário, depois o possível e de repente estará fazendo o impossível”.*

São Francisco de Assis

## RESUMO

Visando contribuir para a redução da geração de soro durante o processo produtivo do queijo *petit suisse*, o aproveitamento total dos nutrientes contidos no leite e o aumento do rendimento de fabricação, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o uso de diferentes culturas lácticas nas características físicas, físico-químicas, sensoriais e microestruturais de queijo *petit suisse* com retenção de soro. Foram utilizadas as culturas R-704 composta de bactérias mesofílicas, RST-744 composta de bactérias mesofílicas e termofílicas e a cultura CO-03 composta de bactérias termofílicas. Primeiramente foi avaliado o tempo de fermentação dos queijos produzidos com as diferentes culturas nas temperaturas de 32 °C, 37 °C, 40 °C e 43 °C, totalizando nove tratamentos sendo o controle o queijo *petit suisse* produzido a partir da cultura R-704 na temperatura de 32 °C. As análises de composição foram realizadas um dia após a fabricação dos queijos, e as análises de atividade de água, pH, acidez, sinérese e textura instrumental dos queijos foram realizadas durante 29 dias de armazenamento, nos seguintes tempos: 1° dia, 8° dia, 15° dia, 22° dia e 29° dia pós-fabricação. O uso de diferentes culturas não influenciou na composição e atividade de água dos queijos. As culturas CO-03 e RST-744 proporcionaram aos queijos maior acidez, sinérese, firmeza, adesividade e gomosidade, já a cultura R-704 utilizada no controle proporcionou ao queijo maior coesividade. A retenção do soro provocou um aumento no rendimento dos queijos, porém não foi observada influência proveniente das culturas utilizadas. Para prosseguir com a análise sensorial e microscopia eletrônica de varredura foram escolhidos os tratamentos R-704 (controle), o tratamento em que se utilizou a cultura RST-744 e temperatura de fermentação de 37 °C (RST-744 37 °C) e o tratamento em que se utilizou a cultura CO-03 na temperatura de fermentação de 37 °C (CO-03 37 °C), pois estes tratamentos apresentaram menores índices de sinérese durante o armazenamento. Na etapa da análise sensorial foram levantados atributos para os queijos *petit suisse* a partir da metodologia *check-all-that-apply* (CATA) e realizado o teste de aceitação com crianças, um dia após a fabricação, sendo que os queijos apresentaram boa aceitação com escores entre gostei ligeiramente e gostei muito. A análise de microscopia eletrônica de varredura mostrou que o tratamento CO-03 37 °C apresentou microestrutura mais compacta.

Palavras-chave: Sinérese. *Check-all-that-apply*. Microscopia. Mesofílicas. Termofílicas.

## ABSTRACT

In order to contribute to reducing the whey generation during the production process of *petit suisse* cheese, the total use of nutrients contained in milk and increase manufacturing yield, this study was carried out aimed to evaluate the use of different lactic cultures in characteristics physical, physical-chemical, sensory and microstructural of *petit suisse* cheese with whey retention. The cultures used were R-704 composed by mesophilic bacteria, RST-744 composed by mesophilic and thermophilic bacteria, and CO-03 composed of thermophilic bacteria. First, it was evaluated the cheese's fermentation time made from different cultures at temperatures of 32 °C, 37 °C, 40 °C and 43 °C, totaling nine treatments, being the control *petit suisse* cheese produced from the culture R-704 at temperature of 32 °C. Composition analysis were held one day after making cheeses, and water activity analysis, pH, acidity, syneresis and instrumental texture of the cheeses were carried out during 29 days of storage at the following periods: 1<sup>st</sup> day, 8<sup>th</sup> day, 15<sup>th</sup> day, 22<sup>th</sup> day and 29<sup>th</sup> day post-making. The use of different cultures did not influence in the composition and cheese's water activity. The cultures CO-03 and RST-744 provided to the cheeses higher acidity, syneresis, firmness, adhesiveness and gumminess, since the culture R-704 used in control provided to the cheese greater cohesiveness. Whey retention caused an increase in the cheese yield, but was not observed influence from the cultures used. To proceed with the sensory analysis and scanning electron microscopy were chosen the treatments R-704 (control), the treatment which used the culture RST-744 and fermentation temperature 37 °C (RST-744 37 °C) and the treatment which used the culture CO-03 at fermentation temperature 37 °C (CO-03 37 °C), because these treatments presented lower syneresis rates during the storage. In sensory analysis stage were raised attributes for *petit suisse* cheeses from the *check-all-that-apply* (CATA) methodology and performed acceptance testing with children, one day post making, being the cheeses presented good acceptance with scores between like slightly and really liked. Scanning electron microscopy analysis showed that the treatment CO-03 37°C showed more compact microstructure.

Keywords: Syneresis. *Check-all-that-apply*. Microscopy. Mesophilic. Thermophilic.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Vias catabólicas das bactérias lácticas. Homofermentação (A), heterofermentação (B) e fermentação mista (C). P = fosfato, BP = bifosfato, LDH = lactato desidrogenase, PFL = piruvato formato liase e PDH = piruvato desidrogenase.....	30
Figura 2	Regulação das vias de composição do piruvato .....	32
Figura 3	Fluxograma de fabricação dos queijos <i>petit suisse</i> com retenção de soro.....	49
Figura 4	Modelo de ficha utilizada na análise sensorial.....	55
Figura 5	Curvas de fermentação dos queijos <i>petit suisse</i> . (T1) queijo <i>petit suisse</i> controle produzido a partir da cultura composta de <i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i> e <i>Lactococcus lactis subsp. cremoris</i> e temperatura de fermentação de 32°C; (T2), (T3), (T4) e (T5) queijos <i>petit suisse</i> produzidos a partir da cultura composta de <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> e <i>Lactobacillus helveticus</i> nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente; (T6), (T7), (T8) e (T9) queijos <i>petit suisse</i> produzidos a partir da cultura composta de <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i> e <i>Lactococcus lactis subsp. cremoris</i> nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente.....	60
Figura 6	Valores de pH dos queijos <i>petit suisse</i> com retenção de soro produzidos a partir de diferentes culturas lácticas armazenados por 29 dias. Les iguais no mesmo tempo de armazenamento: médias não diferem entre si pelo teste Scott Knott a 5% de significância. (T1) queijo <i>petit suisse</i> controle produzido a partir da cultura composta de <i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i> e <i>Lactococcus lactis subsp. cremoris</i> e temperatura de fermentação de 32°C; (T2), (T3), (T4) e (T5) queijos <i>petit suisse</i> produzidos a partir da cultura composta de <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> e <i>Lactobacillus helveticus</i> nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente; (T6), (T7), (T8) e (T9) queijos <i>petit suisse</i> produzidos a partir da cultura composta de <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i> e <i>Lactococcus lactis subsp. cremoris</i> nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente.....	65

- Figura 7 Acidez titulável dos queijos *petit suisse* com retenção de soro produzidos a partir de diferentes culturas lácticas armazenados por 29 dias. Letras iguais no mesmo tempo de armazenamento: médias não diferem entre si pelo teste Scott Knott a 5% de significância. (T1) queijo *petit suisse* controle produzido a partir da cultura composta de *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* e temperatura de fermentação de 32°C; (T2), (T3), (T4) e (T5) queijos *petit suisse* produzidos a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus* nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente; (T6), (T7), (T8) e (T9) queijos *petit suisse* produzidos a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente..... 66
- Figura 8 Sinérese dos queijos *petit suisse* com retenção de soro produzidos a partir de diferentes culturas lácticas armazenados por 29 dias. Letras iguais no mesmo tempo de armazenamento: médias não diferem entre si pelo teste Scott Knott a 5% de significância. (T1) queijo *petit suisse* controle produzido a partir da cultura composta de *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* e temperatura de fermentação de 32°C; (T2), (T3), (T4) e (T5) queijos *petit suisse* produzidos a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus* nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente; (T6), (T7), (T8) e (T9) queijos *petit suisse* produzidos a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente..... 68

- Figura 9 Firmeza dos queijos *petit suisse* com retenção de soro produzidos a partir de diferentes culturas lácticas armazenados por 29 dias. Letras iguais no mesmo tempo de armazenamento: médias não diferem entre si pelo teste Scott Knott a 5% de significância. (T1) queijo *petit suisse* controle produzido a partir da cultura composta de *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* e temperatura de fermentação de 32°C; (T2), (T3), (T4) e (T5) queijos *petit suisse* produzidos a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus* nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente; (T6), (T7), (T8) e (T9) queijos *petit suisse* produzidos a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente..... 71
- Figura 10 Adesividade dos queijos *petit suisse* com retenção de soro produzidos a partir de diferentes culturas lácticas armazenados por 29 dias. Letras iguais no mesmo tempo de armazenamento: médias não diferem entre si pelo teste Scott Knott a 5% de significância. (T1) queijo *petit suisse* controle produzido a partir da cultura composta de *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* e temperatura de fermentação de 32°C; (T2), (T3), (T4) e (T5) queijos *petit suisse* produzidos a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus* nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente; (T6), (T7), (T8) e (T9) queijos *petit suisse* produzidos a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente..... 74
- Figura 11 Modelo de regressão para coesividade, em função do tempo de armazenamento em queijos *petit suisse* com retenção de soro produzidos a partir de diferentes culturas lácticas..... 77

- Figura 12 Gomosidade dos queijos *petit suisse* com retenção de soro produzidos a partir de diferentes culturas láticas armazenados por 29 dias. Letras iguais no mesmo tempo de armazenamento: médias não diferem entre si pelo teste Scott Knott a 5% de significância. (T1) queijo *petit suisse* controle produzido a partir da cultura composta de *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* e temperatura de fermentação de 32°C; (T2), (T3), (T4) e (T5) queijos *petit suisse* produzidos a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus* nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente; (T6), (T7), (T8) e (T9) queijos *petit suisse* produzidos a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente..... 80
- Figura 13 Análise de agrupamento hierárquico. (A) queijo T1 controle produzido a partir da cultura composta de *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* na temperatura de 32°C; (B) queijo T7 produzido a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* na temperatura de 37°C; (C) queijo T3 produzido a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus* na temperatura de 37°C..... 87
- Figura 14 Eletromicrografias de varredura dos queijos *petit suisse* com retenção de soro (1) queijo *petit suisse* produzido a partir da cultura composta de *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* (T1); (2) queijo *petit suisse* produzido a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* (T7); (3) queijo *petit suisse* produzido a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus* (T3)..... 89

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Composição do soro doce e do soro ácido.....	24
Quadro 2	Produtos principais e secundários de bactérias lácticas usadas em derivados do leite (colchetes [ ] indicam traços do produto).....	35

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Definição dos tratamentos de acordo com a cultura adicionada e a temperatura de fermentação.....	47
Tabela 2	Quantidade de ingredientes adicionados na fabricação do queijo <i>petit suisse</i> com retenção de soro.....	50
Tabela 3	Valores médios de acidez, pH, densidade, gordura, sólidos totais e proteína do leite empregado na fabricação dos queijos.....	58
Tabela 4	Valores médios de acidez e matéria gorda do creme de leite utilizado na fabricação dos queijos.....	59
Tabela 5	Valores médios para elasticidade dos queijos <i>petit suisse</i> com retenção de soro produzidos a partir de diferentes culturas lácticas....	76
Tabela 6	Valores médios de coesividade dos queijos <i>petit suisse</i> com retenção de soro produzidos a partir de diferentes culturas lácticas	78
Tabela 7	Termos mais citados no questionário <i>check-all-that-apply</i> (CATA) para cada atributo sensorial.....	83
Tabela 8	Frequência de citação dos termos CATA utilizados para descrever os queijos <i>petit suisse</i> .....	84
Tabela 9	Diferença entre o somatório para o atributo presença de gruminhos dos queijos <i>petit suisse</i> .....	84
Tabela 10	Diferença entre o somatório para o atributo pouco doce dos queijos <i>petit suisse</i> .....	85
Tabela 11	Diferença entre o somatório para o atributo muito doce dos queijos <i>petit suisse</i> .....	85
Tabela 12	Diferença entre o somatório para o atributo cor rosa claro dos queijos <i>petit suisse</i> .....	85
Tabela 13	Diferença entre o somatório para o atributo cor rosa escuro dos queijos <i>petit suisse</i> .....	85
Tabela 14	Diferença entre o somatório para o atributo cheiro fraco de morango dos queijos <i>petit suisse</i> .....	85
Tabela 15	Diferença entre o somatório para o atributo cheiro forte de morango dos queijos <i>petit suisse</i> .....	86
Tabela 16	Diferença entre o somatório para o atributo pouco sabor de morango dos queijos <i>petit suisse</i> .....	86
Tabela 17	Diferença entre o somatório para o atributo muito sabor de morango dos queijos <i>petit suisse</i> .....	86

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	19
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	21
2.1	Queijo.....	21
2.2	Queijo <i>Petit Suisse</i> .....	22
2.3	Soro lácteo.....	23
2.3.1	Concentrado proteico de soro.....	26
2.4	Concentrado proteico de leite.....	27
2.5	Bactérias Lácticas.....	28
2.6	Sinérese em queijos.....	36
2.7	Perfil de textura e sua aplicação em queijos.....	37
2.8	Análise sensorial .....	39
2.9	<i>Check-all-that-apply</i> (CATA) .....	42
2.10	Avaliação da microestrutura de queijos através das técnicas de microscopia.....	44
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	46
3.1	Preparo das culturas lácticas.....	47
3.2	Ingredientes para a fabricação de queijos <i>petit suisse</i> .....	47
3.3	Escolha da formulação ideal do queijo <i>petit suisse</i> .....	48
3.4	Etapas de obtenção dos queijos <i>petit suisse</i> .....	48
3.5	Análises físico-químicas do leite.....	50
3.6	Análises físico-químicas do creme.....	51
3.6.1	Parâmetros tecnológicos.....	51
3.7	Caracterização física e físico-química dos queijos <i>petit suisse</i> durante o armazenamento.....	51
3.7.1	Atividade de água.....	52
3.7.2	Determinação do pH.....	52
3.7.3	Análise de acidez titulável.....	52
3.7.4	Sinérese.....	52
3.7.5	Perfil de textura.....	53
3.8	Delineamento estatístico.....	53
3.8.1	Análises estatísticas.....	53
3.9	Rendimento dos queijos <i>petit suisse</i> .....	53
3.10	Levantamento dos atributos dos queijos <i>petit suisse</i> através da metodologia <i>check-all-that-apply</i> (CATA) .....	54
3.11	Avaliação sensorial.....	54
3.11.1	Análise de variância.....	56
3.11.2	Avaliação das frequências dos termos do CATA e análise de agrupamento hierárquico.....	56
3.12	Avaliação da microestrutura dos queijos <i>petit suisse</i> com retenção de soro a partir da microscopia eletrônica de varredura .....	56

4	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	58
4.1	<b>Análises físico-químicas do leite e do creme de leite utilizados na fabricação dos queijos</b> .....	58
4.2	<b>Tempo de fermentação dos queijos produzidos a partir das diferentes culturas lácticas em diferentes temperaturas</b> .....	59
4.3	<b>Composição dos queijos <i>petit suisse</i> com retenção de soro</b> .....	61
4.4	<b>Análises realizadas nos queijos <i>petit suisse</i> durante o armazenamento</b> .....	63
4.4.1	<b>Atividade de água</b> .....	63
4.4.2	<b>pH e acidez titulável</b> .....	64
4.4.3	<b>Sinérese</b> .....	67
4.4.4	<b>Parâmetros de textura instrumental dos queijos <i>petit suisse</i></b> .....	70
4.4.4.1	<b>Firmeza dos queijos <i>petit suisse</i></b> .....	70
4.4.4.2	<b>Adesividade dos queijos <i>petit suisse</i></b> .....	72
4.4.4.3	<b>Elasticidade dos queijos <i>petit suisse</i></b> .....	75
4.4.4.4	<b>Coesividade dos queijos <i>petit suisse</i></b> .....	77
4.4.4.5	<b>Gomosidade dos queijos <i>petit suisse</i></b> .....	79
4.5	<b>Rendimento dos queijos <i>petit suisse</i> com retenção total de soro</b> ..	81
4.6	<b>Escolha dos melhores tratamentos para a realização da análise sensorial e avaliação da microestrutura dos queijos <i>petit suisse</i></b> ..	82
4.7	<b>Levantamento dos atributos dos queijos <i>petit suisse</i> com retenção de soro pela metodologia <i>check-all-that-apply</i> (CATA) e teste de aceitação</b> .....	82
4.8	<b>Efeito das diferentes culturas lácticas empregadas sobre a microestrutura do queijo <i>petit suisse</i></b> .....	88
5	<b>CONCLUSÃO</b> .....	92
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	93
	<b>ANEXOS</b> .....	110

## 1 INTRODUÇÃO

O aumento da produção de queijo é esperado devido ao crescimento populacional contínuo no Brasil e na maioria dos países, uma vez que se trata de um alimento nutricionalmente importante (FREIRE, 2012). Destinado principalmente ao público infantil e consumido como sobremesa, tem-se o queijo *petit suisse*, que é obtido a partir da adição de açúcar, creme e frutas ao queijo quark (VEIGA et al., 2000).

A massa do queijo quark, que é utilizada como massa base do queijo *petit suisse*, é obtida a partir da adição do fermento e do coalho ao leite desnatado. Após a coagulação, é realizada a dessoragem da massa até que a mesma apresente extrato seco total em torno de 16% (ALBUQUERQUE, 1986). Durante o processo de dessoragem da massa, ocorre a separação do soro, que corresponde ao subproduto obtido a partir da coagulação do leite.

O soro apresenta em sua composição proteínas de elevado valor biológico, lactose e sais minerais, mas apesar do alto valor nutricional, o mesmo é considerado como um dos maiores problemas da indústria de laticínios, pois é um potente agente poluidor, devido à alta concentração de matéria orgânica está sujeito à rápida alteração pelos microrganismos, possuindo assim uma elevada demanda bioquímica de oxigênio (DBO) (RAMOS, 2010). Nesse caso, constitui prática incorreta o descarte do soro, direta ou indiretamente, nos cursos de água (SILVA, 2011).

O soro representa cerca de 90% do volume de leite utilizado na obtenção de queijo, o que acarreta na geração de grandes volumes deste subproduto, e, a expansão do consumo mundial de derivados lácteos faz aumentar consideravelmente a produção de soro, que segundo Giraldo-Zuñiga et al. (2004) pode trazer prejuízos e gastos para indústria, devido à necessidade de dar um destino adequado ao soro ou mesmo no seu reaproveitamento, sendo que esse aproveitamento pode ser de alto custo ou mesmo tecnologicamente complexo. Em

todo o mundo, segundo Baldasso, Barros e Tessaro (2011), a produção de soro é estimada em  $180 \times 10^6$  t/ano e, desse montante, apenas metade é processada.

Para se obter um queijo *petit suisse* com retenção de soro semelhante ao *petit suisse* tradicional (sem retenção de soro), existem alguns desafios. Para evitar a separação do soro durante o armazenamento é necessária a adição de espessante, além desse fato a legislação brasileira determina que o queijo *petit suisse* tenha no mínimo 6% de proteína de origem láctea (BRASIL, 2000), sendo assim, para a produção desse queijo com retenção de soro se faz necessária a adição de concentrado proteico de origem láctea.

Fermento, inóculo e culturas lácticas são sinônimos de culturas “*starters*”, sendo que essa cultura pode ser constituída de uma estirpe bacteriana conhecida ou pode reunir várias estirpes ou espécies, sendo assim chamada de cultura mista (LEMPK; PINTO; SOUZA, 2008). As bactérias lácticas são extensivamente utilizadas na elaboração de alimentos fermentados (PESCUMA et al., 2011), tornando esses alimentos mais seguros pela produção de ácido láctico e outros compostos antimicrobianos, modificando as características sensoriais pela produção de compostos de sabor e aroma e agregando vantagens para a saúde de seus consumidores (PAULA, 2010; PIMENTEL, 2009). Sabe-se que as bactérias lácticas desempenham muitos papéis na fabricação dos queijos, produzindo ácido láctico e conferindo ao queijo a consistência, aroma e sabor adequados.

Visando disponibilizar uma nova tecnologia para as indústrias a fim de contribuir para a diminuição da geração de soro durante o processo produtivo de queijo *petit suisse*, o aproveitamento total dos nutrientes contidos no leite e o aumento do rendimento de fabricação, o objetivo neste trabalho foi desenvolver queijo *petit suisse* com retenção de soro, avaliando o efeito de diferentes culturas lácticas nas características físicas, físico-químicas, sensoriais e microestruturais do *petit suisse*.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Queijo

Muitos especialistas consideram a Idade Média como marco inicial da fabricação de queijos e embora o processo básico de fabricação seja comum às variedades existentes, a origem do leite, as técnicas de processamento e o tempo de maturação criam a imensa variedade de queijos conhecidos (PERRY, 2004).

Entende-se por queijo o produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, de enzimas específicas, de bactérias específicas, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes (BRASIL, 1996a).

As diferenças nos tipos de queijo estão relacionadas com a composição final do produto e dependem de cada tipo de processo de fabricação e da qualidade do leite utilizado. As mudanças na textura durante a coagulação e fermentação são os principais fatores que contribuem para a qualidade e aceitabilidade dos queijos (ATTAIE, 2005; BURITI; ROCHA; SAAD, 2005), principalmente os queijos de alta umidade.

