

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO LEITE E DERIVADOS
MESTRADO PROFISSIONAL EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO LEITE E
DERIVADOS

EDNA MARINA DE OLIVEIRA DOMINGOS

Efeito da fosfolipase nas características e rendimento do queijo Minas Padrão.

JUIZ DE FORA

2022

EDNA MARINA DE OLIVEIRA DOMINGOS

Efeito da fosfolipase nas características e rendimento do queijo Minas Padrão.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Leite e Derivados, Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Renata Golin Bueno Costa

JUIZ DE FORA

2022

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Oliveira Domingos, Edna Marina de.

"Efeito da fosfolipase nas características e rendimento do queijo Minas Padrão". : "Efeito da fosfolipase nas características e rendimento do queijo Minas Padrão". / Edna Marina de Oliveira Domingos. -- 2022.

71 p.

Orientadora: Dra. Renata Golin Bueno Costa

Dissertação (mestrado profissional) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Farmácia e Bioquímica. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, 2022.

1. Biotecnologia. 2. Enzima. 3. Fosfolipídeo. 4. Sinérese. 5. Queijo brasileiro. I. Bueno Costa , Dra. Renata Golin, orient. II. Título.

Edna Marina de Oliveira Domingos

Efeito da fosfolipase nas características e rendimento do queijo Minas Padrão

Dissertação
apresentada ao
Programa de Pós-
graduação em
Ciência e Tecnologia
do Leite e Derivados
da Universidade
Federal de Juiz de
Fora como requisito
parcial à obtenção do
título de Mestre
em Ciência e
Tecnologia do Leite e
Derivados. Área de
concentração: Ciência
e Tecnologia do Leite
e Derivados.

Aprovada em 12 de setembro de 2022.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Renata Golin Bueno Costa - Orientadora

EPAMIG/ILCT

Prof. Dr. Junio César Jacinto de Paula

EPAMIG/ILCT

Prof. Dr. Adriano Gomes da Cruz

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro

Juiz de Fora, 06/09/2022.



Documento assinado eletronicamente por **Junio Cesar J. de Paula, Usuário Externo**, em 13/09/2022, às 10:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º



do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Renata Golin Bueno Costa, Usuário Externo**, em 13/09/2022, às 13:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **ADRIANO GOMES DA CRUZ, Usuário Externo**, em 11/07/2024, às 23:57, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **0938057** e o código CRC **F7C017EB**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus a minha vida, e ao meu Pai Maurino Domingos por ter feito dela um “conto de fadas”. A minha Mãe Maria de Lourdes Dessupoio por ser o meu porto seguro em todos os momentos turbulentos. A minha família eu agradeço todo mimo, apoio, carinho, amor e incentivo. Minhas amigas, obrigada por tanta amizade, companheirismo, afeto e carinho, principalmente nos momentos de ausência. Meu amigo, pela paciência, carinho e incentivo constante. Aos amigos do mestrado principalmente as minhas meninas “Do mestrado para vida”, Danilo e Bruno por essa troca de conhecimento e apoio durante essa caminhada.

A minha orientadora Profa. Dra. Renata Golin Bueno Costa, não tenho palavras que possam expressar meu agradecimento. Muito obrigada por tanta atenção, por toda orientação, ensinamentos, paciência e dedicação em todos os momentos. Não tenho dúvidas de que foi um presente de Deus.

Agradeço aos participantes da banca e professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados, em especial a Nívea Maria Vicentini pelo apoio e Prof. Junio César Jacinto de Paula, Profa. Gisela de Magalhães Machado Moreira e Dr. Adriano Gomes da Cruz que participaram da minha qualificação e defesa, muito obrigada pela disponibilidade e contribuição neste trabalho.

Aos funcionários do laboratório de físico-química do ILCT e aos bolsistas por toda a ajuda durante a realização desse trabalho. A Cida e o José Carlos por toda atenção e paciência e os funcionários da Cooperativa, especialmente a Cristiane, o Claudinei e o José Maria pelo apoio durante o processo de fabricação.

Agradeço de forma muito especial a diretoria da Cooperativa, Juvenal, Camilo e Clério por todo apoio e confiança que depositam em mim

RESUMO

A enzima fosfolipase A1 tem sido utilizada em queijos para aumentar o rendimento por meio da retenção dos fosfolipídeos da membrana dos glóbulos de gordura, que gera um composto (lisofosfolípideo) altamente emulsificante que reduz a sinérese. Portanto, o objetivo foi avaliar o efeito da adição de fosfolipase em queijo Minas Padrão produzidos com leite com diferentes teores de gordura no rendimento e nas propriedades físico-químicas. Foram realizados 4 tratamentos (queijo sem enzima com 3,1% de gordura no leite - 3,1SF, queijo com fosfolipase com 3,1% de gordura no leite - 3,1CF, queijo sem fosfolipase com 2,5% de gordura no leite - 2,5SF e queijo com fosfolipase com 2,5% de gordura no leite - 2,5CF) e 3 repetições. Não houve diferença no teor de umidade, gordura, gordura no extrato seco e no pH. No entanto, houve diferença significativa no teor de proteína, sendo que nos tratamentos 3,1CF e 2,5CF o teor de proteína foi semelhante. Isso pode ser explicado por que os fosfolipídeos interagem com as proteínas, formando complexos lipoproteicos. Quanto ao rendimento ajustado, os queijos dos tratamentos 3,1SF e 2,5CF foram semelhantes, ou seja, foi possível obter o mesmo rendimento no queijo fabricado com 3,1% de gordura no leite e no queijo fabricado com 2,5% de gordura no leite, sem alterar seu teor de umidade e GES. Isso se torna um ganho para a indústria que pode utilizar esse creme para um outro produto como manteiga, sem perda das características do queijo. Também houve um aumento no rendimento do tratamento 3,1CF quando comparado com os demais tratamentos, o que é compatível com os resultados citados na literatura. Apesar dos queijos não terem apresentado diferença para o teor de gordura, a liberação de óleo livre foi maior nos tratamentos 3,1SF e 3,1CF porém ao longo do tempo, todos os tratamentos apresentaram maior liberação de óleo livre após 20 dias. Em relação ao perfil de textura, todos os tratamentos apresentaram um declínio na média após 20 dias de maturação, com exceção à adesividade que não apresentou diferença ao longo do tempo. A cor b^* ao longo do tempo não apresentou diferença, porém a luminosidade diminuiu até o tempo de 35 dias e a cor a^* aumentou gradativamente durante o período de maturação. O queijo do tratamento 2,5 CF foi o preferido pelos provadores no teste de aceitação e o queijo do tratamento 3,1 CF foi o que menos agradou, os provadores não notaram diferença significativa entre os tratamentos sem adição de fosfolipase.