Sob o ponto de vista nutricional, o queijo é considerado fonte de aminoácidos essenciais, vitamina A e sais minerais (ORDÓÑEZ, 2005). A elaboração de queijos é uma das mais importantes atividades das indústrias de laticínios, sobretudo no Brasil (PIAZZON-GOMES; PRUDÊNCIO; SILVA, 2010). Segundo dados da Associação Brasileira das Indústrias de Queijo – ABIQ (2014), o consumo de queijos que já vem crescendo expressivamente no Brasil nos últimos cinco anos, passou de 3,5 Kg *per capita* em 2008 para 5 Kg *per capita* em 2014, sendo os queijos mais produzidos, a muçarela, o queijo prato, o requeijão e o *petit suisse*.

## 2.2 Queijo *Petit Suisse*

Desenvolvido por Charles Chervais em 1850 (SANDRAZ, 1989), o queijo *petit suisse* é definido como queijo fresco, não maturado, obtido por coagulação do leite com coalho e/ou enzimas e/ou bactérias específicas, adicionado ou não de outras substâncias alimentícias (BRASIL, 2000), apresenta alto valor nutricional e é obtido adicionando-se açúcar, creme e frutas à massa do queijo quark (VEIGA et al., 2000).

Encontra-se na quarta posição dentre os queijos mais produzidos no Brasil (SILVA, 2012), possui boa aceitação e público consumidor crescente, embora tais índices ainda sejam pequenos quando comparados aos de outros países (MARUYAMA et al., 2006), é consumido como sobremesa e direcionado principalmente ao público infantil (CARDARELLI et al., 2008).

Segundo dados da Nielsen (2011), o aumento nas vendas de queijo *petit suisse* correspondeu a 12,2% comparando os meses de janeiro a abril de 2010 com o mesmo período de 2009, e houve um incremento na produção, passando de 27 mil toneladas em 2007 para 54,5 mil toneladas em 2011, sendo que em 2011 este queijo representou 6,3% da produção de queijos em relação ao total produzido (ABIQ, 2013).

Para a fabricação do queijo *petit suisse*, utiliza-se como massa base o queijo quark, produto este, obtido pela coagulação ácida do leite integral ou desnatado por adição de cultura *starter* mesófila (*Lactococcus lactissubsp. lactis*, *Lactococcus lactissubsp. cremoris*) e coalho. Ao obter a coalhada ácida, é realizada a separação do soro, por drenagem em saco de tecido de algodão ou por centrifugação. A massa obtida pode ser utilizada como ingrediente para a fabricação de outros queijos (VIEIRA, 2013), a exemplo, o queijo *petit suisse*. O queijo quark apresenta coloração branca à ligeiramente amarelada, é macio, homogêneo, de textura elástica e sabor suavemente ácido (SCHULZ-COLLINS;

SENGE, 2004). Apresenta rendimento médio de produção de massa branca pelo processo de centrifugação de cerca de 4,62 litros de leite por quilograma de queijo obtido (MORGADO; BRANDÃO, 1998).

Algumas etapas da fabricação do queijo *petit suisse* podem influenciar na qualidade e na variedade desses queijos, a exemplo da pasteurização e da fermentação. O leite previamente aquecido a uma temperatura e tempo superiores ao da pasteurização, antes da acidificação, resulta em um maior rendimento, que ocorre devido à incorporação de água pelas proteínas desnaturadas e assim, maior retenção da mesma. Isso ocorre devido a maior interação das proteínas do soro com a caseína (KELLY; O'DONNELL, 1998).

Como citado anteriormente, uma das etapas inerentes ao processo de produção do queijo *petit suisse*, corresponde à dessoragem da massa, ou seja, a retirada do soro, o que se tornou um problema para as indústrias de laticínios já que tem como resultado a geração de grandes volumes deste subproduto.

### 2.3 Soro lácteo

O soro é o subproduto obtido pela coagulação do leite, caracterizando-se como um líquido amarelo-esverdeado de sabor ácido ou doce, dependendo do tipo de coagulação a qual o leite foi submetido e, constitui-se basicamente de 93% água; 4,5% lactose; 0,7% proteína; 0,5% sais minerais e 0,05% gordura (BALDASSO, 2008). Em média, 52% dos sólidos totais, 94% da lactose, 96% das proteínas solúveis e 38% dos minerais presentes no leite permanecem no soro (ROCHA, 2013), sendo as principais proteínas constituintes do soro, a  $\beta$ -lactoglobulina e a  $\alpha$ -lactoalbumina (METSAMUURONEN; MANTTARI; NYSTROM, 2011), consideradas por apresentar alta digestibilidade e excelente composição e biodisponibilidade de aminoácidos essenciais (SGARBIERI, 1996). São encontrados também peptídeos de baixo peso molecular e baixas

concentrações de lactoferrina e lactoperoxidase (KINSELLA, 1984), o soro contém também vitaminas, como B12, B6, ácido pantotênico, riboflavina, tiamina, vitamina C e vitamina A (LAGRANGE; DALLAS, 1997).

O tipo de soro predominante é o soro doce, proveniente da coagulação enzimática da fabricação de queijos amadurecidos duros, semiduros ou macios, e possui pH de aproximadamente 6,4. Da fabricação de queijos cottage, requeijão e quark, tem-se o soro ácido, que apresenta pH em torno de 4,7 (MILLER; JARVIS; MCBEAN, 2000; KOSIKOWSKI, 1979). O Quadro 1 traz a composição do soro doce e do soro ácido.

Quadro 1 Composição do soro doce e do soro ácido

<b>Componentes</b>	<b>Soro doce (%)</b>	<b>Soro ácido (%)</b>
Água	93 – 94	94 – 95
Sólidos totais	6 – 7	5 – 6
Lactose	4,5 – 5	3,8 – 4,2
Proteína	0,8 – 1	0,6 – 1
Ácido láctico	0,1 – 0,2	0,7 – 0,8
Cinzas	0,5 – 0,7	0,7 – 0,8

Fonte: Meneses (2009)

Além de ser rico nutricionalmente, o soro apresenta proteínas com importantes propriedades funcionais como: emulsificante, espumante e gelificante, tornando-o ingrediente de alto valor tecnológico no emprego em produtos lácteos e alimentícios diversos (ROSENBERG, 1995). Apesar do alto valor nutricional do soro, este se tornou um dos maiores problemas das indústrias de laticínios em todo o mundo, pois somente parte do soro produzido é utilizada, devido ao alto custo e da dificuldade de processá-lo (RAMOS, 2010), além do que, o alto percentual de água contido no soro, o torna perecível e impossibilita o seu armazenamento prolongado (ALMEIDA; BONASSI; ROÇA, 2001).

Em média, 10 litros de leite produzem cerca de 1 quilograma de queijo e 9 litros de soro (BALDASSO, 2008), sendo este considerado poluente, pois

possui elevada demanda bioquímica de oxigênio (DBO), entre 30.000 mg de  $O_2.L^{-1}$  a 60.000 mg de  $O_2.L^{-1}$ , segundo Rocha (2013) a lactose é responsável por 80% da capacidade poluidora do soro e de acordo com Andrade e Martins (2002) cada tonelada de soro não tratado despejado por dia no sistema de tratamento de esgoto equivale, em média, a poluição diária de cerca de 470 pessoas.

O poder poluente do soro, cerca de 175 vezes maior que do esgoto normal e outros efluentes, levou os governos e as autoridades reguladoras a restringir ou proibir o descarte do soro não tratado (SMITHERS, 2008).

A resolução nº 430 de 13 de maio de 2011 (BRASIL, 2011b) do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes e de acordo com o artigo 3º dessa resolução, os efluentes de qualquer fonte poluidora somente poderão ser lançados diretamente nos corpos receptores após o devido tratamento e desde que obedeçam às condições, padrões e exigências dessa resolução.

Importantes estudos têm sido desenvolvidos em todo o mundo a fim de utilizar o soro lácteo para a produção de concentrados proteicos de soro, soro em pó, lactose, ácido láctico, pasta de soro e outros produtos, porém a fabricação desses produtos não é viável economicamente para os laticínios de menor porte (MEENA et al., 2012). Sendo assim, o uso desse subproduto na fabricação de outros alimentos possibilita nova fonte de renda, além da possibilidade de venda do soro e eliminação de seus efeitos poluentes (RAMOS, 2010).

Segundo Thamer e Penna (2006) os produtos fabricados a partir de soro não só permitem ao fabricante reduzir o custo total dos ingredientes como também apresentam a importante vantagem de possuírem propriedades funcionais excepcionais, além de serem uma fonte concentrada de nutrientes lácteos, sobretudo proteínas de elevado valor nutricional.

Ramos (2010) avaliou as características sensoriais de iogurte e queijo quark incrementados com diferentes concentrações de xarope de lactulose,

obtido do soro de ricota e verificou que tanto o iogurte quanto o queijo quark apresentaram boa aceitação por parte dos consumidores. Prudencio et al. (2008) utilizaram concentrações de 20% e 30% de retentado de soro obtido por ultrafiltração como substituto parcial do leite na fabricação de queijos *petit suisse* e verificaram que a substituição de 30% de retentado de soro provocou queda no teor de sólidos totais, proteína, firmeza e consistência e aumento da umidade, do teor de carboidratos e maior sinérese dos queijos.

Sá, Barreto e Bordignon-Luiz (2008) avaliaram o perfil reológico de queijo cremoso elaborado com soro de leite e a influência de diferentes combinações de polissacarídeos e os autores constataram que a utilização do soro é viável e que a combinação de polissacarídeos é efetiva, podendo compensar possíveis alterações físicas ocasionadas pela adição de soro líquido em queijos cremosos. Todos esses trabalhos reafirmam a importância de buscar formas alternativas para o aproveitamento do soro.

### **2.3.1 Concentrado proteico de soro**

As proteínas do soro do leite possuem alto valor nutricional, bem como relevantes propriedades funcionais tecnológicas, e por esse motivo, o seu uso tem sido explorado no processamento de alimentos (STEINHAEUER et al., 2015). Destacam-se como propriedades tecnológicas das proteínas do soro a capacidade de emulsificação, capacidade em manter estável a emulsão, solubilidade e espumabilidade (PAGNO et al., 2009; VIDIGAL, 2009).

Embora as proteínas sejam o componente mais valioso do soro, sua concentração neste líquido é reduzida e para realçar as suas propriedades funcionais, são necessárias etapas de concentração em que o teor de lactose é reduzido e obtém-se um produto com alto teor de proteína (PAGNO et al., 2009). A concentração do soro pode ser alcançada por tecnologia de membrana,

como a ultrafiltração, nanofiltração ou por osmose reversa, dessa forma o concentrado proteico de soro pode ser produzido (STEINHAUER et al., 2015). Esse concentrado pode ser usado em produtos lácteos, de panificação, de confeitaria, produtos nutricionais e como substituinte parcial do leite em pó desnatado, atualmente tem sido utilizado como substituto de gordura, pois as proteínas constituídas por partículas uniformes e esféricas permitem o deslizamento de uma partícula sobre as outras e oferece durante a degustação a sensação de cremosidade semelhante à da gordura (NIKAEDO; AMARAL; PENNA, 2004; VIDIGAL 2009).

#### **2.4 Concentrado proteico de leite**

Consideradas como o componente mais importante presente no leite, as proteínas são frequentemente comercializadas na forma desidratada com a finalidade de aumentar a vida útil, facilitar seu uso e reduzir os custos com transporte. O processo de produção do concentrado proteico de leite inclui várias operações unitárias, como o tratamento térmico do leite desnatado, a remoção de componentes a partir da ultrafiltração, na qual a lactose, água, minerais e nitrogênio não proteico são removidos, e componentes como a caseína, proteínas do soro e gordura são retidos, este retentado é então concentrado por evaporação e submetido ao *spray drying* (MIMOUNI et al., 2009; SIKAND; TONG; WALKER, 2013). O concentrado proteico de leite pode apresentar várias concentrações de proteína, que variam de 35% a 85% e seu uso tem se tornado cada vez mais comum em produtos como sorvetes, queijos, barras de proteína e iogurtes, devido às suas propriedades nutricionais e funcionais e para incrementar o conteúdo de proteína dos produtos aos quais é adicionado (CROWLEY et al., 2014; HAQUE et al., 2011).

## 2.5 Bactérias Láticas

As bactérias láticas constituem um grupo de microrganismos amplamente distribuídos nos alimentos e são encontradas naturalmente no leite, bem como em carne e vegetais (CARVALHO, 1999), são produtoras de uma variedade de compostos antimicrobianos, incluindo: ácidos, peróxido de hidrogênio, dióxido de carbono, álcool e bacteriocina, que podem antagonizar o crescimento de bactérias deterioradoras e patogênicas presentes nos alimentos (HUGAS, 1998; SCHILLINGER; LUCKE, 1989; SOUZA, 2009).

As primeiras definições de bactérias láticas baseavam na habilidade de fermentação e coagulação do leite por esses microrganismos, incluindo também os coliformes. Em 1901, quando Beijerinck descreveu os *Lactobacillus* como bactérias *gram* positivas, os coliformes foram então, separados do grupo das bactérias láticas (STILES; HOLZAPFEL, 1997).

As bactérias láticas compreendem um grupo muito diversificado de microrganismos com algumas características comuns, são bactérias *gram* positivas, catalases negativas, aerotolerantes, não esporuladas, perfeitamente adaptadas a ambientes ricos em nutrientes e que produzem ácido lático como principal produto final de fermentação dos hidratos de carbono, requerem nutrientes complexos para o seu desenvolvimento, tais como: aminoácidos, peptídeos, ácidos nucleicos e derivados, vitaminas, sais e ácidos graxos, a energia é obtida através da fermentação de açúcares e os produtos finais podem ser: lactato, acetato, formato, dióxido de carbono e etanol (HOFVENDAHL; HÄGERDAL, 2000; SOUZA, 2009).

O grupo das principais bactérias ácido láticas compreende cocos do gênero: *Leuconostoc*, *Ruterococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, além de bacilos do gênero *Lactobacillus* (SOUZA, 2009; STILES; HOLZAPFEL, 1997).

Muito utilizadas na fabricação de derivados lácteos, as principais funções das bactérias lácticas são produzir ácido láctico a partir da lactose, conferindo sabor ácido-fresco e facilitando a conservação do produto; formar compostos voláteis e proporcionar uniformidade aos produtos nos diferentes lotes de fabricação. As bactérias lácticas, como microrganismos de metabolismo fermentativo, quando multiplicam no leite transformam essencialmente a lactose e os citratos. Da utilização do dissacarídeo lactose, que é desdobrado em glicose e galactose, resulta o ácido láctico, e da fermentação do citrato sempre há formação de gás e aroma (SOLDATI, 2010).

O grupo das bactérias lácticas pode ser subdividido em três outros subgrupos, baseado no metabolismo da glicose, sendo homofermentativas quando produzem mais de 85% de ácido láctico a partir da glicose e heterofermentativas quando produzem apenas 50% de ácido láctico e consideráveis quantidades de etanol, ácido acético e dióxido de carbono e espécies heterofermentativas que produzem ácido láctico DL, ácido acético e dióxido de carbono (SOLDATI, 2010). Na Figura 1 estão representadas as vias catabólicas das bactérias lácticas.

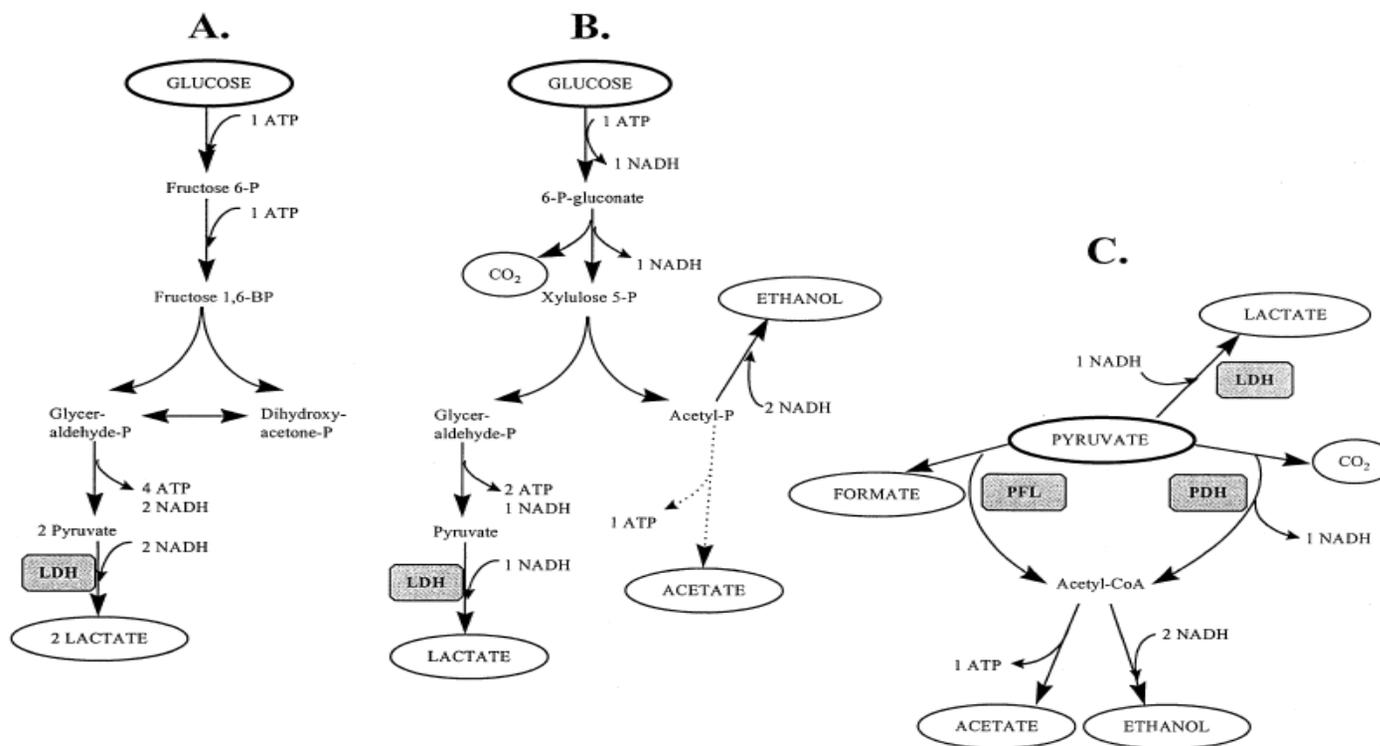


Figura 1 Vias catabólicas das bactérias lácticas. Homofermentação (A), heterofermentação (B) e fermentação mista (C). P = fosfato, BP = bifosfato, LDH = lactato desidrogenase, PFL = piruvato formato liase e PDH = piruvato desidrogenase

Fonte: Hofvendahl e Hagerdal (2000)

A via metabólica mais importante das bactérias lácticas começa com o transporte ativo da lactose através da membrana celular, a lactose então é clivada em glicose e galactose. No caso das bactérias homofermentativas, a glicose é fracionada por uma série de reações até o piruvato, que é então reduzido a lactato pela enzima lactato desidrogenase (LDH) conforme mostra a Figura 1 (A). Já as bactérias lácticas heterofermentativas não possuem algumas enzimas necessárias para a via descrita, utilizando de outra rota, no caso, da pentose fosfato, que leva à formação de diferentes subprodutos além do lactato, incluindo dióxido de carbono, acetato ou etanol (Figura 1 B) (SALOFF-COSTE, 1994).

Algumas bactérias lácticas homofermentativas, em determinadas condições, como exemplo a limitação de glicose, aumento do pH e a diminuição da temperatura, geram produtos de fermentação diferentes do ácido láctico, como formato, acetato, etanol e dióxido de carbono. Isso não é uma mudança para a via da pentose fosfato, mas sim uma mudança na forma como o piruvato é metabolizado, ou seja, a produção de lactato se torna reduzida e o resto do piruvato é convertido em acetil-CoA e formato através da enzima piruvato formato liase (PFL) (Figura 1 C). A base metabólica para essa mudança é que a enzima lactato desidrogenase é ativada pela frutose bifosfato, e a piruvato formato liase é inibida pela triose fosfato (Figura 2), assim sendo, em condições de excesso de nutrientes, a concentração de intermediários do catabolismo de carboidratos é alta e o piruvato é transformado quantitativamente em lactato, pela ativação da lactato desidrogenase através da frutose bifosfato. Já em condições de limitação de nutrientes, parte do piruvato é convertida em etanol e acetato (Figura 2). Presume-se que esse comportamento seja uma adaptação que permite uso mais eficiente da quantidade limitada de açúcar. A produção do dióxido de carbono ocorre na presença de oxigênio, pois nessa situação a piruvato formato liase é inibida e a rota alternativa do metabolismo do piruvato se torna ativa através da enzima piruvato desidrogenase (PDH), que resulta na formação do dióxido de carbono,

acetil-CoA e NADH, conforme esquema representado na Figura 1 (C) (HOFVENDAHL; HÄGERDAL, 2000; STANIER et al., 1987). Na Figura 2 está representada a regulação das vias de composição do piruvato.

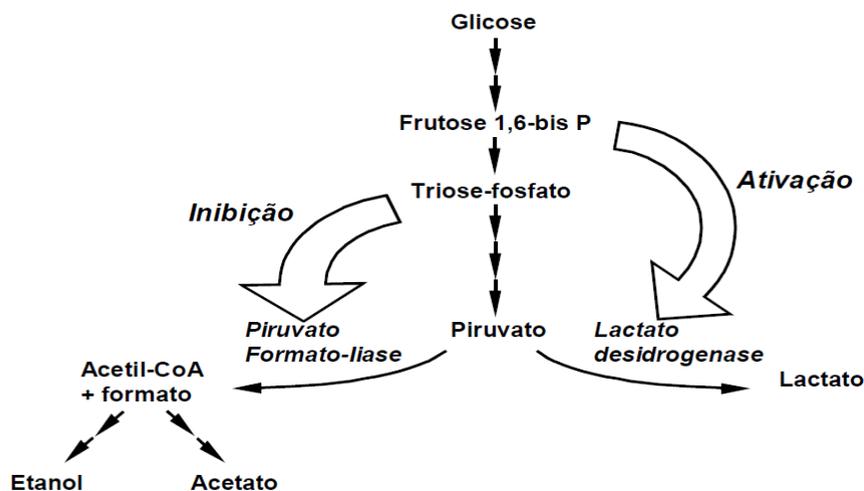


Figura 2 Regulação das vias de composição do piruvato  
Fonte: Carvalho (2009)

Segundo Leroy e De Vuyst (2004) as bactérias lácticas têm grande importância econômica na fermentação de grande variedade de alimentos, incluindo os queijos. São encontradas de forma natural no leite cru, no leite pasteurizado ou de forma industrializada, as quais são adicionadas intencionalmente nos alimentos. Para a indústria de queijos, as características desejadas para as bactérias lácticas são: poder de acidificação e de proteólise, características essas, distintas de acordo com a tecnologia de fabricação do queijo que se deseja produzir (temperatura ótima de crescimento, resistência a bacteriófagos, atividade proteolítica, produção de substâncias aromáticas e resistência a eventuais substâncias antifermentativas utilizadas no processo de fabricação) (SOLDATI, 2010).

Carvalho (1999) afirma que as bactérias lácticas não sintetizam diversos aminoácidos essenciais, de forma que a proteólise de peptídeos e proteínas do meio de cultura é necessária para o seu crescimento. Essas bactérias possuem enzimas proteolíticas na parede celular, na membrana celular e no citoplasma, mas apenas 2% da caseína são hidrolisadas durante a fermentação do leite.

Muito utilizada na fabricação de alimentos fermentados, uma cultura *starter* pode ser conceituada como uma preparação microbiana de elevado número de células vivas ou em estado de dormência, contendo pelo menos um tipo de microrganismo, que é adicionada às matérias-primas e recebe esta denominação (*starter*) porque iniciam a fermentação. O grupo das bactérias do ácido láctico ocupa papel central nesse processo e possui um longo histórico de utilização segura durante a produção de alimentos e de bebidas (LEROY; DE VUYST, 2004; PARENTE; COGAN, 2004). Para fabricação de queijos pode-se utilizar culturas definidas, um número conhecido de cepas conhecidas, ou culturas mistas nas quais se tem um número desconhecido de cepas. Dependendo do queijo utilizam-se culturas mesofílicas ou termofílicas, os microrganismos mesófilos apresentam temperatura ótima de crescimento em torno de 32 °C, porém, podem crescer entre 10-45 °C, já os termófilos apresentam temperatura ótima em torno de 42 °C (PERRY, 2004).

As culturas mesofílicas utilizadas, definidas ou mistas, são constituídas principalmente de *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* e *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*; já as termofílicas mais comuns são compostas de *Streptococcus thermophilus* e bacilos lácticos como *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* e *Lactobacillus helveticus* (PERRY, 2004).

*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* são bactérias lácticas mesofílicas muito utilizadas em alimentos fermentados (BEHMER, 1999), multiplicam-se no leite apresentando faixa de temperatura ótima de 22 °C a 30 °C e pH ótimo de 6,0, sendo

levemente proteolítico e apresentando fraca produção de gás. Produzem exclusivamente, ácido lático na fermentação da glicose (SOLDATI, 2006).

*Lactococcus lactissubsp. lactis* é encontrado em produtos como queijos frescos, conferindo sabor característico, apresentam temperatura ótima de crescimento de 30 °C e faixa de pH ótimo de 5,5 a 6,4; levemente proteolítico; fraca produção de gás; produz sabor e aroma puro, fresco e ácido. Utilizado na fabricação de vários tipos de queijos como *starters* juntamente ao *Lactococcus lactissubsp. cremoris*, atuando como principais acidificantes, e nos estágios iniciais de maturação. Ao fermentarem a glicose, produzem exclusivamente ácido lático L (+) (SOLDATI, 2006). Segundo Robinson e Wilbey (1998) o uso de misturas de culturas mesofílicas como *starter* produz mais ácido em relação ao uso de apenas uma cultura.

O grupo *Streptococcus thermophilus* é de grande interesse para a indústria de laticínios como componentes do fermento lático para os mais diversos tipos de queijos, nos quais esses microrganismos são responsáveis por características e/ou textura da massa e na produção de diferentes tipos de leite fermentados e, devido a este motivo, considerado comercialmente como o grupo mais importante de bactérias ácido láctica. Utiliza-se como fonte de energia a lactose e como fonte de nitrogênio a proteína; pH ótimo de crescimento de 6,0; termofílico com temperatura ótima entre 37 °C a 42 °C; homofermentativo com fraca formação de diacetil; fracamente proteolítico, conferindo aos produtos sabor e aroma suave de ácido, sem aroma especial (COX, 1977; SHARPE, 1979; SOLDATI, 2010).

O *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* fermenta um número restrito de carboidratos, sendo um deles a lactose. Apresenta faixa de pH ótimo de crescimento de 5,5 a 5,8; termofílico com temperatura ótima de crescimento de 45 °C; proteolítico; forma acetaldeído e é utilizado na produção de leites fermentados, leites fermentados com propriedades probióticas, para produzir queijo suíço e diversas variedades de queijos italianos (HELLER, 2008; SOLDATI, 2006).

O *Lactobacillus helveticus* é isolado de leite ácido e queijos, é homofermentativo; fortemente acidificante capaz de fermentar rapidamente a lactose; produz forte sabor ácido; pH ótimo de crescimento de 5,2; termofílico com temperatura ótima de crescimento entre 38 °C a 42 °C; apresenta alta atividade proteolítica quando comparado com outras bactérias lácticas. É bastante utilizado como *starter* em pequenas quantidades na fabricação de queijos suíços e italianos, em queijos duros picantes, sendo também utilizado em *starters* juntamente com *Streptococcus thermophilus* (SOLDATI, 2010), muito utilizado também como cultura adjunta na produção de queijos semiduros com baixo teor de gordura, promovendo aumento da proteólise, diminuição do gosto amargo e intensificação do aroma do queijo (DRAKE; SWANSON, 1995). No Quadro 2 estão descritos os produtos principais e secundários das bactérias lácticas aqui comentadas.

Quadro 2 Produtos principais e secundários de bactérias lácticas usadas em derivados do leite (colchetes [ ] indicam traços do produto)

Gênero (Forma)	Espécie	Produtos principais do metabolismo	Produtos secundários do metabolismo
<i>Lactococcus</i> (cocos)	<i>Lc. cremoris</i>	Ácido láctico	Acetaldeído, acetona, diacetil, [etanol]
	<i>Lc. lactis</i>	Ácido láctico	Acetaldeído, acetona, diacetil, etanol
<i>Streptococcus</i> (cocos)	<i>S. thermophilus</i>	Ácido láctico	Acetaldeído, acetona, acetoína, diacetil, [etanol]
<i>Lactobacillus</i> (bastões)	<i>Lb. bulgaricus</i>	Ácido láctico	Acetaldeído, acetona, acetoína, diacetil, [etanol]
	<i>Lb. helveticus</i>	Ácido láctico	Ácido acético, acetaldeído, diacetil, [etanol]

Fonte: Modificado de Saloff-Coste (1994)

## 2.6 Sinérese em queijos

A sinérese é a separação do soro em géis lácteos durante o armazenamento de produtos lácteos fermentados, e ocorre devido à expulsão gradativa do soro causada pela instabilidade e contração da rede do gel, a qual perde sua capacidade de ligar à fase aquosa do produto. Os géis de caseína são muito dinâmicos e a formação de poros e partículas que constituem esta rede pode ocorrer durante ou depois da formação do gel, esse processo pode conduzir à formação de agregados densos e uma rede de gel com poros, sendo propenso a sinérese (AICHINGER et al., 2003; LUCEY, 2001, 2002).

Os fatores que influenciam na textura do iogurte e também na sinérese incluem a quantidade de sólidos totais, a composição do leite (proteína e sais), homogeneização, tipo de cultura, acidificação resultante do crescimento das culturas de bactérias, tipo de estabilizante e emulsificante utilizados e o pré-tratamento térmico do leite (HARWALKAR; KALAB, 1986). Os rearranjos na rede produzidos por forças atrativas entre as moléculas de caseína ou micelas agrupadas podem levar a formação de ligações intermoleculares adicionais e, conseqüentemente, a contração do gel com expulsão de líquido (DANNENBERG; KESSLER, 1988).

Em diferentes tipos de géis, a susceptibilidade da sinérese é associada também a um longo tempo de armazenamento do produto, resultado da baixa habilidade da rede do gel de incorporar todo o soro (LUCEY, 2001). A liberação do soro durante o armazenamento de um gel de leite intacto, como iogurte, ou de um gel lácteo quebrado, como o quark ou iogurte dessorado, representa para os consumidores um defeito do produto, ao observarem a formação de um líquido na superfície do mesmo (AICHINGER et al., 2003).

São encontrados na literatura, alguns trabalhos em que a sinérese foi avaliada em produtos lácteos. Antunes, Cazetto e Bolini (2004) avaliaram a sinérese de iogurtes probióticos adicionados de concentrado proteico de soro e

verificaram que a adição do mesmo diminuiu a sinérese nos iogurtes, além de proporcionar uma maior estabilidade durante o armazenamento. Silva (2010) avaliou a sinérese em iogurtes de leite de cabra adicionados de proteína do extrato hidrossolúvel de soja e cultura probiótica, a autora observou que houve aumento da sinérese ao longo do tempo de estocagem em todos os iogurtes avaliados, e nos iogurtes aos quais foi adicionado o extrato hidrossolúvel de soja, a susceptibilidade ao dessoramento foi menor, porém, não foi observada influência das culturas probióticas.

## **2.7 Perfil de textura e sua aplicação em queijos**

A reologia envolve o estudo da deformação e fluxo de materiais quando submetidos a uma tensão ou compressão (FOX et al., 2000). As características reológicas como a viscosidade, consistência ou textura são importantes no controle de qualidade dos alimentos, sendo a textura considerada como a manifestação sensorial e funcional das propriedades estruturais, mecânicas e superficiais dos alimentos, detectadas pelos sentidos da visão, audição, tato e sinestésicas (PRUDENCIO, 2006; SZCZESNIAK, 2002).

A textura pode ser avaliada por métodos sensoriais utilizando-se de provadores treinados. Entretanto, em trabalhos de rotina, os métodos sensoriais não são os mais vantajosos, pois são dispendiosos, sendo que existem outros métodos para obtenção mais rápida de indicadores da textura dos alimentos (SANTOS JÚNIOR et al., 2012).

Os testes instrumentais de textura são geralmente baseados em força de compressão, com a função de simular a mastigação entre os molares. A amostra é submetida a dois ou mais testes, que simulam o ato de mastigação. Quando o pistão deforma a amostra, o movimento do suporte é detectado e uma curva de força – compressão é traçada. A partir dessa curva, obtêm-se os parâmetros primários

(dureza, adesividade, coesividade e elasticidade), e secundários, (mastigabilidade e gomosidade), que compõem as características mecânicas dos queijos (FOX et al., 2000).

Os analisadores de textura, também chamados de texturômetros, têm condições de calibrar uma variedade de parâmetros texturais, fornecendo dados objetivos e uniformes que permitem a comparação precisa dos resultados. Um exemplo é o equipamento TA-XT2 *Texture Analyser* (Stable Micro Systems®), que consiste em um moderno texturômetro com grande versatilidade, no qual é possível executar o teste e obter diretamente todos os parâmetros da análise do perfil de textura medidos e transformados pelo seu aplicativo computacional (PIAZZON-GOMES; PRUDÊNCIO; SILVA, 2010; REYES-VEGA et al., 1998).

Os parâmetros mais importantes da textura, no que diz respeito às preferências dos consumidores, segundo Fox et al. (2000), Moreira (2011) e Szczesniak (1998) são:

- ✓ dureza (ou firmeza): força necessária para realizar uma determinada deformação;
- ✓ adesividade: trabalho necessário para superar as forças atrativas entre a superfície do alimento e outras superfícies em que o alimento entra em contato;
- ✓ elasticidade: razão pela qual um material deformado volta a sua condição não deformada após remoção da força de deformação;
- ✓ coesividade: resistência das ligações internas;
- ✓ fraturabilidade: força necessária para quebrar o material;
- ✓ mastigabilidade: tempo ou o número de mastigações requeridas para desintegrar um alimento sólido a um estado pronto para ser deglutido, sendo o produto da dureza, coesividade e elasticidade;
- ✓ gomosidade: energia requerida para desintegrar um alimento semissólido a um estado pronto para ser deglutido, sendo produto de um baixo grau de dureza e alto de coesividade.

Alguns cuidados precisam ser observados para que o teste seja corretamente utilizado. De acordo com Szczesniak (1995) é necessária a distinção entre alguns parâmetros de textura, como por exemplo, a mastigabilidade e a gomosidade, ou seja, um alimento é sólido ou semissólido, e assim esses dois parâmetros são mutuamente excludentes, sendo a mastigabilidade e também a fraturabilidade adequadas na avaliação de alimentos sólidos, e a gomosidade na avaliação de alimentos semissólidos.

A textura é um importante parâmetro na avaliação da qualidade de queijos durante o armazenamento e é afetada pela composição como porcentagem de umidade, sal, gordura, pH e o grau de proteólise (ATTAIE, 2005). A aceitação pelos consumidores, de um produto como o queijo, depende diretamente de sua aparência, *flavour* e textura, que são por sua vez, originadas por uma combinação dos parâmetros microbiológicos, bioquímicos e tecnológicos, que afetam a microestrutura direta ou indiretamente (PEREIRA; GOMES; MALCATA, 2009). Ao mesmo tempo em que confirma a expectativa quanto à qualidade do produto, a textura está associada à satisfação e ao prazer de comer (PIAZZON-GOMES; PRUDÊNCIO; SILVA, 2010).

## **2.8 Análise sensorial**

A análise sensorial é um estudo sistemático das respostas humanas às propriedades físico-químicas dos alimentos, esse estudo compreende a definição e medida dos atributos de produtos que são percebidos pelos sentidos e denominam-se de características sensoriais (MOREIRA, 2011). A Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT (1993) define a análise sensorial como a ciência usada para evocar, medir, analisar e interpretar reações das

características dos alimentos e materiais, como são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição.

Os testes sensoriais podem identificar a presença ou ausência de diferenças perceptíveis, definir características sensoriais importantes de um produto, detectar particularidades que não podem ser detectadas por procedimentos analíticos e avaliar a aceitação de um produto (MUÑOZ; CIVILLE; CARR, 1992). As diferenças perceptíveis podem ser determinadas pelos testes afetivos, que tem como objetivo conhecer a avaliação de consumidores sobre um ou mais produtos (GUAGLIANONI, 2009), são ferramentas importantes, pois acessam diretamente a opinião do consumidor sobre as características específicas do produto ou ideias sobre o mesmo (FERREIRA et al., 2000).

Dentre os testes afetivos, estão os testes de aceitação que são usados quando a finalidade é avaliar se os consumidores gostam ou desgostam do produto, requerem equipe com grande número de participantes que representam a população de consumidores atuais ou potenciais do produto (MINIM, 2006). A escala hedônica é um método muito utilizado, no qual o consumidor expressa sua aceitação seguindo uma escala previamente estabelecida, que varia gradativamente entre os termos gosta e desgosta (CHAVES; SPROESSER, 1993). A avaliação da escala hedônica é então convertida em escores numéricos e analisada estatisticamente para determinar a diferença no grau de aceitação entre as amostras (LAND; SHEPHERD, 1988).

Uma vez que o número de produtos alimentícios destinados ao público infantil tem aumentado, assim como o papel das crianças na decisão de compra, os testes sensoriais com crianças têm se tornado importantes para a indústria de alimentos (KROLL, 1990) e são cada vez mais utilizados, sendo o teste de aceitação realizado com a escala hedônica facial. Elas são descritas com uma série de desenhos de expressões faciais, ordenados em sequência a partir da expressão triste a expressão

feliz para que a criança possa correlacionar com a sensação percebida ao provar o produto (STONE; SIDEL, 2004).

Há na literatura alguns estudos nos quais foi realizada a análise sensorial com crianças, Rodrigues et al. (2007) desenvolveram biscoitos tipo *cookie* contendo café, foram testadas três formulações utilizando café expresso, café solúvel e café torrado e moído, foi realizado então o teste de aceitação dos biscoitos com crianças de seis a treze anos, utilizando a escala facial de três pontos, sendo que as três formulações apresentaram boa aceitação. Saydelles et al. (2010) elaboraram biscoito recheado enriquecido com fibras e com menor teor de gordura, e compararam a aceitação dos biscoitos elaborados com a aceitação de biscoitos industrializados, com crianças em idade entre sete e dez anos, utilizando a escala hedônica facial de três pontos, e observaram que tanto o biscoito elaborado e o biscoito industrializado apresentaram alto índice de aceitabilidade. Gastaldon et al. (2007) analisaram a aceitação de empada integral e não integral com crianças em idade entre seis e nove anos, utilizando a escala hedônica facial de cinco pontos, e concluíram que a empada integral foi tão bem aceita quanto a empada não integral.

Gurgel et al. (2011) avaliaram a aceitação de três formulações de sorvete de batata-doce com crianças de seis a nove anos utilizando a escala hedônica facial de cinco pontos. Em uma das formulações foi adicionado chocolate em pó, em outra formulação foi adicionado leite de coco e na outra formulação não houve adição de chocolate em pó nem leite de coco, todos os sorvetes apresentaram boa aceitação com termos hedônicos entre gostei muito e gostei muitíssimo. Souza et al. (2011) avaliaram a aceitação sensorial em relação à textura de cinco marcas comerciais de queijo *petit suisse* e realizaram a análise do perfil de textura para correlacionar com a aceitação dos queijos. Os autores verificaram que os consumidores preferiram queijos *petit suisse* com maior firmeza, adesividade,

elasticidade e gomosidade, evidenciando uma maior preferência dos consumidores pelo *petit suisse* mais consistente.

Os principais objetivos da análise sensorial em queijos são avaliar a sua qualidade, caracterizá-los durante o desenvolvimento do produto e testar a sua aceitação pelos consumidores (BANKS, 2007).

## **2.9 *Check-all-that-apply* (CATA)**

O questionário CATA foi usado inicialmente em estudos de mercado sobre a percepção do consumidor em relação a diferentes marcas e constitui em uma lista de atributos os quais os provadores escolhem aqueles que melhor caracterizam cada produto. Tem sido introduzido na análise sensorial em estudos de consumo, para determinar os atributos sensoriais, ajudar na otimização e para compreender as preferências do consumidor em relação a um produto específico (DOOLEY; LEE; MEULLENET, 2010; VALENTIN et al., 2012).

A escolha dos atributos do questionário CATA pode ser realizada através de um grupo de foco, no qual os provadores citam os atributos que acham característicos de cada produto. Posteriormente, o questionário é utilizado em testes com consumidor como complemento à escala hedônica, em que, após avaliar o gosto pelo produto é solicitado ao provador que indique os atributos do questionário que descrevem esse produto. Por ser uma metodologia que resume a avaliação por consumidores, são necessários entre cinquenta a cem provadores para se obter uma caracterização sensorial (VALENTIN et al., 2012).

Quando comparada com a análise descritiva, é uma técnica mais rápida e simples, em termos de desenho experimental e compreensão do consumidor (VARELA; ARES, 2012). O CATA é uma técnica que produz como resultados frequências, em detrimento de valores, por isso produz dados qualitativos, indicando se cada termo é apropriado ou não para descrever o produto, não

sendo possível quantificar a intensidade da sua presença ou ausência (DOOLEY; LEE; MEULLENET, 2010).

Na literatura são encontrados alguns trabalhos que fazem uso da metodologia *check-all-that-apply* (CATA). Lage e Ramos (2014) avaliaram a influência do uso de soro de leite adicionado de 0%; 1,5% e 3% de lactulose sobre as características sensoriais de apresuntados. Foram levantados os atributos dos apresuntados através da metodologia do *check-all-that-apply*. Os autores realizaram o teste de comparação múltipla e as notas obtidas na escala hedônica de nove pontos mostraram que não houve nenhuma diferença ou que houve diferença muito ligeira dos apresuntados com adição de soro e os apresuntados sem adição de soro. Pela Análise dos Componentes Principais (PCA) verificou-se que os provadores associaram o apresuntado adicionado de soro com 1,5% de lactulose aos atributos de pouco salgado e sabor adocicado; ao apresuntado adicionado de soro com 0% de lactulose foram relacionados os atributos sabor característico de apresuntado, macio e sabor residual amargo; o apresuntado sem adição de soro apresentou cor pálida. Os autores constataram através da análise de fatores paralelos (PARAFAC) que os provadores preferiram os apresuntados com adição de soro com 0% e 3% de lactulose em relação aos atributos de textura, sabor e aroma.