Palavras-chave: Biotecnologia. Enzima. Fosfolipídeo. Sinérese. Queijo brasileiro.

ABSTRACT

The enzyme phospholipase A1 has been used in cheese to increase yield by retaining phospholipids in the fat globule membrane, which generates a highly emulsifying compound (lysophospholipid) that reduces syneresis. Therefore, the objective was to evaluate the effect of adding phospholipase in Minas Padrão cheese produced with different fat contents milk on yield and physicochemical properties. Four treatments were performed (cheese without enzyme with 3.1% milk fat - 3.1SF, cheese with phospholipase with 3.1% milk fat - 3.1CF, cheese without phospholipase with 2.5% milk fat milk - 2.5SF and cheese with phospholipase with 2.5% milk fat - 2.5CF) and 3 repetitions. There was no difference in moisture content, fat content, fat in dry matter and pH. However, there was a significant difference in protein content, and 3.1CF and 2.5CF treatments were similar in protein content. This can be explained by phospholipids interacting with proteins, forming lipoprotein complexes. As for the adjusted yield, the cheeses from the 3.1SF and 2.5CF treatments were similar; that is, it was possible to obtain the same yield in the cheeses made with 3.1% milk fat and 2.5% fat in milk without altering its moisture content and FDM. This becomes a gain for the industry, which can use this cream for other products, such as butter, without losing the characteristics of the cheese. There was also an increase in the yield of the 3.1CF treatment compared to the other treatments, which is compatible with the results cited in the literature. Although the cheeses showed no difference in fat content, the free oil release was higher in the 3.1SF and 3.1CF treatments, however, all treatments showed a higher free oil release after 20 days. Regarding the texture profile, all treatments showed an average decline after 20 days of ripening, with an increase in adhesiveness that did not differ over time. The b* colour over time showed no difference, but the luminosity decreased up to 35 days, and the a* colour gradually increased during the ripening period. The consumers preferred the cheese from the 2.5 CF treatment in the sensory test, and the cheese from the 3.1 CF treatment was the least liked. The consumers did not notice a significant difference between the treatments without adding phospholipase.

Key words: Biotechnology. Enzyme. Phospholipid. Syneresis. Brazilian cheese

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura da membrana do glóbululo de gordura do leite (MGGL).....	24
Figura 2. Estrutura do fosfolipídio.....	25
Figura 3. Esquema desenho experimental	30
Figura 4. Fluxograma da fabricação	32
Figura 5. Modelo da ficha-resposta do teste de aceitação (escala hedônica de nove pontos) para o queijo Minas Padrão.....	39
Figura 6. Índice de extensão (%) da proteólise dos queijos Minas Padrão	46
Figura 7. Índice de profundidade (%) da proteólise dos queijos Minas Padrão	47
Figura 8. Recuperação de proteína do leite para o queijo (%)	50
Figura 9. Recuperação de gordura do leite para o queijo (%).	51
Figura 10. Formação de óleo livre em %(m/m) dos queijos Minas Padrão com e sem adição de fosfolipase durante o período de maturação.....	53
Figura 11. Dureza (N) dos queijos Minas Padrão com e sem adição de fosfolipase durante o período de maturação	55
Figura 12. Adesividade (J) dos queijos Minas Padrão com e sem adição de fosfolipase	56
Figura 13. Coesividade dos queijos Minas Padrão com e sem adição de Fosfolipase.....	57
Figura 14. Elasticidade (MM) dos queijos Minas Padrão com e sem adição de fosfolipase durante o período de maturação	58
Figura 15. Mastigabilidade (N) dos queijos Minas Padrão com e sem adição de fosfolipase durante o período de maturação	59
Figura 16. Comportamento da cor dos queijos Minas Padrão, ao longo da maturação, para o parâmetro de cor L*. *	61
Figura 17. Comportamento da cor dos queijos Minas Padrão, ao longo da maturação, para o parâmetro de cor a*. *	62
Figura 18. Comportamento da cor dos queijos Minas Padrão, ao longo da maturação, para o parâmetro de cor b*.....	63
Figura 19. Aceitação (escala hedônica de nove pontos) para o queijo Minas Padrão *.....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetro físico-químicos do Queijo Minas Padrão de acordo com Instrução Normativa nº 66 de 21 de julho de 2020.....	20
Tabela 2. Principais enzimas utilizadas nas indústrias de alimentos	22
Tabela 3. Número de repetições (fabricações), tempos avaliados e as análises que foram realizadas nesse projeto	31
Tabela 4. Composição físico-química média do leite utilizado na fabricação dos queijos Minas Padrão.....	40
Tabela 5. Composição físico-química média do soro das fabricações de queijo Minas Padrão.....	41
Tabela 6. Composição centesimal dos queijos Minas Padrão produzidos com e sem adição de fosfolipase.....	42
Tabela 7. Índices de extensão e Profundidade de proteólise encontrado nos queijos Minas Padrão produzidos com e sem adição de fosfolipase.....	45
Tabela 8. Rendimentos atual (kg queijo/100 kg de leite), ajustado (RAJ) (kg queijo/100 kg de leite), recuperação de proteína do leite para o queijo (%) (RPTN), recuperação de Gordura (RG) do leite para o queijo (%) produzidos por 4 diferentes tratamentos.	49
Tabela 9. Análises do perfil de textura dos queijos Minas Padrão.....	54
Tabela 10. Análise instrumental da cor dos queijos Minas Padrão.....	60
Tabela 11. Análise microbiológica dos queijos Minas Padrão.	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIQ – Associação Brasileira das Indústrias de Queijos;
ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas;
ABRAS – Associação Brasileira de Supermercado;
ANOVA – Análise de Variância;
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária;
DP – Desvio Padrão;
EPAMIG – Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais;
GES – Gordura no extrato seco;
IEP- Índice de Extensão da Proteólise
ILCT – Instituto de Laticínios Cândido Tostes;
IN – Instrução normativa;
IPP- Índice de Profundidade de Proteólise;
Kg – Kilograma;
L – Litros;
MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento;
MGGL- Membrana do glóbulo de gordura do leite;
NaCl – Cloreto de Sódio;
NaOH – Hidróxido de Sódio;
NS – Nitrogênio solúvel;
NT – Nitrogênio total;
pH – Potencial hidrogeniônico;
RAJ – Rendimento Ajustado
RIISPOA – Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal;
RG – Recuperação degordura;
RP – Recuperação deproteína;
TCA – Ácido tricloroacético;

TPA – Análise do perfil de textura;

UFC – Unidades Formadoras de Colônias;

URA – Umidade Relativa do Ar.