Ares et al. (2010) avaliaram diferentes concentrações de açúcar e cacau em pó em sobremesa láctea sabor chocolate e utilizaram o *check-all-that-apply* a fim de caracterizar as formulações. Inicialmente, oito provadores treinados avaliaram diferentes amostras de sobremesas lácteas, que diferiam em suas características sensoriais, e então levantaram os termos mais apropriados que descrevessem as amostras. Foram escolhidos dezoito termos levantados pelo painel treinado para compor o questionário CATA, e posteriormente setenta provadores não treinados avaliaram a aceitação das nove formulações de sobremesa láctea sabor chocolate com diferentes concentrações de açúcar e

cacau em pó e escolheram os termos mais apropriados do CATA para descrevê-las. A partir dos resultados os autores constataram que o cacau em pó apresenta maior efeito que o açúcar sobre as características da sobremesa láctea. Quanto à aceitação, um grupo de provadores preferiu as sobremesas com as mais baixas concentrações de açúcar e cacau em pó, enquanto outro grupo preferiu as sobremesas com maiores concentrações de cacau em pó, não sendo observado efeito da concentração de açúcar na aceitação das sobremesas por parte deste grupo. As sobremesas lácteas com menores concentrações de cacau em pó foram descritas como textura não muito grossa, doce, pouco sabor de chocolate e cremosa, já os termos sabor intenso de chocolate, gostoso, textura grossa, textura muito grossa, áspero e amargo foram associados às sobremesas com as maiores concentrações de cacau em pó.

## **2.10 Avaliação da microestrutura de queijos através das técnicas de microscopia**

O conhecimento detalhado da estrutura e organização dos principais componentes dos alimentos e a sua relação com as propriedades como textura, cor e aparência são o principal objetivo da microscopia nos estudos com alimentos (FERRANDO; SPIESS, 2000). O conhecimento da microestrutura dos alimentos é essencial para prever e controlar o comportamento dos mesmos durante o processamento (AGUILERA; STANLEY, 1990).

Segundo El-Bakry e Sheehan (2014) a microscopia eletrônica é utilizada quando se deseja uma melhor resolução do que a obtida no microscópio de luz, por exemplo, na visualização detalhada da estrutura da proteína no interior da matriz do queijo. Atualmente, as técnicas mais utilizadas na avaliação da microestrutura dos queijos são principalmente a microscopia eletrônica de varredura e a microscopia eletrônica de transmissão, sendo a microscopia

eletrônica de varredura uma técnica valiosa nos estudos dos derivados do leite, pois fornece informações da microestrutura que podem ser relacionadas com as propriedades físicas (KALAB, 1993).

Várias pesquisas foram realizadas utilizando-se a microscopia para avaliar a microestrutura de produtos lácteos. Silva (2012) estudou o efeito do congelamento e da incorporação de gomas, como a goma xantana, carragena e amido modificado sobre a estrutura do queijo *petit suisse*, e através da microscopia eletrônica de varredura, verificou que a goma xantana conferiu ao queijo uma estrutura menos compacta.

Jiménez-Guzmán et al. (2009) utilizaram uma cepa de *Streptococcus thermophilus*, produtora de exopolissacarídeos, na produção do queijo “mexicano panela” e através da microscopia eletrônica de varredura os autores observaram que o exopolissacarídeo se ligou a cadeia proteica do queijo e aos glóbulos de gordura, levando a formação de uma estrutura mais aberta com maior retenção de água e gordura, o que contribuiu para um maior rendimento do queijo.

Através da microscopia eletrônica de transmissão, Costa (2008) analisou a microestrutura de sorvetes fortificados com cálcio e adicionados de  $\kappa$  carragena e observou que a adição do cloreto de cálcio, especialmente na presença da  $\kappa$  carragena causou a desestabilização do meio, devido à alta adsorção dos glóbulos de gordura na interface das bolhas de ar e a maior interconexão entre elas, formando aglomerados coalescentes de gordura.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras (DCA/UFLA) em Lavras, MG. A fabricação dos queijos foi realizada na Planta Piloto do Setor de Laticínios e as análises físico-químicas do leite, bem como as análises do *petit suisse* foram realizadas no Laboratório de Análises físico-químicas de produtos lácteos do Setor de Laticínios. As análises de atividade de água e textura foram realizadas no Laboratório de Engenharia de Alimentos do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras. A análise da microestrutura dos queijos foi realizada no Laboratório de Microscopia Eletrônica do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras. A análise sensorial dos queijos foi realizada em duas escolas situadas na cidade de Lavras, MG.

Os queijos foram produzidos variando-se o tipo de cultura láctica utilizada e a temperatura de fermentação. Foi utilizada a cultura láctica mista de *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* (Chr. Hansen®), cultivo composto por bactérias termofílicas e mesofílicas, sob a denominação comercial DVS RST-744. Cultura láctica de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus* (Chr. Hansen®), cultivo composto por bactérias termofílicas, sob a denominação comercial DVS CO-03. E cultura láctica de *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* (Chr. Hansen®), cultivo composto por bactérias mesofílicas, sob a denominação comercial DVS R-704. Todos os cultivos liofilizados e de uso direto. As temperaturas utilizadas foram determinadas de acordo com as curvas de fermentação recomendadas pelo fabricante, 32 °C, 37 °C, 40 °C e 43 °C. Os tratamentos estão descritos na Tabela 1 de acordo com a cultura e temperatura utilizadas.

Tabela 1 Definição dos tratamentos de acordo com a cultura adicionada e a temperatura de fermentação

Tratamento	Cultura e temperatura utilizadas para fermentação
T1 (Controle)	R-704 32 °C
T2	CO-03 32 °C
T3	CO-03 37 °C
T4	CO-03 40 °C
T5	CO-03 43 °C
T6	RST-744 32 °C
T7	RST-744 37 °C
T8	RST-744 40 °C
T9	RST-744 43 °C

R-704: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (Chr. Hansen®), CO-03: *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus* (Chr. Hansen®); RST-744: *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (Chr. Hansen®)

### 3.1 Preparo das culturas lácticas

Os fermentos de uso direto, liofilizados (embalagens de 500U) foram diluídos a 1 litro de leite esterilizado desnatado, com a temperatura ajustada para 5 °C, e homogeneizados com o uso de mixer previamente esterilizado. A mistura foi homogeneizada até a completa dissolução do fermento. Em seguida, foi fracionada em recipientes de vidro previamente higienizados e sanificados, tampados e armazenados em freezer, a -18 °C, até o momento do uso na fabricação dos queijos *petit suisse*.

### 3.2 Ingredientes para a fabricação de queijos *petit suisse*

Os ingredientes utilizados para elaboração do queijo *petit suisse* foram: leite desnatado pasteurizado, fermentos (Chr. Hansen®), coalho líquido (Chr. Hansen®), sacarose comercial, espessante (Tate & Lyle Gemacom Tech®), amido modificado (Tate & Lyle Gemacom Tech®), concentrado proteico de leite com 60% de proteína (Tate & Lyle Gemacom Tech®), concentrado proteico de soro com 33% de proteína

(Tate & Lyle Gemacom Tech®), creme de leite com 66% de gordura e preparado de morango (Tate & Lyle Gemacom Tech®). Todas as culturas lácticas (fermentos) utilizadas neste estudo foram fornecidas pela Chr. Hansen® e os ingredientes, incluindo amido modificado, espessante, concentrado proteico de leite, concentrado proteico de soro e preparado de morango foram cedidos pela Tate & Lyle Gemacom Tech®.

### **3.3 Escolha da formulação ideal do queijo *petit suisse***

A escolha da melhor cultura na fabricação do *petit suisse* consiste de uma das etapas de um projeto maior. Em etapa anterior, foi estudada a melhor formulação para o *petit suisse* com retenção de soro. Foram testadas diferentes concentrações de amido modificado, espessante e concentrado proteico (concentrado proteico de soro e concentrado proteico de leite), e a partir de teste sensorial, análise de perfil de textura, sinérese e análises físico-químicas, Bastos et al. (2011) encontraram as melhores concentrações que permitissem a melhor formulação para o *petit suisse* com retenção de soro, que foram as concentrações utilizadas no presente estudo.

### **3.4 Etapas de obtenção dos queijos *petit suisse***

Os queijos foram preparados a partir de 1 litro de leite desnatado, ao qual foi adicionado de sacarose, amido modificado, espessante, concentrado proteico de soro e concentrado proteico de leite, seguido de tratamento térmico a 90 °C por 3 minutos. A mistura foi resfriada para temperatura na qual foi realizada a fermentação em banho-maria, sendo medido o pH em intervalo de meia hora, até que se atingisse um pH de 5,5. Após a fermentação foi realizado resfriamento a 10 °C por 12 horas e adicionados o preparado de morango e o creme, que foi aquecido em banho-maria até 50 °C para melhor incorporação na massa, seguido de homogeneização. O fluxograma de fabricação dos queijos *petit suisse* está representado na Figura 3 e a quantidade de cada ingrediente adicionado está representada na Tabela 2.

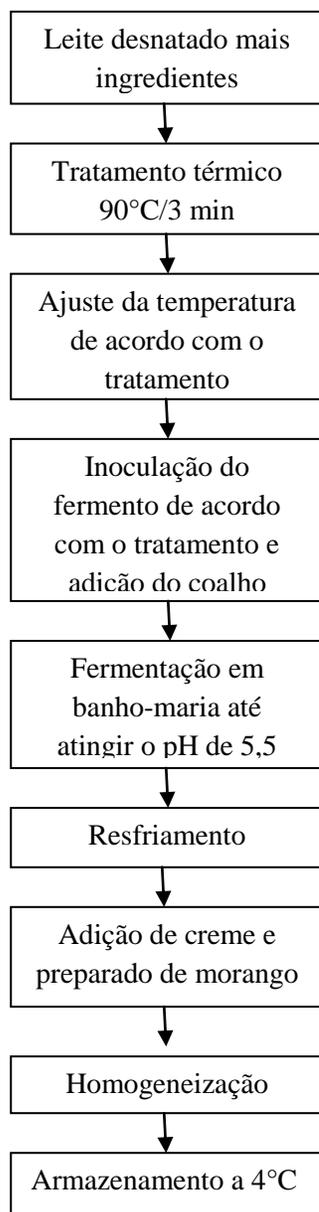


Figura 3 Fluxograma de fabricação dos queijos *petit suisse* com retenção de soro

Tabela 2 Quantidade de ingredientes adicionados na fabricação do queijo *petit suisse* com retenção de soro

Ingrediente	Quantidade
Leite	1 litro
Sacarose	157,09gramas
Amido modificado	15,23 gramas
Espessante	11,62 gramas
Concentrado proteico de soro	80,86 gramas
Concentrado proteico de leite	53,91 gramas
Preparado de morango	102,11 gramas
Creme	119,07 gramas

### 3.5 Análises físico-químicas do leite

Para a seleção do leite foram realizadas as seguintes análises:

**Acidez titulável** – foi determinada por titulometria com solução de NaOH 0,1N, utilizando como indicador a fenolftaleína, sendo o resultado expresso em porcentagem de compostos com caráter ácido, como o ácido láctico (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC, 2005).

**pH** – foi determinado utilizando-se o medidor de pH Tecnal® (modelo Tec - 3 MP).

**Densidade a 15 °C** – determinada pela medida direta, por meio do termolactodensímetro, segundo AOAC (2005).

**Gordura** - determinada de acordo com metodologia descrita por AOAC (2005).

**Extrato seco total (Sólidos Totais)** - o percentual de extrato seco total foi determinado de acordo com metodologia descrita por AOAC (2005).

**Proteína bruta** - o teor de proteína bruta foi determinado em percentual de volume, através de modo indireto e multiplicando o percentual de nitrogênio total (NT) encontrado pelo fator 6,38 (AOAC, 2005).

### 3.6 Análises físico-químicas do creme

**Acidez titulável** - foi determinada por titulometria com solução de NaOH 0,1N, utilizando como indicador a fenolftaleína, sendo o resultado expresso em porcentagem de compostos com caráter ácido, como o ácido láctico (AOAC, 2005).

**Gordura** - determinada de acordo com metodologia descrita por AOAC (2005).

#### 3.6.1 Parâmetros tecnológicos

Foi adotado o pH de 5,5 como indicador do ponto final dos queijos *petit suisse*.

**Tempo de fermentação** - tempo necessário para os queijos *petit suisse* atingirem o pH de 5,5.

**pH** - foi determinado utilizando-se o medidor de pH Tecnal® (modelo Tec - 3 MP).

### 3.7 Caracterização física e físico-química dos queijos *petit suisse* durante o armazenamento

A composição dos queijos *petit suisse* foi avaliada no 1º dia após a fabricação. As análises de extrato seco total (sólidos totais), umidade, proteína total, gordura e acidez titulável foram realizadas de acordo com as metodologias descritas pela AOAC (2005). O teor de carboidratos foi determinado através da fórmula:

$\% \text{ CHO} = (\% \text{ Extrato seco total}) - (\% \text{ Gordura} + \% \text{ Proteína total} + \% \text{ Cinzas})$ .

As avaliações da atividade de água, pH, acidez, sinérese e perfil de textura dos queijos foram realizadas durante 29 dias de armazenamento a 4°C, sendo as avaliações realizadas nos seguintes tempos: 1º dia, 8º dia, 15º dia, 22º dia e 29º dia pós-fabricação. As análises foram feitas em triplicata e os resultados fornecidos por meio das médias das triplicatas.

### 3.7.1 Atividade de água

Para determinação da atividade de água utilizou-se o equipamento Aqualab® (Decagon modelo 3 TE). As amostras, de aproximadamente 5,0 gramas foram dispostas em recipientes plásticos e as leituras foram realizadas em temperatura controlada de  $25^{\circ}\text{C} \pm 0,3^{\circ}\text{C}$ .

### 3.7.2 Determinação do pH

A determinação do pH foi realizada através de medidor de pH Tecnal® (modelo Tec – 3 MP).

### 3.7.3 Análise de acidez titulável

Foi realizada segundo método descrito pela AOAC (2005).

### 3.7.4 Sinérese

Foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Riener et al. (2010). Amostras de 30 gramas do *petit suisse* foram uniformemente esparramadas em papel filtro (Whatman 1, Sigma) em cima de um funil conectado com um cilindro graduado de 50 mL. Após 5 horas de drenagem a  $4^{\circ}\text{C}$  o volume de líquido coletado foi registrado e a sinérese calculada pela equação:

Sinérese = [(peso do soro após filtração/peso da amostra de *petit suisse*) x 100].

### **3.7.5 Perfil de textura**

O perfil de textura dos diferentes tratamentos foi realizado em texturômetro Stable Micro Systems® Modelo TA-XT2i. As análises foram realizadas nas seguintes condições: altura da amostra de 3,0 cm, força de gatilho de 5,0 gramas, velocidade de pré-teste, teste e pós-teste de 1,0 mm/s com distância de compressão de 30% da amostra, por uma sonda cilíndrica de aço inox de 2,0 cm de diâmetro modelo P/20. Os parâmetros analisados foram: firmeza, adesividade, elasticidade, coesividade e gomosidade.

### **3.8 Delineamento estatístico**

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 9x5, sendo 9 tratamentos e 5 tempos de armazenamento, com três repetições.

#### **3.8.1 Análises estatísticas**

Os resultados foram submetidos à análise de variância sendo as médias, quando significativas, comparadas pelo teste Scott Knott ou submetidas à regressão polinomial (para as análises realizadas nos cinco tempos), a 5% de significância, utilizando o pacote computacional SISVAR (FERREIRA, 2011).

### **3.9 Rendimento dos queijos *petit suisse***

O rendimento de cada queijo foi estimado com base na quantidade dos ingredientes adicionados ao leite para obter o queijo *petit suisse* com retenção total de soro.

### **3.10 Levantamento dos atributos dos queijos *petit suisse* através da metodologia *check-all-that-apply* (CATA)**

Dez participantes não treinados, consumidores de queijo *petit suisse*, alunos de graduação e pós-graduação, com idade entre 19 e 29 anos foram recrutados aleatoriamente na Universidade Federal de Lavras (UFLA). As amostras de aproximadamente 20 gramas de *petit suisse* foram servidas em copos plásticos brancos de 50 mL e apresentadas em uma única sessão em grupo de foco, na qual os julgadores degustaram as amostras e levantaram os termos mais apropriados para descrever a aparência, aroma, sabor e textura dos queijos *petit suisse*. Após a realização dessa sessão, os termos mais citados para cada atributo foram escolhidos para compor o questionário CATA, juntamente à ficha de aceitação das crianças. Por se tratar de um teste com crianças, foi necessário o cuidado em escolher um número não muito elevado de termos, e que os mesmos fossem de fácil compreensão para elas.

### **3.11 Avaliação sensorial**

A avaliação sensorial foi realizada após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (COEP) sob o protocolo CAAE 30771414.1.0000.5148, conforme a resolução número 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 1996b).

Para realização do teste de aceitação, 74 crianças com idade entre 7 e 8 anos, sendo 46 meninas e 28 meninos estudantes de duas escolas situadas na cidade de Lavras, foram instruídos a responder a ficha de aceitação das amostras e marcar os atributos do questionário CATA que considerassem apropriados para cada amostra. É importante ressaltar que antes da realização da avaliação sensorial, as crianças receberam um pedido de autorização destinado aos pais, conforme o anexo A, e apenas com a liberação dos pais foi realizado o teste.

Após a fabricação, 20 gramas de amostra dos queijos foram servidos às crianças em uma única sessão, em copos descartáveis brancos de 50 mL, codificados com algarismos de três dígitos, de forma monádica, em ordem balanceada de apresentação e temperatura de aproximadamente 4 °C.

Para a avaliação das amostras quanto à aceitação, utilizou-se a escala hedônica facial de cinco pontos, e nesta mesma ficha foram colocados os atributos levantados no CATA, conforme demonstrado na Figura 4.

<b>Nome:</b> _____		<b>Data:</b> _____		
<b>A mostra no.</b> _____				
				
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Por favor, prove a amostra e assinale com um "X" o quadradinho abaixo da expressão que corresponde ao que você achou.

(..) Presença de gruminhos (bolinhas)

( ) Cor rosa claro

(..) Cor rosa escuro

( ) Cheiro fraco de morango

(..) Cheiro forte de morango

( ) Pouco doce

(..) Muito doce

( ) Muito sabor de morango

(..) Pouco sabor de morango

Figura 4 Modelo de ficha utilizada na análise sensorial

### **3.11.1 Análise de variância**

Foi realizada análise de variância e teste de média Scott Knott a 5% de significância no pacote computacional SISVAR (FERREIRA, 2011) para verificar a diferença entre as amostras quanto à aceitação. Para a realização da análise estatística, foram atribuídos escores às figuras das carinhas, sendo a nota 1 correspondente ao termo desgostei muito, 2 desgostei ligeiramente, 3 não gostei nem desgostei, 4 gostei ligeiramente e 5 gostei muito.

### **3.11.2 Avaliação das frequências dos termos do CATA e análise de agrupamento hierárquico**

A diferença entre o somatório das frequências obtidas por meio da metodologia CATA para cada termo descritor foi avaliada pela tabela de Newell e MacFarlane (1987) que define o valor das diferenças entre os totais ao nível de 5% de significância. A análise de agrupamento hierárquico foi realizada a partir das frequências do CATA, no programa Chemoface (NUNES et al., 2012).

### **3.12 Avaliação da microestrutura dos queijos *petit suisse* com retenção de soro a partir da microscopia eletrônica de varredura**

Amostras dos diferentes tratamentos de queijo *petit suisse* foram imersas em solução fixadora de Karnovsky modificada (2,5% de glutaraldeído, 2% de paraformaldeído, 0,2 M de tampão cacodilato) com pH de 7,2 por um período de 24 horas, após esse processo as amostras foram coladas em poly-L-lysine por 30 minutos. Logo depois, foram lavadas em tampão cacodilato 0,05M (3 vezes de 10 minutos) para retirar os resíduos de glutaraldeído que podem reduzir o tetróxido de ósmio. Após a lavagem, as amostras foram fixadas com tetróxido de ósmio 1% e em água, por 4 horas.

Após este período, as amostras foram lavadas, por três vezes, em água destilada e, em seguida, desidratadas em gradiente de acetona (25%, 50%, 75%, 90% e 100%, por três vezes). Em seguida as amostras foram levadas ao aparelho de ponto crítico para completar a secagem. Após a secagem, as amostras foram montadas em *stubs* e levadas para o banho de ouro. Após tal procedimento, os *stubs*, com as amostras preparadas foram levados ao microscópio eletrônico de varredura LEO EVO40, para a obtenção das eletromicrografias.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Análises físico-químicas do leite e do creme de leite utilizados na fabricação dos queijos

Os valores médios de acidez, pH, densidade, gordura, sólidos totais e proteína do leite, utilizados para o processamento dos queijos *petit suisse*, estão representados na Tabela 3.

Tabela 3 Valores médios de acidez, pH, densidade, gordura, sólidos totais e proteína do leite empregado na fabricação dos queijos

Parâmetros físico-químicos	Valores
Acidez titulável (g ácido láctico/100mL)	0,15 g/100mL
pH	6,33
Densidade a 15°C (g/mL)	1,031 g/mL
Gordura (g/100g)	0,5 g/100g
Sólidos totais (g/100g)	8,72 g/100g
Proteína total (g/100g)	3,92 g/100g

De acordo com os resultados obtidos, observa-se que o leite desnatado utilizado na fabricação dos queijos *petit suisse* atende aos padrões exigidos pela Instrução Normativa 62 (BRASIL, 2011a), caracterizando-o como matéria-prima de boa qualidade físico-química, que atende aos padrões legais exigidos para a fabricação de produtos lácteos.

Os valores médios de acidez e matéria gorda do creme de leite utilizado para o processamento dos queijos *petit suisse* estão representados na Tabela 4.

Tabela 4 Valores médios de acidez e matéria gorda do creme de leite utilizado na fabricação dos queijos

Parâmetros físico-químicos	Valores
Acidez titulável (g de ácido láctico/100g)	0,17 g/100g
Gordura (g/100g)	66 g/100g

Observa-se que o creme de leite utilizado na fabricação dos queijos *petit suisse* se enquadra como creme de alto teor de gordura e atende aos padrões exigidos pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Creme de Leite da Portaria n° 146 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1996a) que exige valores de no máximo 0,20 g/100g para acidez e no mínimo 50 g/100g de matéria gorda, caracterizando-o como matéria-prima de boa qualidade físico-química, que atende aos padrões legais.

#### **4.2 Tempo de fermentação dos queijos produzidos a partir das diferentes culturas lácticas em diferentes temperaturas**

O tempo de fermentação foi monitorado com a finalidade de avaliar e comparar o comportamento das diferentes culturas nas diferentes temperaturas. Na Figura 5 estão representadas as curvas de fermentação dos queijos *petit suisse*.

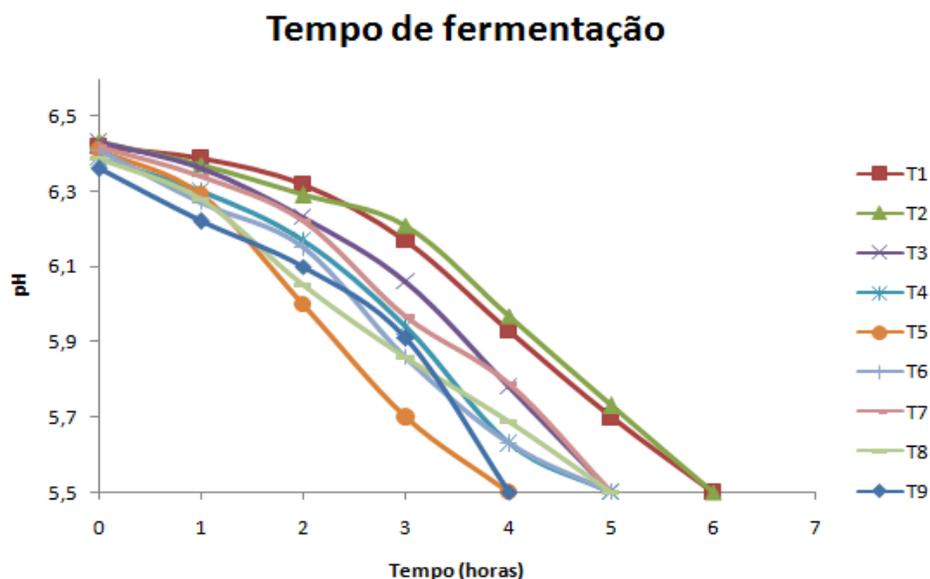


Figura 5 Curvas de fermentação dos queijos *petit suisse*. (T1) queijo *petit suisse* controle produzido a partir da cultura composta de *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* e temperatura de fermentação de 32°C; (T2), (T3), (T4) e (T5) queijos *petit suisse* produzidos a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus* nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente; (T6), (T7), (T8) e (T9) queijos *petit suisse* produzidos a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente

Observa-se nas curvas de pH os tempos médios de fermentação dos diferentes tratamentos. O T1 (controle) apresentou um tempo de fermentação superior aos dos demais tratamentos, que pode ser justificado pelo fato de *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, bactérias presentes no T1 (controle) apresentarem menor poder acidificante quando

comparadas as culturas presentes nos demais tratamentos. Junto ao T1 (controle) encontra-se o T2, no qual foi utilizada a cultura composta de bactérias termofílicas, que apesar de apresentarem maior poder acidificante, apresentam temperatura ótima de crescimento entre 37 °C e 42 °C, e por isso podem ter tido a sua atividade reduzida a 32 °C.

Os tratamentos T3, T4, T6, T7 e T8 apresentaram o mesmo tempo de fermentação, que correspondeu a cinco horas, indicando que a cultura mista composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactotoccus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* e a cultura termofílica composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus* apresentaram comportamento semelhante nas temperaturas de 37 °C e 40 °C. Os tratamentos T5 e T9 apresentaram tempo inferior de fermentação, que correspondeu a quatro horas, devido à temperatura de 43 °C, que acelerou o processo de fermentação.

### **4.3 Composição dos queijos *petit suisse* com retenção de soro**

Em relação ao teor de sólidos totais, não houve diferença significativa entre os diferentes queijos, não sendo observada influência das diferentes culturas utilizadas neste estudo sobre este parâmetro, sendo a média geral encontrada para o teor de sólidos totais igual a 34,00 g/100g.

Para Morgado e Brandão (1998), são adotados industrialmente como padrões de qualidade, valores de umidade entre 65,75% a 69,75% para queijo *petit suisse*. De acordo com a legislação brasileira, o queijo *petit suisse* se enquadra na classificação de queijos de muita alta umidade, acima de 55% (BRASIL, 2000), sendo assim a média geral de umidade dos queijos encontrada neste estudo, de 65,99 g/100g é aceitável, e o uso de

diferentes culturas não influenciou no teor de umidade dos queijos *petit suisse* com retenção de soro.

A média geral encontrada para o teor de proteína total dos queijos correspondeu a 8,31 g/100g, não sendo observada diferença significativa para esse parâmetro entre os diferentes queijos, que atendem à legislação, que exige que o *petit suisse* tenha no mínimo 6% de proteína láctea (BRASIL, 2000). A adição do concentrado proteico de soro e do concentrado proteico de leite contribuiu para que o teor de proteína dos queijos *petit suisse* se enquadrasse dentro das normas da legislação, já que a retenção total do soro poderia resultar na diminuição do teor proteico dos queijos.

Não houve diferença significativa em relação ao teor de carboidratos dos queijos, sendo que a média geral encontrada correspondeu a 19,60 g/100g. Matias et al. (2014) encontraram teor de carboidratos de 15,48% em queijo *petit suisse* dessorado. A retenção total do soro, que é rico em lactose, contribui para obtenção de um queijo *petit suisse* com maior teor em carboidratos, devido ao fato da lactose ser um carboidrato hidrossolúvel e em queijos dessorados, ser perdida no soro. Ferreira et al. (2013) verificaram que quanto maior o teor de soro em bebida láctea fermentada, maior o teor de lactose.

Os tratamentos não diferiram em relação ao teor de gordura devido à quantidade de creme adicionado ter sido a mesma para todos os tratamentos, demonstrando a padronização nas etapas de processamento do queijo *petit suisse*. A média geral encontrada para o teor de gordura correspondeu a 5,02 g/100g. Veiga et al. (2000) analisaram a composição de diferentes marcas de queijo *petit suisse* comercializados no Brasil, e encontraram valores para o teor de gordura na faixa de 4,47% a 6,22%.

#### **4.4 Análises realizadas nos queijos *petit suisse* durante o armazenamento**

Foram realizadas as análises de atividade de água, pH, acidez titulável, sinérese e textura instrumental dos queijos *petit suisse* durante o armazenamento.

##### **4.4.1 Atividade de água**

Os valores de atividade de água não foram influenciados pelo tempo de armazenamento, nem pelos tratamentos. Definidas como a razão da pressão de vapor da água no alimento e a pressão de vapor da água pura, ambos, a mesma temperatura (FELLOWS, 2006), a atividade de água é um dos fatores intrínsecos dos alimentos e é uma medida qualitativa que possibilita avaliar a disponibilidade de água livre que é suscetível a diversas reações, tornando-se o principal responsável pela deterioração dos alimentos e através de seus valores é possível prever a ocorrência de reações de oxidação lipídica, escurecimento não enzimático, atividade enzimática e desenvolvimento de microrganismos (GARCIA, 2004). O valor médio de atividade de água observado para os queijos analisados foi de 0,967, atendendo às necessidades mínimas de atividade de água para o desenvolvimento de bactérias lácticas, que corresponde a valores de 0,93 a 0,96 (SILVA et al., 2006). Observa-se também, pelos valores de atividade de água, que todos os queijos se apresentaram como alimentos altamente perecíveis ( $a_w$  entre 0,95 e 1,0) que permitem o crescimento de bactérias patogênicas e microrganismos deteriorantes, como citado por Beuchat (1981), sendo que o baixo pH e a baixa temperatura de armazenamento contribuem para a conservação do queijo *petit suisse*.

#### 4.4.2 pH e acidez titulável

Observa-se na Figura 6 que os valores de pH sofreram influência significativa da interação tempo e tratamento e decresceram linearmente durante o período de armazenamento dos queijos para todos os tratamentos, sendo que o queijo T5 apresentou uma queda mais acentuada de pH. A diminuição do pH é coerente com a queda reportada em queijos *petit suisse* probióticos por Matias et al. (2014). Não foi observada diferença significativa dos valores de pH no 1º dia, no 15º e no 29º dia pós-fabricação. Aos oito dias de armazenamento, o T1 (controle) apresentou pH significativamente maior aos demais queijos, e no 22º dia pós-fabricação os queijos T1 (controle), T7 e T9 apresentaram valores de pH significativamente mais elevados aos demais tratamentos. O pH é um indicador importante na determinação das características de qualidade de alimentos fermentados relacionadas ao sabor e à formação da estrutura física da coalhada (ASSUMPÇÃO, 2008).

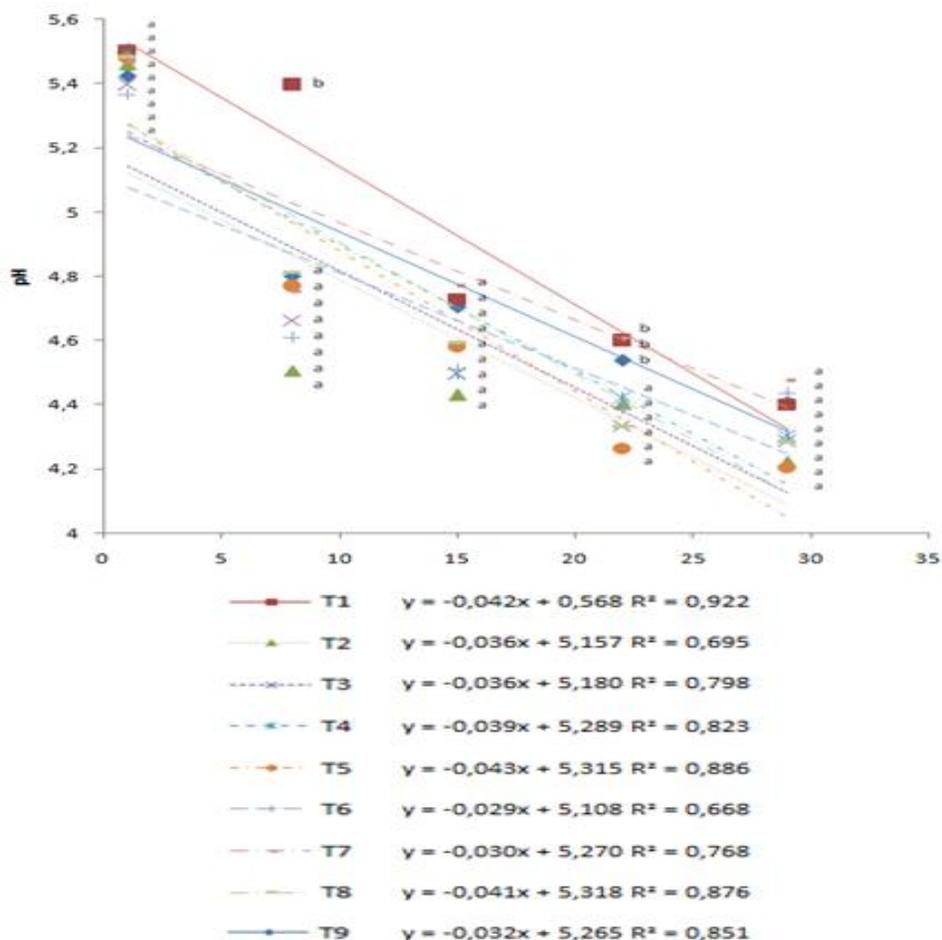


Figura 6 Valores de pH dos queijos *petit suisse* com retenção de soro produzidos a partir de diferentes culturas lácticas armazenados por 29 dias. Les iguais no mesmo tempo de armazenamento: médias não diferem entre si pelo teste Scott Knott a 5% de significância. (T1) queijo *petit suisse* controle produzido a partir da cultura composta de *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* e temperatura de fermentação de 32°C; (T2), (T3), (T4) e (T5) queijos *petit suisse* produzidos a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus* nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente; (T6), (T7), (T8) e (T9) queijos *petit suisse* produzidos a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente

Veiga et al. (2000) encontraram valores de pH entre 4,42 a 4,52 para queijos *petit suisse* comercial, relativamente próximos aos encontrados neste estudo aos vinte e nove dias de armazenamento. A Figura 7 representa os valores da acidez titulável dos queijos durante o armazenamento.

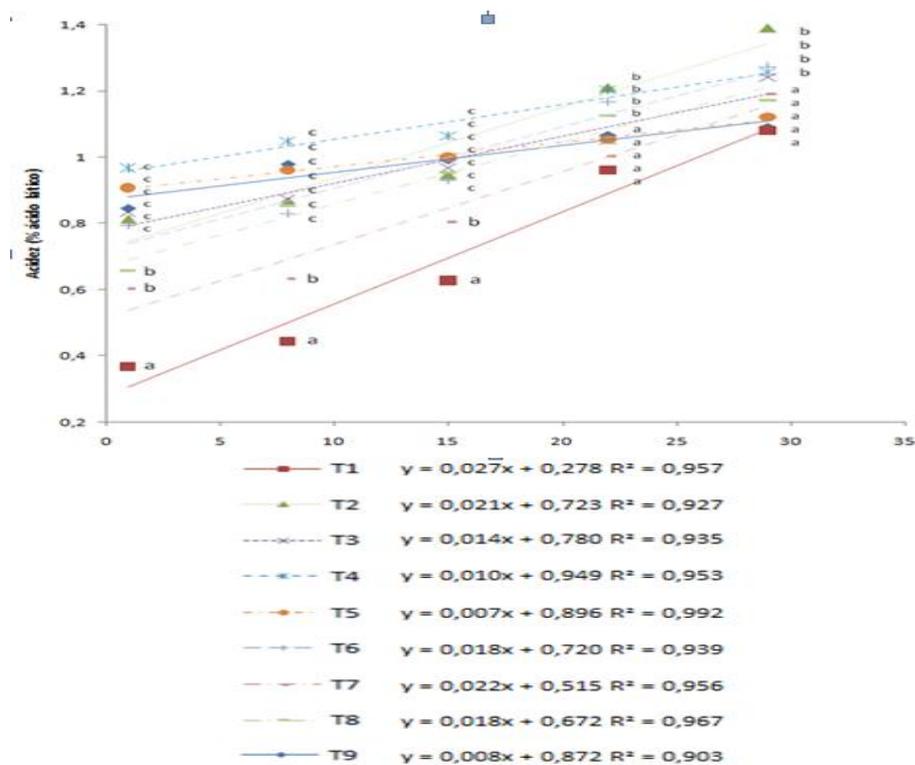


Figura 7 Acidez titulável dos queijos *petit suisse* com retenção de soro produzidos a partir de diferentes culturas lácticas armazenados por 29 dias. Letras iguais no mesmo tempo de armazenamento: médias não diferem entre si pelo teste Scott Knott a 5% de significância. (T1) queijo *petit suisse* controle produzido a partir da cultura composta de *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* e temperatura de fermentação de 32°C; (T2), (T3), (T4) e (T5) queijos *petit suisse* produzidos a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus* nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente; (T6), (T7), (T8) e (T9) queijos *petit suisse* produzidos a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente

Embora não exista uma relação direta entre pH e acidez titulável, em geral tem-se a relação de que para redução nos valores de pH tem-se aumento dos valores de acidez titulável, e como foi observado neste trabalho, a queda do pH foi acompanhada do aumento da acidez, que aumentou linearmente para todos os queijos durante os vinte e nove dias de armazenamento como pode ser observado, um processo esperado, pois como afirmado por Vieira (2013) ocorre a contínua produção de ácido láctico pelas culturas lácticas presentes, uma vez que estas continuam ativas em temperaturas de refrigeração, embora o seu metabolismo esteja reduzido.

Os valores de acidez do queijo T1 (controle) foram inferiores quando comparados aos dos demais tratamentos. Isso se deve ao fato de que o *Lactococcus lactis subsp. lactis* e o *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, bactérias presentes na cultura láctica do queijo controle apresentam menor poder acidificante que as bactérias presentes nas culturas lácticas dos demais tratamentos. Enquanto o *Lactococcus lactis subsp. lactis* e o *Lactococcus lactis subsp. cremoris* produzem cada um até 0,7% de ácido láctico, o *Streptococcus thermophilus*, o *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* e o *Lactobacillus helveticus*, produzem respectivamente 0,8% a 1,0%; 1,7% e 2,7% de ácido láctico (SOLDATI, 2006).

#### 4.4.3 Sinérese

Para a sinérese houve efeito significativo entre a interação tempo e tratamento. A sinérese, como pode ser observada na Figura 8 decresceu linearmente nos queijos T1 (controle) e T7 durante o armazenamento, já para os queijos T2, T3 e T8 esse decréscimo apresentou comportamento polinomial de quarta ordem para T2 e T3 e quadrático para T8. Já para os queijos T4, T5, T6 e T9 houve aumento dos valores de sinérese ao longo do armazenamento, apresentando comportamento polinomial de terceira ordem os tratamentos T4, T6 e T9 e quadrático o T5.

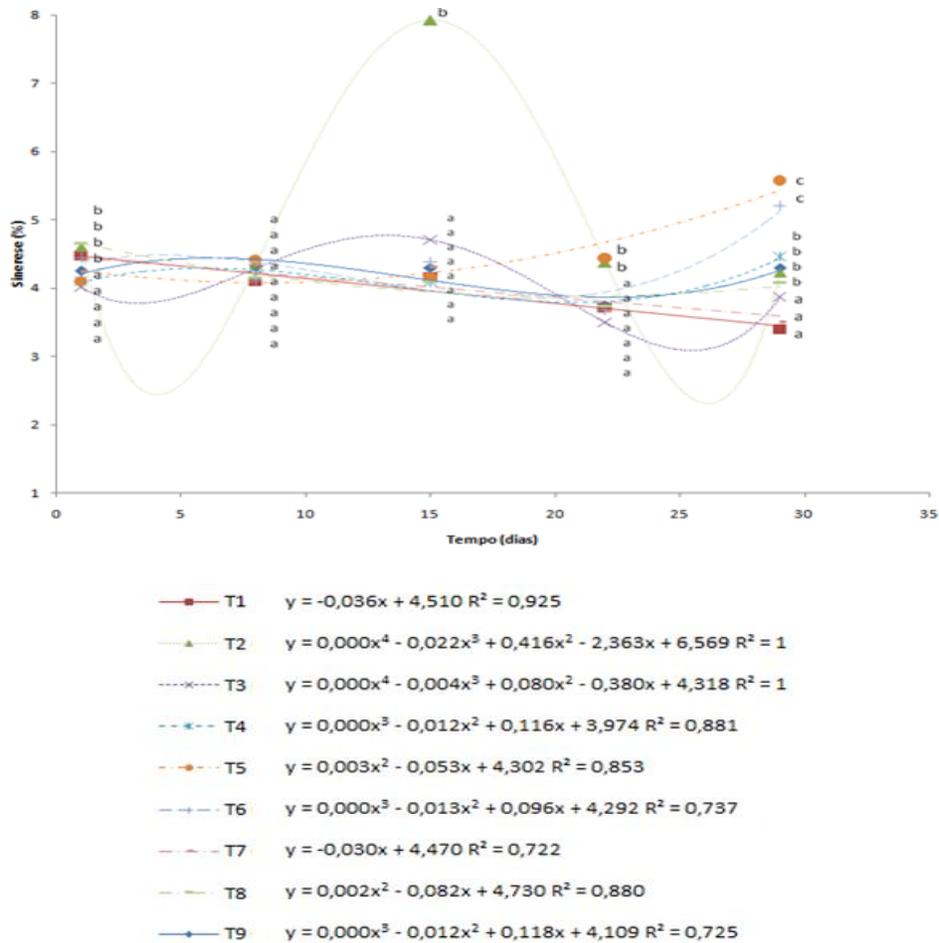


Figura 8 Sinérese dos queijos *petit suisse* com retenção de soro produzidos a partir de diferentes culturas lácticas armazenados por 29 dias. Letras iguais no mesmo tempo de armazenamento: médias não diferem entre si pelo teste Scott Knott a 5% de significância. (T1) queijo *petit suisse* controle produzido a partir da cultura composta de *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* e temperatura de fermentação de 32°C; (T2), (T3), (T4) e (T5) queijos *petit suisse* produzidos a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus* nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente; (T6), (T7), (T8) e (T9) queijos *petit suisse* produzidos a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente

Farkye (2007) afirma que a queda de pH durante a acidificação e armazenamento pode ocasionar uma maior sinérese no queijo quark devido ao rearranjo das cadeias de caseína, e que fatores como o aumento do teor de sólidos totais do leite, homogeneização, resfriamento imediato do produto final e adição de hidrocoloides podem ajudar a prevenir a sinérese no queijo *petit suisse*.

A adição do amido modificado e do espessante nos queijos do presente estudo, podem ter colaborado para reduzir o processo de perda de soro dos queijos, já que os valores de sinérese não foram muito elevados para os diferentes tratamentos.