LISTA DE SÍMBOLOS

% – percentual;

°C – graus Celsius (unidade de temperatura);

cm – centímetro;

g – grama (unidade de medida de massa);

kg - quilograma (unidade de medida de massa);

mL – mililitro – (unidade de medida de volume);

mg – miligrama (unidade de medida de massa);

m/m – massa/massa;

m/v – massa/volume;

Nm – nanômetro;

pH – potencial hidrogeniônico;

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.	15
2	OBJETIVOS	17
2.1	Objetivo geral.	17
2.2	Objetivos específicos.	17
3	REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1	Queijos.	18
3.2	Queijo Minas Padrão	18
3.3	Enzimas.	20
3.3.1	Fosfolipase	23
3.3.1.1	Lipídeos.	23
3.3.1.2	Fosfolipase comercial A1	26
3.3.2	Legislação.	28
4	MATERIAL E MÉTODOS	29
4.1	Localização	29
4.2	Desenho Experimental.	29
4.3	Tecnologia de fabricação do Queijo Minas Padrão	31
4.4	Análises físico-químicas do leite	34
4.5	Análises físico-químicas do soro.	34
4.6	Análises dos queijos Minas Padrão	35
4.6.1	Análises físico-químicas dos queijos Minas Padrão	35
4.6.2	Rendimento	36
4.6.3	Formação de óleo livre	37
4.6.4	Análise do perfil de textura dos queijos.	37
4.6.5	Avaliação da cor.	37
4.6.6	Análises microbiológicas.	38
4.6.7	Análise sensorial.	38
4.7	Análise estatística	39
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.	40
5.1	Análises físico-químicas do leite Pasteurizado	40

5.2	Análises físico-químicas do soro.	41
5.3	Análises dos queijos Minas Padrão	42
5.3.1	Análises físico-químicas dos queijos Minas Padrão	42
5.3.2	Proteólise	45
5.3.2.1	Índice de extensão de proteólise	45
5.3.2.2	Índice de profundidade de proteólise.....	47
5.4	Rendimento	48
5.4.1	Recuperação de constituintes do leite para os queijos.....	49
5.5	Formação de óleo livre	52
5.6	Análise do Perfil de textura.....	53
5.6.1	Dureza	54
5.6.2	Adesividade	56
5.6.3	Coesividade	57
5.6.4	Elasticidade	58
5.6.5	Mastigabilidade	59
5.7	Análise instrumental da Cor.....	60
5.8	Análises microbiológicas dos queijos Minas Padrão	64
5.9	Análise sensorial.	65
6	CONCLUSÃO.	66
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	67
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68

1 INTRODUÇÃO

As Indústrias de queijos ocupam lugar de destaque na economia mundial. Dentro do cenário Nacional, o Estado de Minas Gerais apresenta-se tradicionalmente com grande destaque pela produção de lácteos. O queijo Minas Padrão está entre os queijos mais produzidos no estado e é provavelmente, um dos pioneiros a ser produzido em escala industrial no país por apresentar, bom rendimento, baixo custo final, simplicidade no processo de fabricação e características de grande aceitação.

Em 2020 o país produziu 14.243 toneladas de queijo Minas Padrão e em 2021, a Associação Brasileira das Indústrias de Queijo (ABIQ), registrou um aumento na fabricação de aproximadamente 2,7% quando comparado com a produção de 2020.

Para alcançar um diferencial competitivo em seus negócios, as empresas lácteas precisam explorar ao máximo suas capacidades produtivas, usando todos os recursos da melhor maneira possível de forma que minimize custos e maximize lucros. Para isso, precisa entender os processos de produção e aperfeiçoar as técnicas e métodos de fabricação. Com objetivo de alcançar um melhor rendimento na fabricação, várias dessas empresas, contam com modernização de equipamentos, reformulação dos produtos e novas tecnologias de fabricação.

A biotecnologia, é uma grande aliada das indústrias lácteas que visam mais eficiência no processo produtivo, sendo que as enzimas têm destacado importante papel no setor. A lipase e fosfolipase, têm sido reportadas na literatura, como alternativa na melhoria, da produtividade e na funcionalidade de produtos alimentícios.

Com grande interesse por parte das indústrias em aumentar a produção de queijos, um método enzimático foi desenvolvido, por meio do tratamento do leite com fosfolipase para fabricação desses produtos que além de melhorar o rendimento, não prejudica a qualidade do produto final. Em queijos maturados, como é o caso do Minas Padrão, além da melhora do rendimento, este método proporciona influencia na textura e no sabor, durante o período de maturação.

Diante do levantamento de informações sobre o aspecto socioeconômico da enzima para a indústria láctea e os benefícios na otimização dos processos de produção, o presente trabalho tem objetivo de avaliar os impactos da fosfolipase, nas características do queijo Minas Padrão.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito da adição de fosfolipase em queijo Minas Padrão produzidos com leite com diferentes teores de gordura, sobre o rendimento e sobre as propriedades físico-químicas, de textura e sensoriais.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o efeito da fosfolipase sobre a composição físico-química dos queijos Minas Padrão produzido com leite com diferentes teores de gordura;
- Determinar o rendimento do queijo Minas Padrão produzido com adição de fosfolipase e leite com diferentes teores de gordura;
- Avaliar a cor, óleo livre, proteólise, e o pH dos queijos Minas Padrão ao longo da maturação;
- Avaliar as alterações no perfil de textura dos queijos durante a maturação;
- Verificar a aceitação sensorial dos queijos Minas Padrão pelos consumidores

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Queijos

Queijo é um produto lácteo produzido em todo o mundo em grande variedade tanto de sabor quanto de forma. É comumente aceito que o queijo surgiu no crescente fértil entre os rios Tigres e Eufrates, no Iraque, há 8.000 anos, durante a chamada revolução agrícola, ocorrida com a domesticação de plantas e animais (PAULA; CARVALHO; FURTADO, 2009).

No Brasil é fabricada uma grande variedade de queijos, que refletem a nossa própria formação cultural. Há queijos mais tipicamente brasileiros e há outros inspirados nos conhecimentos trazidos do exterior, principalmente da Europa. As versões originais foram adaptadas às condições e à oferta de leite nas diferentes bacias leiteiras e foram se adequando às preferências do consumidor brasileiro (ABIQ, 2020).