O queijo T5 apresentou aumento mais acentuado da sinérese ao longo do armazenamento, que pode estar relacionado à temperatura mais elevada, de 43°C, utilizada na fermentação, associada à elevada acidez desse queijo e também à queda mais acentuada de seu pH durante o armazenamento, segundo Farkye (2007) temperaturas mais elevadas durante a fermentação podem causar maior sinérese. É possível observar que o T1 (controle) apresentou em média valores de sinérese inferiores aos demais queijos, como já citado o pH pode influenciar na sinérese dos queijos, e pelo fato do queijo T1 ter apresentado valores de pH superiores aos outros queijos, isso pode ter contribuído para a menor sinérese apresentada. De maneira análoga, o queijo T2 apresentou a maior média de sinérese, bem como o menor valor médio de pH entre os queijos, e o aumento acentuado da sinérese desse queijo do 1º dia para o 15º dia de armazenamento está relacionado a maior queda de pH deste queijo neste período. Os queijos produzidos com a cultura termofílica composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus* e os queijos produzidos com a cultura mista composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* e

*Lactococcus lactis subsp. cremoris* apresentaram maior sinérese, pelo maior poder acidificante das bactérias presentes nessas culturas. Fox et al. (2000) afirmam que os valores de sinérese estão inversamente relacionados aos valores de pH, pois menores valores de pH indicam uma maior contração do gel e conseqüentemente uma maior expulsão do soro.

#### **4.4.4 Parâmetros de textura instrumental dos queijos *petit suisse***

Os parâmetros de textura instrumental avaliados nos queijos *petit suisse* foram: firmeza, adesividade, elasticidade, coesividade e gomosidade.

##### **4.4.4.1 Firmeza dos queijos *petit suisse***

Segundo Cardarelli (2006), pelo fato do *petit suisse* ser um produto semissólido, de consistência pastosa, o termo firmeza parece mais apropriado para designar a força necessária para a realização de determinada deformação, ao invés de dureza. Na Figura 9 estão representados os tratamentos com suas respectivas firmezas durante o período de armazenamento.

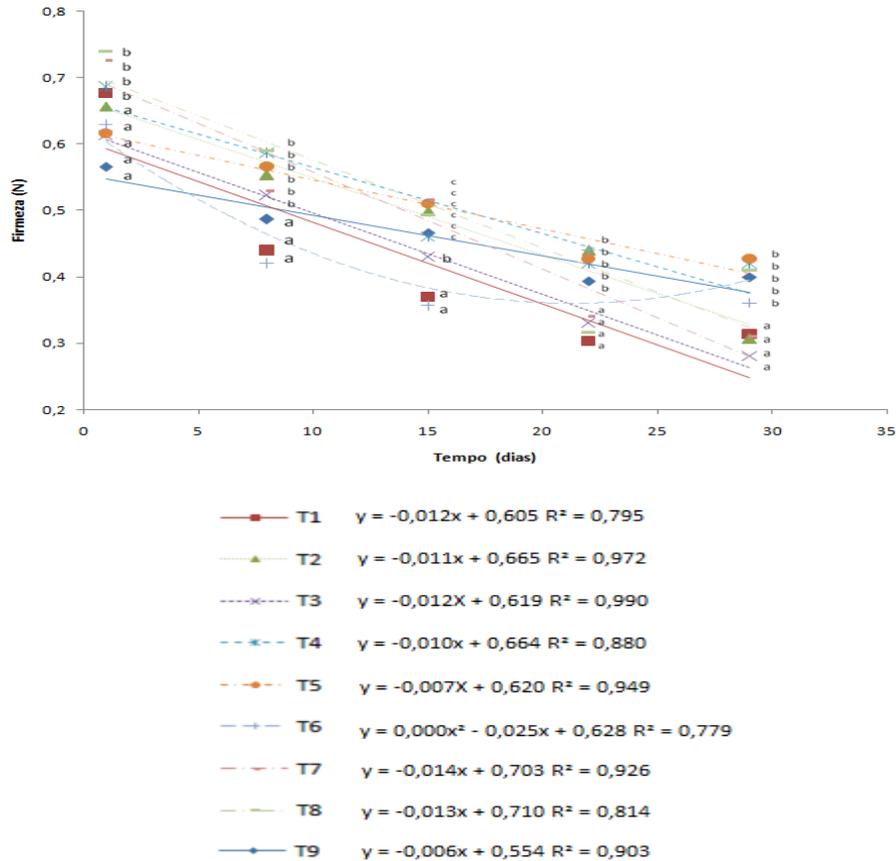


Figura 9 Firmeza dos queijos *petit suisse* com retenção de soro produzidos a partir de diferentes culturas lácticas armazenados por 29 dias. Letras iguais no mesmo tempo de armazenamento: médias não diferem entre si pelo teste Scott Knott a 5% de significância. (T1) queijo *petit suisse* controle produzido a partir da cultura composta de *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* e temperatura de fermentação de 32°C; (T2), (T3), (T4) e (T5) queijos *petit suisse* produzidos a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus* nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente; (T6), (T7), (T8) e (T9) queijos *petit suisse* produzidos a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente

Como é possível observar, a firmeza decresceu linearmente ao longo do armazenamento, apenas o T6 apresentou queda da firmeza em comportamento quadrático. Fogaça (2014) relata que grande parte das mudanças ocorridas na estrutura, que afetam a textura final dos queijos, acontece durante o armazenamento e que ocorre, geralmente, redução da firmeza com o tempo.

Observa-se que o T1 (controle) apresentou em média uma firmeza menor quando comparado aos demais queijos, e o T4 apresentou em média, uma maior firmeza. Junto a isso se tem que o T1 e o T4 apresentaram, respectivamente, uma menor acidez e uma maior acidez. A cultura utilizada no controle, constituída de *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* proporcionou um queijo de menor firmeza, enquanto a cultura termofílica constituída de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus* e a cultura mista constituída de *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* proporcionaram queijos mais firmes. Uma maior acidificação resulta em maiores concentrações de íons  $H^+$ , e assim as forças repulsivas existentes entre as micelas de caseína diminuem, o que provoca uma maior agregação e torna o queijo mais firme (FOX et al., 2000).

#### **4.4.4.2 Adesividade dos queijos *petit suisse***

Observa-se na Figura 10 o comportamento da adesividade para os queijos, sendo que o T1 (controle) apresentou aumento linear para a adesividade ao longo do armazenamento, apresentando comportamento semelhante aos queijos T6 e T8. Para os queijos T3, T4, T5, T7 e T9 ocorreram um aumento da adesividade do 1º dia ao 15º dia de

armazenamento, acompanhada da queda do 15º dia ao 29º dia de armazenamento, sendo que a adesividade no 29º dia foi maior que no 1º dia de armazenamento. Os queijos T3, T4, T7 e T9 apresentaram comportamento quadrático enquanto o T5 apresentou comportamento polinomial de quarta ordem. Em relação ao queijo T2, que apresentou comportamento polinomial de quarta ordem, observou-se comportamento contrário aos demais tratamentos, sendo que a adesividade deste queijo caiu do 1º dia ao 15º dia de armazenamento, aumentou do 15º dia ao 22º dia de armazenamento e caiu do 22º dia ao 29º dia de armazenamento, sendo a adesividade neste tempo, de vinte e nove dias, inferior a adesividade do 1º dia de armazenamento.

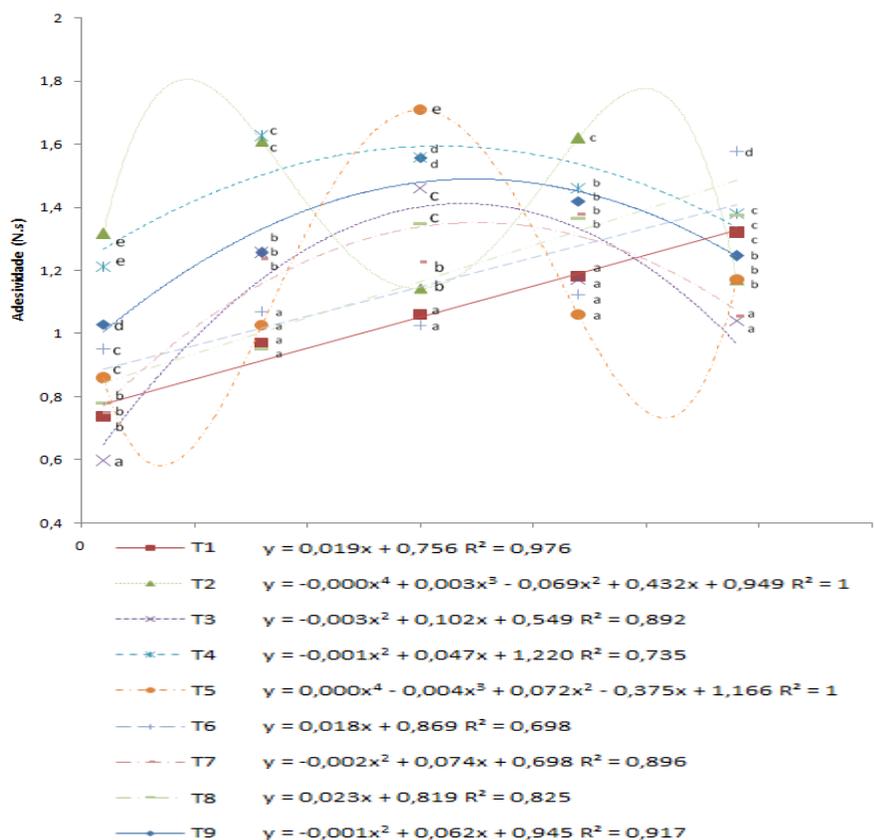


Figura 10 Adesividade dos queijos *petit suisse* com retenção de soro produzidos a partir de diferentes culturas lácticas armazenados por 29 dias. Letras iguais no mesmo tempo de armazenamento: médias não diferem entre si pelo teste Scott Knott a 5% de significância. (T1) queijo *petit suisse* controle produzido a partir da cultura composta de *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* e temperatura de fermentação de 32°C; (T2), (T3), (T4) e (T5) queijos *petit suisse* produzidos a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus* nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente; (T6), (T7), (T8) e (T9) queijos *petit suisse* produzidos a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente

Silva (2013) afirma que a adesividade apresenta alta variabilidade, não sendo possível mensurá-la com precisão. Cardarelli (2006) e Maruyama et al. (2006) também observaram aumento da adesividade durante o armazenamento de queijos *petit suisse*, sendo que a última autora relacionou o aumento desse parâmetro com a queda do pH. Para Stading e Hermansson (1991) a rede formada influencia as características reológicas e estruturais, sendo dependentes também do pH. Os queijos, com exceção do queijo T2 apresentaram aumento mais acentuado da adesividade do 1º para o 15º dia de armazenamento, período no qual foi observada queda mais acentuada do pH dos queijos.

O queijo T1 (controle) apresentou a menor média de adesividade enquanto o queijo T4 apresentou a maior média de adesividade. Como foi observada para a firmeza, a cultura utilizada no controle, composta por *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* proporcionou ao queijo uma menor adesividade, enquanto a cultura termofílica composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus* e a cultura mista composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* proporcionaram queijos *petit suisse* com maior adesividade. Maruyama et al. (2006) também constataram que queijos com maior firmeza apresentaram maior adesividade.

#### **4.4.4.3 Elasticidade dos queijos *petit suisse***

Verificou-se, neste estudo, que os valores para elasticidade dos queijos *petit suisse* foram influenciados isoladamente apenas pelos tratamentos. Na Tabela 5 são representados os valores médios de elasticidade dos queijos.

Tabela 5 Valores médios para elasticidade dos queijos *petit suisse* com retenção de soro produzidos a partir de diferentes culturas lácticas

Tratamento	Elasticidade
T1	0,90 b
T2	0,89 a
T3	0,91 b
T4	0,89 a
T5	0,88 a
T6	0,89 a
T7	0,90 b
T8	0,89 a
T9	0,87 a

Médias com letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo Teste Scott Knott a 5% de significância. (T1) queijo *petit suisse* controle produzido a partir da cultura composta de *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* e temperatura de fermentação de 32°C; (T2), (T3), (T4) e (T5) queijos *petit suisse* produzidos a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus* nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente; (T6), (T7), (T8) e (T9) queijos *petit suisse* produzidos a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente

Observa-se que os valores médios de elasticidade dos queijos T1 (controle), T3 e T7 foram significativamente maiores aos dos demais tratamentos, o que significa que esses três queijos recuperaram com mais facilidade a sua forma inicial após o processo de compressão. O queijo produzido com a cultura termofílica composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus* e o queijo produzido com a cultura mista composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* apresentaram maior elasticidade na temperatura de 37°C, que pode estar associada à produção de exopolissacarídeos pelo *Streptococcus thermophilus* presente nessas culturas. Os exopolissacarídeos consistem de polímeros microbianos naturalmente produzidos por determinadas bactérias lácticas durante a fermentação (GENTÈS; ST-GELAIS; TURGEON, 2013), Bennama et al. (2012) afirmam que a produção desses polímeros está associada ao crescimento das bactérias e observaram

uma maior produção dos exopolissacarídeos por *Streptococcus thermophilus* na temperatura de 37°C quando comparado à temperatura de 42°C. Hassan et al. (2003) constataram que a presença de exopolissacarídeos produzidos por *Streptococcus thermophilus* proporcionou uma maior elasticidade em iogurte. A maior elasticidade do queijo T1 (controle) também está relacionada à produção de exopolissacarídeos pelo *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, que de acordo com Cerning et al. (1992) são bactérias capazes de sintetizá-los, e tiveram seu crescimento favorecido na temperatura de 32°C, segundo Ruas-Madiedo e Zoon (2003) a temperatura ótima de crescimento das bactérias mesofílicas ocorre entre 30 °C e 35 °C.

#### 4.4.4.4 Coesividade dos queijos *petit suisse*

A coesividade dos queijos foi influenciada isoladamente pelos fatores tempo de armazenamento e tratamentos. A Figura 11 representa o comportamento da coesividade durante o período de estocagem.

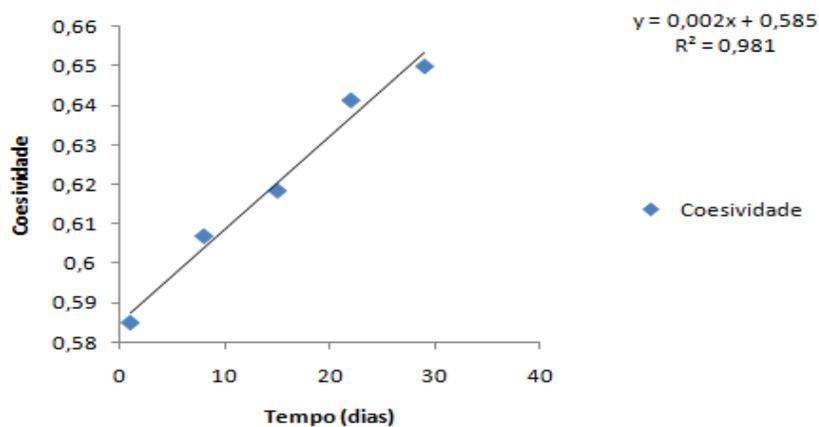


Figura 11 Modelo de regressão para coesividade, em função do tempo de armazenamento em queijos *petit suisse* com retenção de soro produzidos a partir de diferentes culturas lácticas

A coesividade representa a medida que um material pode ser deformado antes de se romper, fornecendo um indicativo da força das ligações internas do material (SZCZESNIAK, 1963).

Observa-se aumento linear para os valores de coesividade durante o armazenamento, que pode estar relacionado à redução da firmeza, assim como foi reportado por Maruyama et al. (2006) que afirmam ser possível que os valores de coesividade estejam inversamente relacionados com os valores de firmeza em queijo *petit suisse*. Burity, Cardarelli e Saad (2008) também observaram relação inversa entre coesividade e firmeza em queijo fresco cremoso simbiótico. A adição do concentrado proteico de soro em todos os tratamentos pode ter contribuído para o aumento da coesividade ao longo do armazenamento. Lima et al. (2011) observaram que a adição de concentrado proteico de soro proporcionou aumento da coesividade de iogurtes durante o armazenamento.

Os valores médios para coesividade dos diferentes tratamentos estão representados na Tabela 6.

Tabela 6 Valores médios de coesividade dos queijos *petit suisse* com retenção de soro produzidos a partir de diferentes culturas lácticas

Tratamento	Coesividade
T1	0,66 b
T2	0,61 a
T3	0,62 a
T4	0,61 a
T5	0,61 a
T6	0,62 a
T7	0,62 a
T8	0,60 a
T9	0,60 a

Médias com letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo Teste Scott Knott a 5% de significância. (T1) queijo *petit suisse* controle produzido a partir da cultura composta de *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* e temperatura de fermentação de 32°C; (T2), (T3), (T4) e (T5) queijos *petit suisse* produzidos a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus* nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente; (T6), (T7), (T8) e (T9) queijos *petit suisse* produzidos a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente

Através dos dados da Tabela 6, observa-se que apenas o queijo T1 (controle) diferiu estatisticamente dos demais tratamentos, apresentando maior coesividade, sendo assim a cultura composta por *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* proporcionou maior coesividade ao queijo, o que pode estar relacionada a menor firmeza desse queijo. Hussein e Shalaby (2014) observaram que queijos kareish com maior coesividade, apresentaram menor firmeza e que a maior coesividade estava relacionada a valores de pH mais elevados, Maruyama et al. (2006) observaram que queijo *petit suisse* com maior coesividade apresentou também maior valor de pH. O pH mais elevado indica uma menor desmineralização da massa, o que contribui para uma maior coesividade.

#### **4.4.4.5 Gomosidade dos queijos *petit suisse***

A gomosidade diminuiu linearmente para os queijos T3, T5, T7 e T8, e para os tratamentos T1, T2, T4, T6 e T9 a queda apresentou comportamento quadrático, como representado na Figura 12.

Em trabalho realizado por Antunes, Cazetto e Bolini (2004) os valores de gomosidade caíram no período de armazenamento para iogurtes fermentados com diferentes combinações de culturas de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium longum*. Matias et al. (2014) também observaram a queda da gomosidade para queijo *petit suisse* ao longo do armazenamento. A gomosidade é um dos parâmetros de textura derivados da firmeza e observa-se neste estudo que a gomosidade acompanhou o comportamento da firmeza, assim como foi observado por Buriti, Cardarelli e Saad (2008), que relataram que efeitos mencionados para a firmeza foram observados para a gomosidade em queijo fresco cremoso simbiótico.

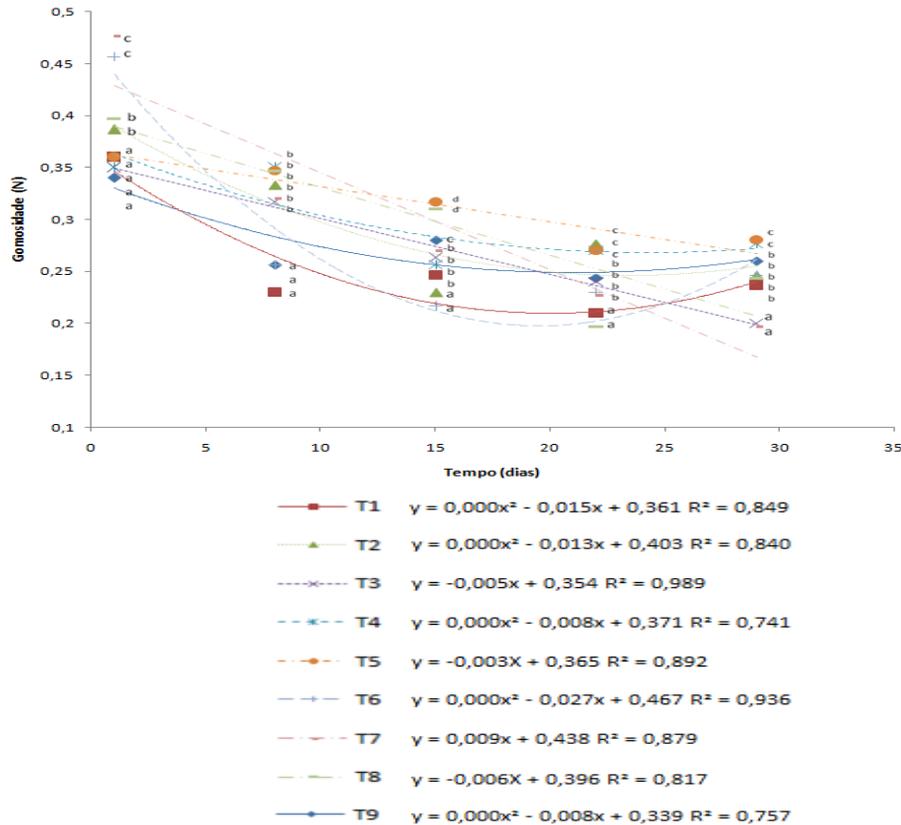


Figura 1 Gomosidade dos queijos *petit suisse* com retenção de soro produzidos a partir de diferentes culturas lácticas armazenados por 29 dias. Letras iguais no mesmo tempo de armazenamento: médias não diferem entre si pelo teste Scott Knott a 5% de significância. (T1) queijo *petit suisse* controle produzido a partir da cultura composta de *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* e temperatura de fermentação de 32°C; (T2), (T3), (T4) e (T5) queijos *petit suisse* produzidos a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus* nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente; (T6), (T7), (T8) e (T9) queijos *petit suisse* produzidos a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* nas temperaturas de 32°C, 37°C, 40°C e 43°C, respectivamente

O queijo T1 (controle) produzido com a cultura mesofílica composta de *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* apresentou média de gomosidade menor aos demais queijos enquanto o queijo T5, produzido com a cultura termofílica composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus* apresentou a maior média para gomosidade. Segundo Fox e McSweeney (1998) a firmeza e os parâmetros derivados desta, como a gomosidade são influenciados pelo pH. Queiroga et al. (2013) afirmam que queijos com pH menor apresentam maior gomosidade, como foi observado no presente estudo, as bactérias presentes na cultura termofílica e na cultura mista, proporcionaram aos queijos um pH menor e uma maior gomosidade.

#### **4.5 Rendimento dos queijos *petit suisse* com retenção total de soro**

Após a obtenção dos queijos *petit suisse*, foi pesada a quantidade de produto obtido para cada tratamento, sendo que, em decorrência da padronização da formulação nos diferentes tratamentos, foram obtidos em média 1570,90 gramas de queijo *petit suisse* com retenção de soro, considerando todos os ingredientes adicionados ao leite. De acordo com Morgado e Brandão (1998) são necessários em média 4,62 litros de leite para obter 1 Kg de *petit suisse* dessorado, sendo assim o queijo *petit suisse* com retenção total de soro apresenta um maior rendimento. Como já comentado, devido à retenção total do soro se faz necessária a adição do espessante, amido modificado e concentrados proteicos, sendo que a retenção do soro e a adição dos ingredientes aumentam o rendimento deste queijo.

#### **4.6 Escolha dos melhores tratamentos para a realização da análise sensorial e avaliação da microestrutura dos queijos *petit suisse***

Para seguir com a análise sensorial e a avaliação da microestrutura dos queijos, foram escolhidos os tratamentos que apresentaram a menor sinérese durante o armazenamento, pois por se tratar de um queijo *petit suisse* com retenção total de soro, é importante que este soro permaneça o máximo possível retido no queijo, evitando sua separação e formação de líquido sobrenadante na superfície do produto, o que pode causar a rejeição do mesmo por parte dos consumidores.

Através dos resultados da análise de sinérese, representados na Figura 8, observa-se que os tratamentos T1, T3 e T7 apresentaram as menores médias em relação à sinérese ao longo do armazenamento, sendo assim optou-se por escolher estes três tratamentos para prosseguir com a análise sensorial e microscopia eletrônica de varredura.

A escolha desses três tratamentos permitiu analisar e comparar as culturas termofílica (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus*) e mista (*Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris*) com a cultura mesofílica (*Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris*) do controle em relação aos efeitos sobre as características sensoriais e microestruturais dos queijos.

#### **4.7 Levantamento dos atributos dos queijos *petit suisse* com retenção de soro pela metodologia *check-all-that-apply* (CATA) e teste de aceitação**

A Tabela 7 demonstra os termos mais citados para os diferentes atributos em relação aos queijos através do CATA.

Tabela 7 Termos mais citados no questionário *check-all-that-apply* (CATA) para cada atributo sensorial

Sabor	Odor	Aparência	Textura
Muito doce	Cheiro forte de morango	Cor rosa escuro	Presença de gruminhos (bolinhas)
Pouco doce	Cheiro fraco de morango	Cor rosa claro	
Muito sabor de morango			
Pouco sabor de morango			

Os termos mais citados foram então adicionados na ficha de aceitação sensorial.

O valor médio de aceitação dos queijos correspondeu a 4,72, não sendo observada diferença significativa em relação à aceitação das amostras, que apresentaram boa aceitação, estando os escores entre 4 e 5, que correspondem respectivamente a gostei ligeiramente e gostei muito, sendo assim, o uso das culturas termofílica, composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus* e mista composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* não compromete na aceitação dos queijos e torna viável o uso das mesmas na produção do *petit suisse*, e por apresentar boa aceitação pode tornar estes queijos uma vantagem competitiva para a indústria.

Na Tabela 8 tem-se a frequência absoluta de cada um dos termos do CATA utilizados pelos provadores para descrever as amostras de *petit suisse*.

Tabela 8 Frequência de citação dos termos CATA utilizados para descrever os queijos *petit suisse*

Atributos	Amostras		
	T1	T3	T7
Presença de gruminhos	27	0	27
Pouco doce	25	21	27
Muito doce	21	19	19
Cor rosa claro	41	37	35
Cor rosa escuro	7	13	10
Cheiro fraco de morango	27	23	15
Cheiro forte de morango	13	12	6
Pouco sabor de morango	19	15	7
Muito sabor de morango	29	33	18

(T1) queijo *petit suisse* controle produzido a partir da cultura composta de *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* e temperatura de fermentação de 32°C; (T3) queijo *petit suisse* produzido a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus* na temperatura de 37°C; (T7) queijo *petit suisse* produzido a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* na temperatura de 37°C

A diferença entre as somas das frequências obtidas por meio da metodologia CATA para cada atributo entre as três amostras estão representadas nas Tabelas 9 a 17.

Tabela 9 Diferença entre o somatório para o atributo presença de gruminhos dos queijos *petit suisse*

Amostras	Total	T1	T3	T7
		27	0	27
T1	27	-	27 ns	0 ns
T3	0	-	-	27 ns

ns: não existe diferença significativa entre as amostras ao nível de 5% de significância

Tabela 10 Diferença entre o somatório para o atributo pouco doce dos queijos *petit suisse*

Amostras	Total	T1	T3	T7
		25	21	27
T1	25	-	4 ns	2 ns
T3	21	-	-	6 ns

ns: não existe diferença significativa entre as amostras ao nível de 5% de significância

Tabela 11 Diferença entre o somatório para o atributo muito doce dos queijos *petit suisse*

Amostras	Total	T1	T3	T7
		21	19	19
T1	21	-	2 ns	2 ns
T3	19	-	-	0 ns

ns: não existe diferença significativa entre as amostras ao nível de 5% de significância

Tabela 1 Diferença entre o somatório para o atributo cor rosa claro dos queijos *petit suisse*

Amostras	Total	T1	T3	T7
		41	37	35
T1	41	-	4 ns	6 ns
T3	37	-	-	2 ns

ns: não existe diferença significativa entre as amostras ao nível de 5% de significância

Tabela 2 Diferença entre o somatório para o atributo cor rosa escuro dos queijos *petit suisse*

Amostras	Total	T1	T3	T7
		7	13	10
T1	7	-	6 ns	3 ns
T3	13	-	-	3 ns

ns: não existe diferença significativa entre as amostras ao nível de 5% de significância

Tabela 3 Diferença entre o somatório para o atributo cheiro fraco de morango dos queijos *petit suisse*

Amostras	Total	T1	T3	T7
		27	23	15
T1	27	-	4 ns	12 ns
T3	23	-	-	8 ns

ns: não existe diferença significativa entre as amostras ao nível de 5% de significância

Tabela 4 Diferença entre o somatório para o atributo cheiro forte de morango dos queijos *petit suisse*

Amostras	Total	T1	T3	T7
		13	12	6
T1	13	-	1 ns	7 ns
T3	12	-	-	6 ns

ns: não existe diferença significativa entre as amostras ao nível de 5% de significância

Tabela 5 Diferença entre o somatório para o atributo pouco sabor de morango dos queijos *petit suisse*

Amostras	Total	T1	T3	T7
		19	15	7
T1	19	-	4 ns	12 ns
T3	15	-	-	8 ns

ns: não existe diferença significativa entre as amostras ao nível de 5% de significância

Tabela 6 Diferença entre o somatório para o atributo muito sabor de morango dos queijos *petit suisse*

Amostras	Total	T1	T3	T7
		29	33	18
T1	29	-	4 ns	11 ns
T3	33	-	-	15 ns

ns: não existe diferença significativa entre as amostras ao nível de 5% de significância

Embora não tenha sido encontrada diferença significativa entre as amostras quanto à presença de gruminhos, ao queijo T3 não foi atribuída a presença de grumos.

Não foi observada diferença significativa entre as amostras para os termos analisados no CATA, sendo que o queijo T1 apresentou maior frequência de citação para os atributos muito doce, cor rosa claro, cheiro fraco de morango, cheiro forte de morango e pouco sabor de morango. O queijo T3 apresentou maior frequência de citação para as características de cor rosa escuro e muito sabor de morango e o queijo T7 para o atributo pouco doce.

De maneira geral as amostras tiveram maior frequência para os atributos pouco doce, cor rosa claro, cheiro fraco de morango e muito sabor de morango.

Apesar de não ter sido observada diferença significativa na aceitação dos queijos, é possível perceber que o atributo muito sabor de morango e a ausência de grumos podem ter contribuído de forma positiva na maior média de aceitação do queijo T3 (CO03 37).

Na Figura 13 está representada a análise de agrupamento hierárquico em relação às frequências dos atributos do CATA.

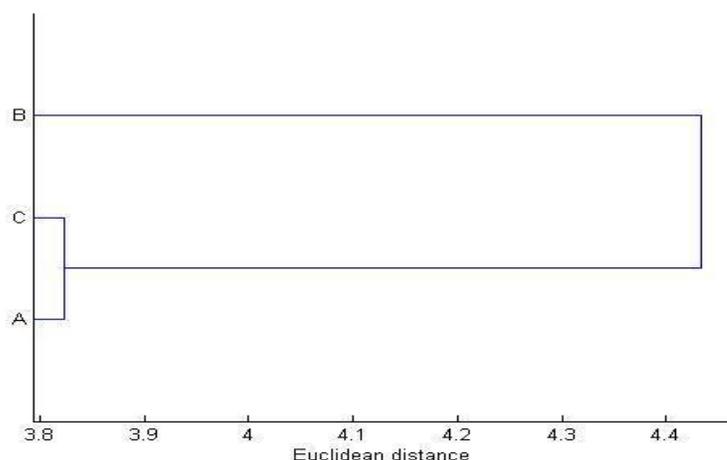


Figura 2 Análise de agrupamento hierárquico. (A) queijo T1 controle produzido a partir da cultura composta de *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* na temperatura de 32°C; (B) queijo T7 produzido a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* na temperatura de 37°C; (C) queijo T3 produzido a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus* na temperatura de 37°C

A análise de agrupamento hierárquico indica que de acordo com a frequência de atributos levantados no CATA os queijos T1 (controle) e T3 (CO03 37) apresentaram características semelhantes e são mais parecidos entre si diferenciando muito do queijo T7 (RST 37).

#### **4.8 Efeito das diferentes culturas lácticas empregadas sobre a microestrutura do queijo *petit suisse***

De acordo com Silva (2012) o principal componente responsável pela estrutura dos queijos é a caseína, que forma uma rede cuja rigidez depende do grau de abertura, da quantidade de água ligada à matriz proteica e da presença de gordura e água livre. Não foi possível visualizar as bactérias presentes nas culturas dos tratamentos, pois estas se encontravam incorporadas na matriz proteica. Na Figura 14 observam-se as micrografias da microscopia eletrônica de varredura dos queijos nos diferentes tratamentos.

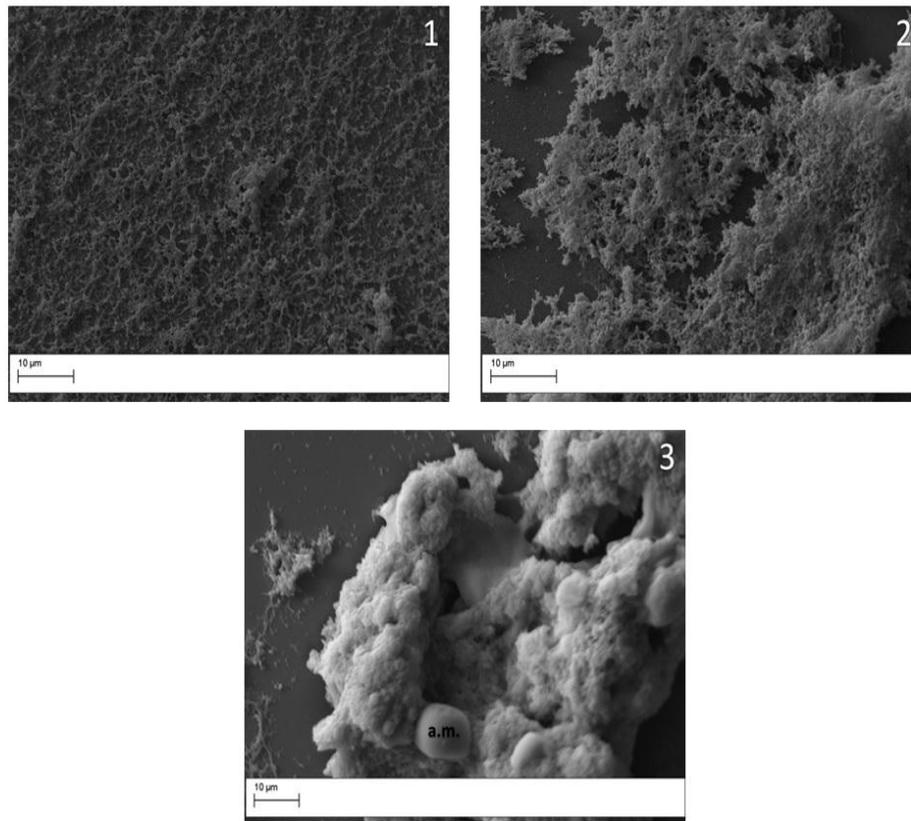


Figura 3 Eletromicrografias de varredura dos queijos *petit suisse* com retenção de soro (1) queijo *petit suisse* produzido a partir da cultura composta de *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* (T1); (2) queijo *petit suisse* produzido a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* (T7); (3) queijo *petit suisse* produzido a partir da cultura composta de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus* (T3)

É possível visualizar a rede de micelas de caseína formada em aglomerados, bem como os espaços (poros) presentes na estrutura dos queijos *petit suisse*, a aparência filamentosa da rede proteica, observada em todos os

tratamentos é atribuída à ligação das proteínas do soro do leite sobre a superfície da micela (SANDOVAL-CASTILLA et al., 2004).

As diferenças na microestrutura foram avaliadas aos oito dias após a fabricação e observou-se que a matriz proteica do queijo T3 produzido a partir da cultura termofílica de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus helveticus* apresentou-se visualmente, com uma estrutura mais compacta, com maior número de poros, sendo estes de tamanhos reduzidos quando comparados com a matriz proteica dos demais queijos. Isso pode estar relacionado ao fato do queijo T3 apresentar um menor pH e uma maior acidez quando comparado aos outros dois tratamentos. De acordo com Fox et al. (2000) uma maior acidificação resulta em maiores concentrações de íons  $H^+$ , fazendo com que as forças repulsivas existentes entre as micelas de caseína diminuam, provocando uma maior agregação. Além do que, a desmineralização ocorrida através da perda de cálcio e fosfato das micelas de caseína, proveniente da diminuição do pH, compromete a extensão das ligações entre as micelas, o que pode ter refletido na formação de redes de proteínas menos extensas, favorecendo a formação de muitos pequenos espaços vazios na estrutura proteica, interferindo com as interações entre as cadeias de caseína e favorecendo a formação de uma estrutura de proteínas altamente porosa e compacta. Hussein Shalaby (2014) compararam a microestrutura de queijo kareish produzido a partir de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* com o queijo kareish produzido a partir de *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* e *Bifidobacteria* e observaram que os queijos fabricados com culturas *starter* de iogurte apresentaram estrutura mais compacta.

Os tratamentos T1 (controle), produzido a partir da cultura mesofílica de *Lactococcus lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* e o T7 produzido a partir da cultura mista de *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus*

*lactis subsp. lactis* e *Lactococcus lactis subsp. cremoris* apresentaram poros de tamanho maior aos do T3, esses poros podem representar os locais originalmente ocupados pelo soro. A estrutura menos compacta, de poros mais largos no T1 pode justificar a menor sinérese apresentada pelo mesmo quando comparado aos outros dois tratamentos. Silva (2012) encontrou menor valor de sinérese para queijo *petit suisse* com estrutura menos compacta. Paula et al. (2011) afirmam que existe grande relação entre a microestrutura e a textura dos queijos, sendo que a matriz proteica menos compacta do queijo T1 poderia ser justificada pela menor firmeza encontrada na análise de textura.

Na Figura 14 (3) é possível visualizar a presença do amido modificado (a.m.), isso se deve ao fato de que após o aquecimento, os grânulos de amido absorvem água, incham e parte das moléculas de amilose dissolvem e partem para fora do grânulo. Esse processo continua até que os grânulos se rompem e as moléculas livres de amilose e amilopectina hidratadas aparecem (SANDOVAL-CASTILLA et al., 2004).

## 5 CONCLUSÃO

O emprego das culturas termofílica e mistana na fabricação dos queijos *petit suisse* com retenção de soro é tecnologicamente e sensorialmente viável.

As culturas termofílica e mista proporcionaram maiores níveis de acidez aos queijos, especialmente a cultura termofílica que por este motivo conferiu ao queijo estrutura mais compacta na análise de microscopia eletrônica de varredura.

Os queijos produzidos com as culturas termofílica e mista apresentaram maior sinérese.

Os queijos produzidos com as culturas termofílica e mista apresentaram maior firmeza, adesividade e gomosidade, enquanto a cultura mesofílica proporcionou maior coesividade.

A temperatura de fermentação de 37 °C para os queijos produzidos com as culturas termofílica e mista contribuiu para a maior elasticidade desses queijos.

Sobre a composição química, atividade de água e rendimento, não foi observada influência das culturas, sendo que os queijos analisados na análise sensorial apresentaram boa aceitação.

## REFERÊNCIAS

AGUILERA, J. M.; STANLEY, D. W. **Microstructural principles of food processing and engineering**. Amsterdam: Elsevier Science, 1990.

AICHINGER, P. A. et al. Fermentation of a skim milk concentrate with *Streptococcus thermophilus* and chymosin: structure, viscoelasticity and syneresis of gels. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 31, n. 1/4, p. 243–255, 2003.

ALBUQUERQUE, L. C. **Queijos no Brasil**. Juiz de Fora: Instituto de Laticínios Cândido Tostes, 1986. 139 p.

ALMEIDA, K. E.; BONASSI, I. A.; ROÇA, R. O. Características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas e preparadas com soro de queijo minas frescal. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 2, p. 187–192, 2001.

ANDRADE, R. L. P.; MARTINS, J. F. P. Influência da adição da fécula de batata-doce (*Ipomoea batatas L.*) sobre a viscosidade do permeado de soro de queijo. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 3, p. 249–253, 2002.

ANTUNES, A.E.C.; CAZETTO, T. F.; BOLINI, H.M.A. Iogurtes desnatados probióticos adicionados de concentrado proteico do soro de leite : perfil de textura, Sinérese e Análise Sensorial. **Alimentação e Nutrição**, São Paulo, n. 2, p. 107–114, 2004.

ARES, G. et al. Use of an open-ended question to identify drivers of liking of milk desserts. Comparison with preference mapping techniques. **Food Quality and Preference**, Barking, v. 21, n. 3, p. 286-294, 2010.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJO. **Queijos no Brasil**. 2013. Disponível em: <<http://www.scotconsultoria.com.br>>. Acesso em: 20 mar. 2015.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJO. **Queijos no Brasil**. 2014. Disponível em: <<http://www.abiq.com.br>>. Acesso em: 9 jan. 2015.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12806**: análise sensorial dos alimentos e bebidas - Terminologia. Rio de Janeiro, 1993. 8 p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the association analytical chemists**. 18th ed. Maryland, 2005.

ASSUMPÇÃO, G.M.P. **Viabilidade tecnológica do uso do extrato hidrossolúvel de soja na fabricação de iogurte**. 2008. 131 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

ATTAIE, R. Effects of aging on rheological and proteolytic properties of goat milk Jack Cheese produced according to cow milk procedures. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 57, n. 1, p. 19–29, 2005.

BALDASSO, C.; BARROS, T. C.; TESSARO, I. C. Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration. **Desalination**, Amsterdam, v. 278, p. 381–386, 2011.

BALDASSO, C. **Concentração, purificação e fracionamento das proteínas do soro lácteo através da tecnologia de separação por membranas**. 2008. 179 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

BANKS, J. M. What procedures are available for the sensory analysis of cheese and are they reliable? In: McSWEENEY, P. H. L. **Cheese problems solved**. London: CRC, 2007.

BASTOS, R. A. et al. **Desenvolvimento de queijo petit com retenção de soro**. [S. l.: s. n.], 2011. No prelo.  
BEHMER, M. L. A. **Tecnologia do leite**. São Paulo: Nobel, 1999.

BENNAMA, R. et al. Isolation of an exopolysaccharide-producing *Streptococcus thermophilus* from algerian raw cow milk. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 234, n.1, p. 119–125, 2012.

BEUCHAT, L. R. Microbial stability as affected by water activity. **Cereal Foods World**, St. Paul, v. 26, n. 7, p. 345-349, 1981.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa n° 53, de 29 de dezembro de 2000. Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo *Petit-suisse*. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa n° 62, de 29 de dezembro de 2011. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 2011a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Portaria n° 146 de 07 de março de 1996. Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 1996a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução n° 196 de 10 de outubro de 1996. Aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 1996b.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Resolução n° 430, de 13 de maio de 2011. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 2011b.

BURITI, F. C. A.; CARDARELLI, H. R.; SAAD, S. M. I. Textura instrumental e avaliação sensorial de queijo fresco cremoso simbiótico: implicações da adição de *Lactobacillus paracasei* e inulina. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, n. 1, p. 75–84, 2008.

BURITI, F. C. A.; ROCHA, J. S.; SAAD, S. M. I. Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. **International Dairy Journal**, Barking, v. 15, p. 1279-1288, 2005.