Um marco na história do queijo no Brasil foi a chegada da corte portuguesa. Em 1532 os portugueses trouxeram algumas vacas e o hábito de consumo de queijos, fazendo surgir incontáveis queijarias para atender a demanda deles, sendo que a primeira queijaria brasileira historicamente documentada foi fundada em 1581 na Bahia (LAGE, 2016).

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Queijos, regulamentado pela Portaria nº 146 de 1996 define queijo como sendo 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 bactéria específica, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e, ou especiarias e, ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes (BRASIL, 1996).

3.2 Queijo Minas Padrão

O queijo está presente na vida e nas mesas de praticamente todos os brasileiros. Essa iguaria, degustada em todo o mundo e de origem milenar, carrega consigo a identidade culinária mineira por todo o país. Quem pensa em Minas Gerais, logo pensa no queijo e nas delícias que podem ser feitas com ele. Em maio de 2019 o estado foi apontado como o maior produtor do Brasil, com cerca de 25% da produção nacional. Uma atividade que movimenta, só na indústria, R\$ 22 bilhões no país (ABRAS, 2020).

O queijo Minas Padrão trata-se provavelmente de um dos queijos brasileiros mais antigos, é produzido em vários estados, é também conhecido como queijo Minas Curado ou Minas Prensado. Estima-se que sua fabricação tenha se iniciado no século XIX, no estado de Minas Gerais. É bastante consumido no café da manhã, em sobremesas ou em preparações culinárias (ABIQ, 2020).

Diferente do queijo Minas Frescal, o queijo Minas Padrão é prensado e passa por maturação de no mínimo 20 dias em câmara fria a 10-12 °C, é produzido com leite pasteurizado, padronizado para 3,3-3,5% de gordura com adição de fermento mesofílico (PAULA, 2010).

De acordo com Furtado (2019), a composição média esperada para o queijo Minas Padrão com 30 dias é de 41-43% de umidade, 29-31% de gordura, 49-54% de gordura no extrato seco, 1,4-1,6% de sal e pH entre 5,2-5,3.

Em março de 1952, foi publicado o decreto nº 30.691 que aprova o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RISPOA) que define o queijo Minas Padrão como produto obtido de leite pasteurizado, integral ou padronizado, de massa crua, prensado mecanicamente e maturado durante 20 (vinte) dias. Quanto às características, este queijo deve apresentar odor e sabor próprio, uma consistência semidura com olhadura mecânica muito pequena, cor branco-creme, crosta fina amarelada em formato cilíndrico com peso entre 1kg e 1,2kg. (BRASIL, 1952).

Em maio de 2017, foi publicado o decreto nº 9.013 que apresenta esclarecimentos importantes para o produto queijo. Para o Queijo Minas Padrão, algumas informações complementam a definição descrita no RIISPOA de 1952. A coagulação do leite com coalho e ou outras enzimas coagulantes apropriadas e o uso de bactérias láticas são algumas dessas informações. A definição de queijo maturado, também foi apresentada, como o queijo que sofreu as trocas bioquímicas e físicas necessárias e características de acordo com a variedade e a data de fabricação, define-se pelo término do período da maturação (BRASIL, 2017).

No dia 09 de novembro de 2019, foi publicado no Diário Oficial da União, a Portaria nº 201, de 4 de outubro de 2019 que submete à Consulta Pública, pelo prazo de 60 (sessenta) dias, a contar da data da publicação desta Portaria, a proposta de Instrução Normativa, que estabelece o Regulamento Técnico sobre a identidade e requisitos mínimos de qualidade que deve atender o queijo Minas Padrão (BRASIL, 2019).

Em 03 de agosto de 2020, entrou em vigor a Instrução Normativa nº 66 de 21 de julho de 2020 que dispõe sobre a identidade e os requisitos de qualidade que deve apresentar o produto denominado queijo Minas Padrão. Além de corroborar os requisitos para queijo Minas Padrão apresentado no decreto nº 30.691 de 1952, a IN nº 66 define parâmetros físico-químicos específicos para esse queijo como mostra a Tabela 1. Os critérios microbiológicos devem estar de acordo com os estabelecidos no anexo II da Portaria nº 146 de 07 março de 1996, que define as análises, os limites e os métodos analíticos através do teor de umidade dos queijos (BRASIL, 1996). A temperatura de maturação deve ser superior a 10 °C e inferior a 16 °C, já o período continua como descrita no decreto nº 30.691 de 1952 por no mínimo 20 dias. Após a maturação o queijo deve ser mantido em temperatura não superior a 12 °C (BRASIL, 2020).

Tabela 1. Parâmetro físico-químicos do Queijo Minas Padrão de acordo com Instrução Normativa nº 66 de 21 de julho de 2020 (BRASIL, 2020).

Aspectos físico-químicos	Especificação		Classificação
	Mínimo	Máximo	
GES* (G)	42,0g/100g	57,0g/100g	Semi-gordo a gordo
Umidade (%)	36,0g/100g	45,9g/100g	Média Umidade

*Gordura no extrato seco

Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

3.3 Enzimas

Classificam-se como enzimas, um grupo de proteínas produzidas pelos organismos vivos, que têm a habilidade de acelerar os processos bioquímicos. Por essa razão, muitas vezes são chamadas de biocatalisadores. A ação das enzimas é específica, cada uma catalisa somente um tipo de reação (VIDAL; SARAN NETTO, 2018).

Presentes em microrganismos, animais e vegetais, elas são usadas direta ou indiretamente pela humanidade há milhares de anos, mas sua importância só foi reconhecida em meados do século XIX, quando cientistas descobriram como atuam. Essa maior compreensão possibilitou o emprego dessas proteínas especiais em processos industriais de diferentes áreas: médica, alimentícia, têxtil, química, de papel e celulose e muitas outras. (FERNANDES; MILAGRES; MUSSATTO, 2007).

Atualmente, o mercado enzimático vem apresentando um crescimento significativo devido à ampla variedade de oferta em aplicações industriais. As enzimas

empregadas nas indústrias de papel, couro e biocombustíveis, tendem a ter um aumento na produção, porém são as direcionadas à indústria de alimentos que representam grande parte desse mercado (MARTINS; SILVA; NASCIMENTO, 2019).

Para aplicação de enzimas em escala industrial, alguns fatores como, especificidade, estabilidade de armazenamento, disponibilidade e custos devem ser avaliados, além desses, também deve ser determinado o potencial da enzima através do pH, temperatura, potencial iônico, tempo de reação e substrato (MONTEIRO; SILVA, 2009).

Algumas enzimas se destacam devido à ampla utilização nos processos industriais, as amilases, proteases, celulasas e lipases, são algumas dessas. Uma das funções das amilases e celulasas é degradar as fibras da superfície do tecido, deixando-o mais macios, já as lipase e protease melhora o desempenho dos detergentes elevando a eficiência do produto na remoção de manchas (PRAXEDES; BRITO, 2016), (RIBEIRO et al., 2018).

No setor alimentício, as enzimas têm papel importante, além do uso com o objetivo de modificar matérias-primas e obter produtos específicos, elas podem influir na composição, no processamento e na deterioração dos alimentos. A Tabela 2 mostra as principais enzimas utilizadas na indústria de alimentos, sua origem e aplicações. (SILVA et al., 2017).

Tabela 2. Principais enzimas utilizadas nas indústrias de alimentos.

Enzima	Origem	Aplicação
Amilase	<i>Aspergillus niger</i> , <i>A. oryzae</i> , <i>Bacillus subtilis</i> ,	Melhorador de massas e produção de xaropes
Celulase	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Trichoderma reesei</i>	Preparação de concentrados líquidos de café, clarificação de sucos
Glicose Oxidase	<i>Aspergillus niger</i>	Eliminação da glicose dos sólidos do ovo
Invertase	<i>Sacharomyces cereviase</i>	Mel artificial
Lactase	<i>Sacharomyces fragilis</i>	Hidrolise da lactose
Lipase	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Rhizophus spp</i> , <i>Mucor spp</i>	Sabor ao queijo
Pectinase	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Rhizophus spp</i> , <i>Penicillium</i>	Clarificação de vinho e de suco de frutas
Protease	<i>Aspergillus oryzae</i> , <i>Bacillus subtilis</i>	Clarificação de cerveja e amaciante de carne

Fonte: (MONTEIRO; SILVA, 2009)

Dentre as indústrias de alimentos, os laticínios contam tanto com as enzimas naturais do leite, quanto as adicionadas no processo de produção com objetivos tecnológicos. A composição do leite, proporciona condições favoráveis para as reações biológicas, as quais podem ser responsáveis por resultados benéficos ou indesejáveis em produtos lácteos (SILVA et al., 2018).

As proteases, lactases, transglutaminase e lipases, são algumas enzimas utilizadas no setor lácteos. As proteases são utilizadas para coagulação do leite e aceleração no processo de maturação de queijos, as lactases possibilita a fabricação de produtos com reduzidos teores de lactose e as transglutaminase auxilia no melhoramento de textura (SUM-, 2011).

No leite, as lipases presentes, podem ser de origem microbiana ou endógena sendo que a endógena, não resiste ao processo de pasteurização e é sensível às proteases e à oxidação. Já as de origem microbiana, por ser mais resistente ao tratamento térmico, requer cuidado, pois a presença de forma ocasional, pode causar

modificações indesejáveis em produtos lácteos com maior tempo de vida útil (VIDAL; SARAN NETTO, 2018).

Quando utilizadas com objetivo tecnológico, as lipases de origem microbianas se sobressaem, pois sua produção se torna mais viável e mais segura, por apresentar alto rendimento, facilidade de manipulação genética, variadas atividades catalíticas e rápido crescimento de microrganismos em meios baratos (RAMALHO et al., 2019).

Por se tratar de uma enzima bem versátil, a lipase se torna atraente para as indústrias de alimentos. No setor lácteo, é utilizada para realçar aroma, modificar sabor e acelerar maturação de queijos, além disso, atua na fabricação de gordura de leite lipolisada que é a gordura láctea modificada para elaboração de outros produtos como, aromas de manteiga para margarina, xaropes, cobertura de chocolate, cremes e molhos artificiais e aditivos saborizantes de queijos, além disso, atua nos processos de panificação, bebidas, carnes e laticínios. (SUM-, 2011), (SAMPAIO, 2020).

Mesmo com os vários benefícios que a enzima proporciona as indústrias, o alto valor de produção, faz com que a aplicação biotecnológica em escala industrial seja reduzida. Conhecer as condições ótimas da aplicação da lipase e as diferenças e semelhanças entre os diferentes suportes de imobilização é fundamental para um melhor aproveitamento em diversos processos industriais (RAMALHO et al., 2019).

O uso de diferentes suportes para imobilização das enzimas lipolíticas, apresentam alguns benefícios quanto ao uso em escala industrial, a possibilidade de operar em sistemas de fluxo contínuo reduzindo custos de um determinado produto é um desses benefícios, além da estabilidade térmica e ao pH, a fácil recuperação e a redução de inibição por produtos e fácil redução (NASCIMENTO et al, 2016).

Dentre os vários benefícios tecnológicos que as enzimas proporcionam as indústrias, a melhoria na produtividade e funcionalidade dos produtos se destacam. Segundo Nielsen; Hoier (2009), as fosfolipase aplicadas na fabricação de alimentos, vêm sendo notadas pelo aumento de rendimento e impactos positivos na qualidade dos produtos, além de ser considerada uma proposta sustentável do ponto de vista ambiental.

3.3.1 Fosfolipase

A fosfolipase refere-se a um grupo de lipases que se diferenciam conforme a hidrólise de fosfolipídios e lipídeos.

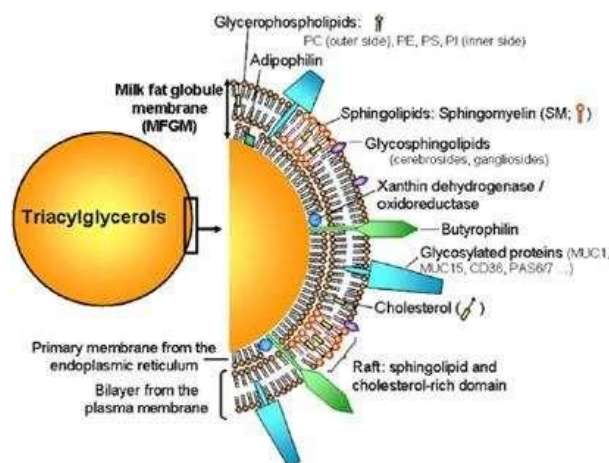
3.3.1.1 Lipídeos

Os lipídeos estão presentes no leite na forma de glóbulos esféricos constituídos

por uma camada composta de proteínas, fosfolípidos, glicolípidos, esteróis e glicerídeos. (EL-LOLY, 2011).

A Figura 1 representa um esquema da Membrana do glóbulo de gordura do leite (MGGL). A camada mais interna envolve a gota de gordura e é composta por lípidios polares e proteínas, em seguida uma cobertura proteínica eletrodensa e na parte mais externa, a estrutura apresenta uma bicamada de lípidios polares e proteínas. Vários fatores podem influenciar nessa estrutura, mas geralmente ela possui cerca de 25% de proteínas, principalmente glicoproteínas, e 70% de lípidios, destes em torno de 55-70% são lípidios neutros e 40% lípidios polares (COSTA; JIMÉNEZ-FLORES; GIGANTE, 2009).