CARDARELLI, H. R. **Desenvolvimento de queijo *petit-suisse* simbiótico**. 2006. 149 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

CARDARELLI, H. R. et al. Inulin and oligofructose improve sensory quality and increase the probiotic viable count in potentially synbiotic petit-suisse cheese. **LWT - Food Science and Technology**, Zürich, v. 41, n.6, p. 1037–1046, 2008.

CARVALHO, J. C. **Produção de diacetil e acetoina**: desenvolvimento de um meio de cultivo e avaliação de fatores que alteram o crescimento de *Lactococcus lactis*. subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*. 1999. 111 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1999.

CERNING, J. et al. Isolation and characterization of exopolysaccharides from slime-forming mesophilic lactic acid bacteria. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, n. 3, p. 692–699, 1992.

CHAVES, J. B. P.; SPROESSER, R. L. **Práticas de laboratório de análise sensorial de alimentos e bebidas**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1993. 81 p.

COSTA, F. F. **Efeitos da fortificação com cálcio na estrutura de sorvetes**. 2008. 67 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

COX, W. A. Characteristics and use of *starter* cultures in the manufacture of hard processed cheese. **Journal Dairy Technology**, Champaign, v.30, n.1, p. 15-25, 1977.

CROWLEY, S. V. et al. Influence of protein concentration on the physical characteristics and flow properties of milk protein concentrate powders. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 135, p. 31–38, 2014.

DANNENBERG, F.; KESSLER, H. G. Effect of denaturation of  $\beta$ -lactoglobulin on texture properties of set-style nonfat yoghurt. 2. Firmness and flow properties. **Milchwissenschaft**, Munchen, v. 43, n. 1, p. 700-704, 1988.

DOOLEY, L.; LEE, Y. S.; MEULLENET, J. F. The application of check-all-that-apply (CATA) consumer profiling to preference mapping of vanilla ice cream and its comparison to classical external preference mapping. **Food Quality and Preference**, Barking, v. 21, n. 4, p. 394–401, 2010.

DRAKE, M. A.; SWANSON, B. G. Reduced and low fat cheese technology: A review. **Trends Food Sci. Technol.** Local, v. 6, p. 366-369, 1995.  
EL-BAKRY, M.; SHEEHAN, J. Analysing cheese microstructure: A review of recent developments. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 125, p. 84-96, 2014.

FARKYE, N. Y. How may wheying-off (spontaneous syneresis) in Quarg be avoided? In: McSWEENEY, P. L. H. **Cheese problems solved**. London: CRC, 2007.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2006.

FERRANDO, M.; SPIESS, W. E. L. Review: confocal scanning laser microscopy: a powerful tool in food science. **Food Science and Technology International**, London, v. 6, n.4, p. 267–284, 2000.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FERREIRA, S. P. et al. Efeito do soro do leite e goma guar nos teores de lactose, ácido láctico e tempo de fermentação de bebidas lácteas. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, n. 1, p. 39–50, 2013.

FERREIRA, V. L. P. et al. **Análise sensorial**: testes discriminativos e afetivos. Campinas: SBCTA, 2000. 127 p.

FOGAÇA, D.N. L. **Avaliação de propriedades mecânicas, físico-químicas e influência do tipo de acidificante e tempo de armazenamento visando à aplicação no controle do processo de produção de queijos de coalho**.2014. 76 p.Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos)- Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2014.

FOX, P. F. et al.**Fundamentals of cheese science**. Gaithersburg: Aspen, 2000. 544 p.

FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H. **Dairy chemistry and biochemistry**. London: Blackie Academic & Professional, 1998. 496 p.

FREIRE, D. O. **Sorvete elaborado com retentado de soro doce proveniente da nanofiltração**. 2012. 186 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

GARCIA, D. M.**Análise de atividade de água em alimentos armazenados no interior de granjas de integração avícola**. 2004. 50 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

GASTALDON, L. T. et al. Análise sensorial de empadas integrais em crianças na fase escolar. **Alimentos e Nutrição**, Marília, n. 3, p. 303–307, 2007.

GENTÈS, M.C.; ST-GELAIS, D.; TURGEON, S. L. Exopolysaccharide–milk protein interactions in a dairy model system simulating yoghurt conditions. **Dairy Science & Technology**, Les Ulis, v. 93, n. 3, p. 255–271, 2013.

GIRALDO-ZUÑIGA, A. D. et al. Tecnologias aplicadas ao processamento do soro de queijo. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 59, n. 340-341, p. 53-66, 2004.

GUAGLIANONI, D. G. **Análise sensorial** : um estudo sobre procedimentos estatísticos e número mínimo de julgadores. 2009. 124 p. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, 2009.

GURGEL, C. S. S. et al. Análise sensorial de sorvete de batata-doce. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 13, n. 83, p. 21–26, 2011.

HAQUE, E. et al. Ageing-induced solubility loss in milk protein concentrate powder: Effect of protein conformational modifications and interactions with water. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 91, n. 14, p. 2576–2581, 2011.

HARWALKAR, V. R.; KALAB, M. Relationship between microstructure and susceptibility to syneresis in yoghurt made from reconstituted non-fat dry milk. **Food Microstructure**, Oxford, v. 5, p. 287-294, 1986.

HASSAN, A. N. et al. Microstructure and rheology of yogurt made with cultures differing only in their ability to produce exopolysaccharides. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, n. 5, p. 1632–1638, 2003.

HELLER, K. J. Probiotic bacteria in fermented foods : product characteristics and *starter* organisms. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 73, n. 2, p. 374–337, 2008.

HOFVENDAHL, K.; HÄGERDAL, B. H. Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 26, p. 87–107, 2000.

HUGAS, M. Bacteriocinogenic lactic acid bacteria for the biopreservation of meat and meat products. **Meat Science**, Barking, v. 49, p. 139-150, 1998.

HUSSEIN, G.A. M.; SHALABY, S. M. Microstructure and textural properties of kareish cheese manufactured by various ways. **Annals of Agricultural Sciences**, Cairo, n. 1, p. 25–31, 2014.

JIMÉNEZ-GUZMÁN, J. et al. Use of an exopolysaccharide-producing strain of *Streptococcus thermophilus* in the manufacture of Mexican Panela cheese. **LWT-Food Science and Technology**, Zürich, v. 42, p. 1508-1512, 2009.

KALAB, M. Practical aspects of electron microscopy in dairy research. **Food Structure**, Chicago, v. 12, p. 95-114, 1993.

KELLY, A. L.; O'DONNELL, H. J. Composition, gel properties and microstructure of quarg as affected by processing parameters and milk quality. **International Dairy Journal**, Barking, v. 8, p. 295-301, 1998,

KINSELLA, J. E. Milk proteins: physicochemical and functional properties. **Critical Reviews in Food Science & Nutrition**, Boca Raton, v. 21, n. 3, p. 197-262, 1984.

KOSIKOWSKI, F. V. Whey utilization and whey products. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 62, p. 1149–1160, 1979.

KROLL, B. J. Evaluating rating scales for sensory testing with children. **Food Technology**, Chicago, v. 44, p. 78-84, 1990.

LAGE, F. C. S.; RAMOS, E. M. Utilização do método de rede check-all-that-apply (CATA) e avaliação de apresentados elaborados com soro de leite e enriquecidos com lactulose. **Conexão ciência: revista científica**, Formiga, v. 9, n. 2, p. 1–15, 2014.

LAGRANGE, V.; DALLAS, P. Produtos de soro dos EUA: disponibilidade, recursos tecnológicos, aplicações. **Revista de Engenharia de Alimentos**, São Paulo, n. 15, p. 27-29, 1997.

LAND, D. G.; SHEPHERD, R. Scaling and ranking methods. PIGGOTT, J. R. **Sensory analysis of foods**. London: Elsevier Applied Science, 1988. cap. 6, 155 p.

LEMPK, M. W.; PINTO, M. S.; SOUZA, P. R. R. Efeitos de culturas comerciais na viscosidade e pH de iogurte e avaliação de sua qualidade microbiológica. **Revista Do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 63, n. 360, p. 10–14, 2008.

LEROY, F.; DE VUYST, L. Lactic acid bacteria as functional *starter* cultures for the food fermentation industry. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 15, n. 2, p. 67–78, 2004.

LIMA, S.C. G. et al. Efeito da adição de diferentes sólidos na textura, sinérese e característica sensorial de iogurte firme. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 66, n. 383, p. 32–39, 2011.

LUCEY, J. A. Formation and physical properties of milk protein gels. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 2, p. 281–294, 2002.

LUCEY, J. A. The relationship between rheological parameters and whey separation in milk gels. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 15, p. 603–608, 2001.

MARUYAMA, L. Y. et al. Textura instrumental de queijo *petit-suisse* potencialmente probiótico: influência de diferentes combinações de gomas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, n. 2, p. 386–393, 2006.

MATIAS, N. S. et al. A probiotic soy-based innovative product as an alternative to *petit-suisse* cheese. **LWT - Food Science and Technology**, Zürich, n. 1, p. 411–417, 2014.

MEENA, M. K. et al. Formulation optimisation of a whey lemon beverage using a blend of the sweeteners aspartame and saccharin. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v. 65, n.1, p. 146–151, 2012.

MENESES, A. D. S. **Processo biotecnológico para aproveitamento de soro obtido na produção do queijo de coalho**. 2009. 88 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2009.

METSAMUURONEN, S.; MANTTARI, M.; NYSTROM, M. Comparison of analysis methods for protein concentration and its use in UF fractionation of whey. **Desalination**, Amsterdam, v. 283, p. 156–164, 2011.

MILLER, G. D.; JARVIS, J. K.; MCBEAN, L. D. **Handbook of dairy products and nutrition**. 2nd ed. Chicago: CRC, 2000.

MIMOUNI, A. et al. Rehydration process of milk protein concentrate powder monitored by static light scattering. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 23, n. 7, p. 1958–1965, 2009.

MINIM, V. P. R. **Análise sensorial**: estudos com consumidores. Viçosa, MG:UFV, 2006. 225 p.

MOREIRA, C. P. M. **Desenvolvimento de metodologias analíticas para queijos**. 2011. 84 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Alimentar-Qualidade e Segurança Alimentar) - Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2011.

MORGADO, F. E. F.; BRANDÃO, S. C. C. Ultrafiltração do leite para produção de queijo tipo *petit -suisse*. **Indústria de Laticínios**, São Paulo, v. 2, n. 13, p. 35-44, 1998.

MUÑOZ, A. M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation in quality control**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1992. 240 p.

NEWELL, G. J.; MACFARLANE, J. D. Expanded tables for multiple comparison procedures in the analysis of ranked data. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 52, n. 6, p. 1721-1725, 1987.

NIELSEN. **Informações de mercado**. 2011. Disponível em: <<http://br.nielsen.com>>. Acesso em: 20 mar. 2015.

NIKAEDO, P. H. L.; AMARAL, F. F.; PENNA, A. L. B. Caracterização tecnológica de sobremesas lácteas achocolatadas cremosas elaboradas com concentrado protéico de soro e misturas de gomas carragena e guar. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 40, n. 3, p. 397–404, 2004.

NUNES, C. A. et al. Chemoface: a novel free user-friendly interface for chemometrics. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Campinas, v. 23, n.11, p. 2003-2010, 2012.

ORDÓÑEZ, P. J. A. **Tecnologia de alimentos**. Porto Alegre: Artes Médicas, 2005. v. 2.

PAGNO, C. H. et al. Obtenção de concentrados protéicos de soro de leite e caracterização de suas propriedades funcionais tecnológicas. **Revista Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 20, n. 2, p. 231–239, 2009.

PARENTE, E.; COGAN, T. M. *Starter cultures: general aspects*. In: FOX, P. F. et al. **Cheese chemistry, physics and microbiology**. 3th ed. Amsterdam: Elsevier Academic, 2004. 645 p.

PAULA, A. T. **Atividade antimicrobiana de microrganismos probióticos em bebidas lácteas fermentadas**. 2010. 87 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São José do Rio Preto, 2010.

PAULA, J.C. J. et al. Efeito do uso de dióxido de carbono ( CO<sub>2</sub> ) na microestrutura dos queijos minas frescal e minas padrão. **Revista Do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, n. 383, p. 13–19, 2011.

PEREIRA, C. I.; GOMES, A. M. P.; MALCATA, F. X. Microstructure of cheese: Processing, technological and microbiological considerations. **Trends in Food Science & Technology**, Caambridge, v. 20, n.5, p. 213–219, 2009.

PERRY, K. S. P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 2, p. 293–300, 2004.

PESCUMA, M. et al. Proteolytic action of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CRL 656 reduces antigenic response to bovine  $\beta$ -lactoglobulin. **Food Chemistry**, London, v. 127, n. 2, p. 487–492, 2011.

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

PIMENTEL, T. C. **Iogurte probiótico com inulina como substituto de gordura**. 2009. 179 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2009.

PRUDENCIO, I. D. et al. Flow properties of *petit suisse* cheeses : use of cheese whey as a partial milk substitute. **Italian Journal of Food Science**, Pinerolo, v. 20, n. 2, p. 169–180, 2008.

PRUDENCIO, I. D. **Propriedades físicas de queijo *petit suisse* elaborado com retentado de soro de queijo e estabilidade de antocianinas e betalaínas adicionadas**. 2006. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

QUEIROGA, R.C.R.E. et al. Nutritional, textural and sensory properties of Coalho cheese made of goats', cows' milk and their mixture. **LWT - Food Science and Technology**, Zürich, v. 50, n. 2, p. 538-544, 2013.

RAMOS, T. M. **Produção de xarope de lactulose a partir do soro de ricota e seu emprego em iogurte e queijo quark**. 2010. 113 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

REYES-VEGA, M. L. et al. Relating sensory textural attributes of corn tortillas to some instrumental measurements. **Journal of Texture Studies**, Westport, v. 29, n. 4, p. 361–373, 1998.

RIENER, J. et al. A comparison of selected quality characteristics of yoghurts prepared from thermosonicated and conventionally heated milks. **Food Chemistry**, London, v. 119, n. 3, p. 1108-1113, 2010.

ROBINSON, R. K.; WILBEY, R. A. **Cheesemaking Practice**. 3th ed. Boston: Springer, 1998. 462 p.

ROCHA, L. O. F. **Utilização de soro lácteo , goma xantana e amido modificado na elaboração de doce de leite com café**. 2013. 205 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

RODRIGUES, M. A. A. et al. Development of cookie formulations containing coffee. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n.1, p. 162–169, 2007.

ROSENBERG, M. Current and future applications for membrane processes in the dairy industry. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 6, p. 12–19, 1995.

RUAS-MADIEDO, P.; ZOON, P. Effect of exopolysaccharide-producing *Lactococcus lactis* strains and temperature on the permeability of skim milk gels. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, Amsterdam, v. 213, n. 2/3, p. 245–253, 2003.

SÁ, E. M. F.; BARRETO, P. L. M.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Rheological profile of cream cheese elaborated with milk whey: influence of different blend of polissacharides. **Revista Do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, n. 363, p. 3–11, 2008.

SALOFF-COSTE, C. J. Lactic acid bacteria. **Danone World Newsletter**, Hauts-de-Seine, n. 5, p. 2-6, 1994.

SANDOVAL-CASTILLA, O. et al. Microstructure and texture of yogurt as influenced by fat replacers. **International Dairy Journal**, Barking, n. 2, p. 151–159, 2004.

SANDRAZ, M. H. Fromage frais: le bénéfice de l'innovation. **Revue Laitiere Française**, Paris, n. 486, p. 26-30, 1989.

SANTOS JÚNIOR, H. C. M. et al. Análise do perfil de textura de queijos de coalho condimentado com carne seca durante o tempo de armazenagem sob refrigeração. **Caderno de Ciências Agrárias**, Recife, v. 4, n. 13, p. 117-122, 2012.

SAYDELLES, B. M. et al. Elaboração e análise sensorial de biscoito recheado enriquecido com fibras e com menor teor de gordura. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 3, p. 644–647, 2010.

SCHILLINGER, U.; LUCKE, F. K. Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 55, n. 8, p. 1901–1906, 1989.

SCHULZ-COLLINS, D.; SENGE, B. Acid and acid rennet curd cheeses. Part A: Quark, cream cheese and related varieties. In: FOX, P. F. et al. **Cheese Chemistry, Physics and Microbiology**. 3th ed. Amsterdam: Elsevier Academic, 2004. 645 p.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos proteicos**: propriedades, degradações, modificações. São Paulo: Varela, 1996.

SHARPE, M. E. Lactic acid bacteria in the dairy industry. **Journal Dairy Technology**, Champaign, v. 32, n. 1, p. 9-18, 1979.

SIKAND, V.; TONG, P. S.; WALKER, J. Effect of adding salt during the diafiltration step of milk protein concentrate powder manufacture on mineral and soluble protein composition. **Dairy Science & Technology**, Les Ulis, v. 9, n. 4/5, p. 401–413, 2013.

SILVA, B. C. **Efeitos do congelamento e do tempo de armazenamento nos queijos *petit suisse* processados com diferentes espessantes**. 2012. 71 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

SILVA, C. R. B. et al. Efeito da adição de *Streptococcus thermophilus* como cultura adjunta na maturação e caracterização físico-química e sensorial de queijo prato. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 65, n. 3, p. 199–203, 2006.

SILVA, D. C. G. **Desenvolvimento de iogurte à base de leite de cabra com extrato hidrossolúvel de soja**. 2010. 141 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

SILVA, D. J. P. **Resíduos na indústria de laticínios**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2011. (Série Sistema de Gestão Ambiental).

SILVA, W.S. **Comportamento mecânico do queijo de coalho tradicional, com carne seca, tomate seco e orégano armazenados sob refrigeração**. 2013. 61 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2013.

SMITHERS, G.W. Whey and whey proteins - 'From Gutter-to-Gold'. **International Dairy Journal**, Barking, v. 18, p. 605-704, 2008.

SOLDATI, R.C. Bactérias utilizadas na indústria de laticínios: descrição, caracterização e utilização. **Revista Do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, n. 348, p. 3–12, 2006.

SOLDATI, R. C. **Microrganismos utilizados em laticínios**: descrição, características e utilização. Viçosa, MG: Ixtlan, 2010.

SOUZA, S. S. **Efeito da adição de culturas lácticas mesofílicas sobre a qualidade do queijo de coalho**. 2009. 97 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2009.

SOUZA, V. R. et al. Avaliação e definição do perfil de textura ideal de queijo *petit suisse*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 66, n. 382, p. 48–53, 2011.

STADING, M.; HERMANSSON, A. M. Large deformation properties of  $\beta$ -lactoglobulin gel structures. **Food Hydrocolloids**, Oxford, n. 4, p. 339–352, 1991.

STANIER, R. Y. et al. **General Microbiology**. 5<sup>th</sup> ed. London: MacMillan, 1987.

STEINHAEUER, T. et al. Enhancement of ultrafiltration-performance and improvement of hygienic quality during the production of whey concentrates. **International Dairy Journal**, Barking, v. 45, p. 8–14, 2015.

STILES, M. E.; HOLZAPFEL, W. H. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 36, n. 1, p. 1-29, 1997.

STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. 3th ed. Amsterdam: Elsevier Academic, 2004. 394 p.

SZCZESNIAK, A. K. Classification of textural characteristics. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 4, n. 28, p. 385-389, 1963.

SZCZESNIAK, A. S. Sensory texture profiling historical and scientific perspectives. **Food Technology**, Chicago, v. 52, n. 8, p. 54-57, 1998.

SZCZESNIAK, A. S. Texture is a sensory property. **Food Quality and Preference**, Barking, v. 13, n. 4, p. 215–225, 2002.

SZCZESNIAK, A. S. Texture profile analysis: methodology interpretation clarified. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 60, n. 6, p. 1289-1291, 1995.

THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 589–595, 2006.

VALENTIN, D. et al. Quick and dirty but still pretty good: a review of new descriptive methods in food science. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, p. 1-23, 2012. Disponível em: <<https://www.utdallas.edu/~herve/abdi-vcla2012-neways.pdf>>. Acesso em: 23 jan. 2015.

VARELA, P.; ARES, G. Sensory profiling , the blurred line between sensory and consumer science: a review of novel methods for product characterization. **Food Research International**, Barking, v. 48, n. 2, p. 893–908, 2012.

VEIGA, P. G. et al. Caracterização química, reológica e aceitação sensorial do queijo *petit-suisse* brasileiro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 3, p. 349-357, 2000.

VIDIGAL, M. C. T. R. **Caracterização reológica e sensorial de sobremesa láctea diet contendo concentrado protéico de soro**. 2009. 86 p. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2009.

VIEIRA, A.D.S. **Desenvolvimento de queijo caprino tipo *petit-suisse* simbiótico com polpa de açaí ( *Euterpe oleracea* Martius )**. 2013. 127 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

## ANEXOS

### **ANEXO A Autorização dos pais para participação das crianças na análise sensorial**

Senhores pais, solicitamos a autorização para que seu(sua) filho(a) participe de uma degustação de Queijo *Petit Suisse*, em parceria com a Universidade Federal de Lavras (UFLA), na qual as crianças deverão experimentar o *Petit Suisse* e avaliá-lo. Segue abaixo a ficha para autorização de seu(sua) filho(a) a participar da Análise Sensorial.

Eu, \_\_\_\_\_  
responsável pelo menor \_\_\_\_\_, certifico que, tendo lido as informações acima e suficientemente esclarecido de todos os itens, estou plenamente de acordo com a realização do experimento. Assim, eu autorizo a execução do trabalho de pesquisa exposto acima.