Figura 1. Estrutura da Membrana do glóbulo de gordura do leite (MGGL)

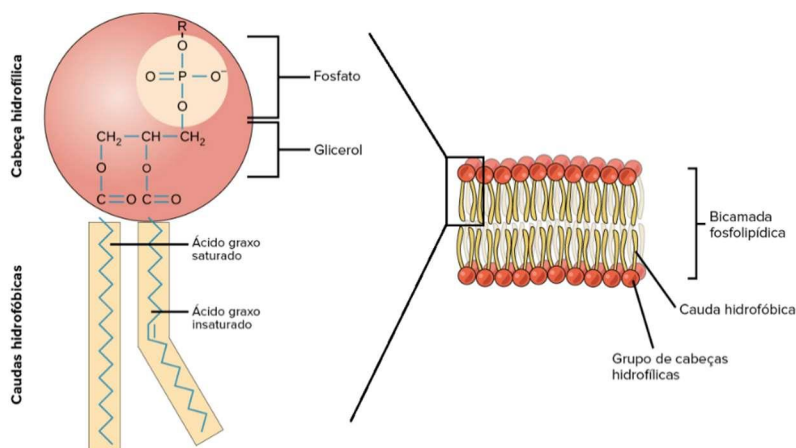


Fonte: (KWAK; GANESAN; HONG, 2011)

Dentre os lípidios neutros da MGGL aproximadamente 95% são triglicerídeos e em menor proporção, encontra-se os di- e monoglicerídeos, e o colesterol e seus ésteres. Já os lípidios polares, são constituídos basicamente por diversos grupos de fosfolípidos, especialmente glicerofosfolípidos e esfingofosfolípidos (COSTA; JIMÉNEZ-FLORES; GIGANTE, 2009).

A Figura 2 mostra a estrutura de um fosfolípidio que são moléculas anfipáticas, ou seja, possuem uma extremidade hidrofílica e outra hidrofóbica. A cabeça hidrofílica contém um resíduo fosfato ligado a diferentes grupos orgânicos como por exemplo o glicerol e a cauda hidrofóbica ou apolar é constituída por ácidos graxos saturado e insaturado (DEWETTINCK et al., 2008).

Figura 2. Estrutura do fosfolipídio.



Fonte: (FAY, 1967)

A membrana do glóbulo de gordura do leite (MGGL) protege o lipídeo da ação enzimática e impede que os glóbulos se fundam ou floculem (EL-LOLY, 2011).

Para ocorrer uma ação lipolítica, é necessário o rompimento da membrana que pode ocorrer por ação mecânica ou enzimática de fosfolipase e glicosidase. A lipase catalisa a hidrólise de ésteres para produzir ácidos graxos livres, di e monoglicerídeos e glicerol, a ruptura do glóbulo de gordura gera um aumento da superfície de contato e frequência de contato elevando a eficácia da lipólise (NASCIMENTO et al., 2016).

De acordo com Oliveira (2019), a fosfolipase hidrolisa as ligações de éster de fosfolipídios que são os componentes maioritários das membranas celulares. A classificação baseia-se no local de clivagem na molécula de fosfolipídio e são divididas em quatro classes:

- Fosfolipase (PLA), são acil-hidrolases que são subdivididas em PLA1 que hidrolisa a primeira ligação acil éster e PLA2 que hidrolisa a segunda ligação acil éster.
- Fosfolipase (PLB) – são enzimas capazes de hidrolisar ambas ligações acil éster.
- Fosfolipase (PLC) – são enzimas que clivam a ligação glicerofosfato.
- Fosfolipase D (PLD) – são enzimas que removem o grupo polar que está ligado ao grupo fosfato.

As enzimas fosfolipase, têm grande aplicação para diversos ramos industriais, principalmente para as empresas de alimentos. Podem ser empregadas na produção de óleo vegetal, amido, ingredientes de panificação e em lácteos onde atua como

estabilizante, emulsificantes em produtos como leite, queijos, sorvetes e manteigas (TRANCOSO-REYES et al., 2014), (DE MARIA et al., 2007; KARAHAN; AKIN, 2017).

A importância dos fosfolipídios na tecnologia de fabricação em alguns produtos lácteos, intensificam a aplicação da fosfolipase. No sorvete, a presença de fosfolipídios possibilita que aconteça a mistura de cristais de gelo e água na forma líquida, na manteiga, está relacionado com a separação de fases durante o processo de bateção e no leite, tem papel importante na cristalização da gordura o que impacta no aspecto sensorial e tecnológico de creme de leite (BRITO, 2019; CASADO et al., 2012).

Com grande interesse por parte das indústrias em aumentar a produção de queijos, um método enzimático foi desenvolvido, por meio do tratamento do leite com fosfolipase para fabricação desses produtos que além de melhorar o rendimento, não prejudica a qualidade do produto final (KARAHAN; AKIN, 2017; KELLY; HUPPERTZ; SHEEHAN, 2008).

Embora seja um produto de importância socioeconômica para o cenário brasileiro de produção de lácteos, Brito (2019), afirma que a literatura científica ainda apresenta um reduzido número de publicações relativa à aplicação de fosfolipase na fabricação de queijos.

Segundo Taves (2019), a aplicação da fosfolipase para a fabricação de queijos com objetivo de aumentar o rendimento é uma tecnologia considerada recente, foi introduzida em 2005 por Novozymes A/S e Christian Hansen que desenvolveu uma enzima com o objetivo de aumentar o rendimento da fabricação de queijos, através do aumento da retenção da gordura na coalhada. (HANSEN, 2017).

3.3.1.2 Fosfolipase comercial A1

É uma solução padronizada de enzima fosfolipase A1 produzida por *Fusarium venenatum* através de fermentação submersa de uma cepa de *Aspergillus oryzae*. A sua função é otimizar o processo de coagulação do leite, aumentando o rendimento em queijo pelo aumento das propriedades de emulsificação dos fosfolipídeos do leite destinado à fabricação de queijo (BRITO, 2019; CASADO et al., 2012).

Segundo Lilbaek et al., (2006) quando adicionado ao leite durante o processo de fabricação, essa enzima hidrolisa os fosfolipídeos da membrana dos glóbulos de gordura, gerando um composto (lisofosfolípide) altamente emulsificante que interage com as caseínas. Esse processo mantém os componentes do leite no queijo, promovendo um aumento do rendimento. De acordo com De Maria et al., (2007) essa

reação aumenta a retenção de gordura e umidade na coalhada, normalmente de 85% a 95% da gordura e 75% da proteína do leite, que continuam retidas na coalhada.

Segundo Hansen, (2017) a fosfolipase comercial A1, permanece estável até 45°C, acima dessa temperatura inicia a desnaturalização da enzima, até ocorrer uma inativação irreversível. Mais de 90% da enzima é destruída durante o processo de pasteurização (72 °C/15 s.), portanto, para a fabricação de queijos, é importante a adição após o tratamento térmico do leite.

Quanto ao pH, fosfolipase comercial A1 permanece estável para os intervalos de pH que ocorrem durante o processo normal de fabricação do queijo, pH este, comparável ao da lipase de *A. niger* que apresenta pH ótimo de 5,5 (NASCIMENTO et al., 2016).

Segundo o fabricante, a dosagem recomendada para o uso de fosfolipase comercial A1 é baseada no teor de gordura do leite, quanto maior o teor de gordura, maior o volume aplicado para a fabricação de queijos, para 1000L de leite com 3% de gordura, utiliza-se 65ml de fosfolipase comercial A1. A proporção é de 5 LEU-P / g de gordura, sendo LEU-P a unidade que expressa a força da enzima fosfolipase, que neste caso é de 2.300 LEU-P/mL (TRANCOSO-REYES et al., 2014).

Alguns trabalhos apresentam resultados satisfatórios do uso da fosfolipase comercial A1. Segundo Lilbeak et al., (2006), o uso da enzima na produção do queijo mussarela, melhorou o rendimento sem afetar a qualidade e a funcionalidade do produto. A hidrólise do fosfolípido antes da coagulação do leite, melhorou a umidade e a retenção de gordura durante a drenagem do soro.

De acordo com Brito, (2019), em queijo Minas Frescal, é possível a utilização da fosfolipase em escala industrial, a utilização da enzima na produção, causou impactos positivos no rendimento, e o sensorial por parte dos consumidores, teve aceitação similar à do produto sem o uso da enzima.

Outra avaliação foi feita para verificar o rendimento de queijos chihuahua fabricados com fosfolipase e bactérias produtoras de exopolissacarídeo. Para esse queijo, o uso só da enzima, não apresentou aumento na retenção de gordura e rendimento conforme o esperado, porém quando associada a bactérias produtoras de exopolissacarídeo pode-se observar uma melhora do rendimento e aumento da umidade e teor de gordura (TRANCOSO-REYES et al., 2014).

3.3.2 Legislação

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é responsável pela regulamentação das preparações enzimáticas através da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 53 e 54 de 07 de outubro 2014. As fosfolipase tipo A1, A2 e C estão previstas na lista de enzimas de origem microbiana que podem ser utilizadas na produção de alimentos em geral no Brasil. A resolução não aborda a quantidade de enzima que pode ser utilizada e não especifica os alimentos (BRASIL, 2014).

A Portaria nº 146 de 07 de março de 1996, aprova o Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos que autorizam uso de lipases na elaboração de queijos de média e baixa umidade (BRASIL, 1996). No entanto, não faz menção sobre o uso da fosfolipase, possivelmente por se tratar de uma enzima recente (2005) e essa legislação ser anterior a essa data.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Localização

O processamento do queijo Minas Padrão foi realizado na Cooperativa de São João Nepomuceno, situada em São João Nepomuceno, Minas Gerais.

As análises físico-químicas do leite utilizado no processamento dos queijos e do soro proveniente da fabricação, com exceção da análise de proteínas foram realizadas no laboratório da Cooperativa de São João Nepomuceno.

As análises microbiológicas e de umidade, pH, gordura e sal dos queijos, foram realizadas em um laboratório terceirizado, já as análises de proteína, perfil de textura e análise instrumental de coralém das análises de proteína do leite e do soro foram conduzidas nos laboratórios de pesquisa da EPAMIG ILCT, Juiz de Fora - MG.

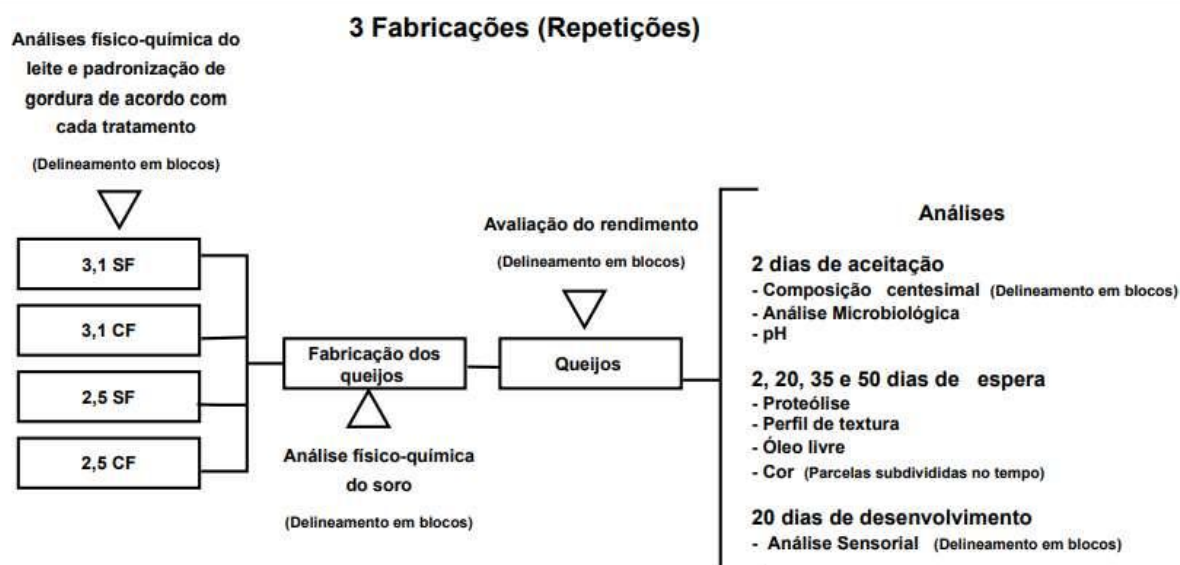
4.2 Desenho Experimental

O experimento foi conduzido em delineamento em parcelas subdivididas no tempo, composto por quatro tratamentos (fabricação de queijo Minas Padrão com diferentes teores de gordura, com e sem adição de fosfolipase), quatro tempos (2, 20, 35 e 50 dias de estocagem refrigerada) e três repetições. Para as análises realizadas em um só tempo, foi utilizado o delineamento em blocos. Os tratamentos foram constituídos de:

- Queijo fabricado sem adição de fosfolipase e leite com teor de gordura de 3,1% (m/v) (3,1 SF);
- Queijo fabricado com adição de fosfolipase e leite com teor de gordura de 3,1% (m/v) (3,1 CF);
- Queijo fabricado sem adição de fosfolipase e leite com teor de gordura de 2,5% (m/v) (2,5 SF);
- Queijo fabricado com adição de fosfolipase e leite com teor de gordura de 2,5% (m/v) (2,5 CF).

A Figura 3 apresenta o esquema do desenho experimental do projeto.

Figura 3. Esquema do Desenho Experimental.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

O leite foi padronizado quanto ao teor de gordura (2,5% e 3,1%) de acordo com cada tratamento, posteriormente esse foi pasteurizado para o início da fabricação dos queijos. O mesmo leite foi utilizado na fabricação dos quatro tratamentos, com o diferencial da padronização do teor de gordura. Foram realizadas análises físico-químicas.

Os queijos Minas Padrão foram fabricados utilizando a tecnologia de fabricação da Cooperativa Agropecuária de São João Nepomuceno. Durante a fabricação foi coletado o soro para análises físico-químicas.

A Tabela 3 apresenta as análises realizadas no projeto e os tempos avaliados.

As análises microbiológicas foram realizadas com 2 dias e as sensoriais foram realizadas com 20 dias de maturação após a comprovação da inocuidade dos queijos.

Tabela 3. Número de repetições (fabricações), tempos avaliados e as análises que foram realizadas nesse projeto.

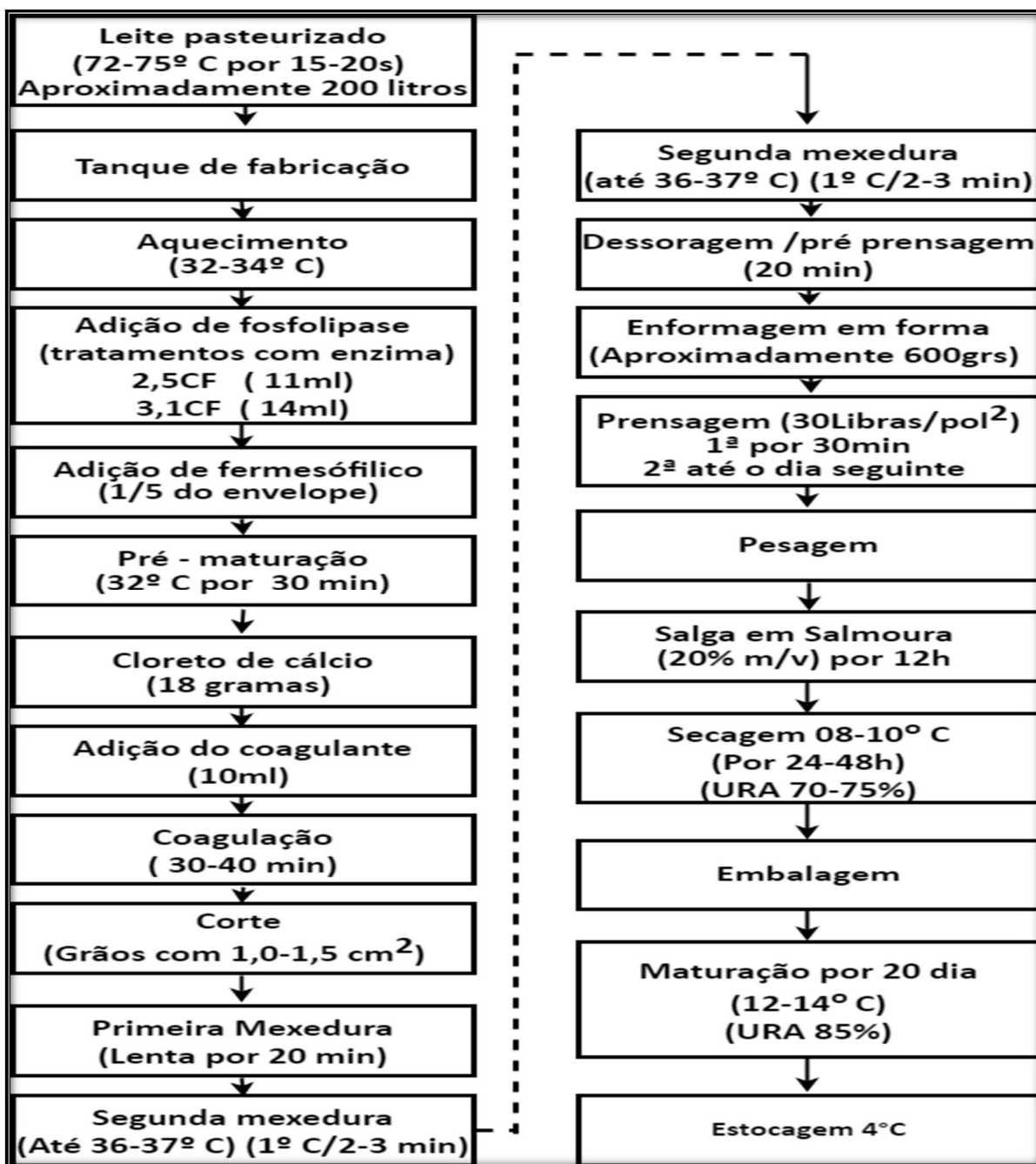
Análises no queijo	Número de Repetições	Tempos avaliados (Dias em estocagem refrigerada)			
		2 dias	20 dias	35 dias	50 dias
Composição centesimal	3	X			
Rendimento	3	X			
pH	3	X			
Índice de proteólise	3	X	X	X	X
Cor	3	X	X	X	X
Perfil de textura	3	X	X	X	X
Análises sensoriais	3		X		
Análises microbiológicas	3	X			

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

4.3 Tecnologia de fabricação do Queijo Minas Padrão

Os queijos Minas Padrão foram fabricados utilizando a metodologia de fabricação da Cooperativa de São João Nepomuceno (Figura 4). O mesmo leite foi utilizado para os quatro tratamentos com a única diferença da padronização do teor de gordura (2,5% m/v e 3,1% m/v) de acordo com cada tratamento. De acordo com Brasil (2011), o leite Pasteurizado deve ser classificado quanto ao teor de gordura como integral (mínimo 3,0%), semidesnatado (0,6% a 2,9%) ou desnatado (máximo 0,5%). Foi mantido o teor de 3,1% (m/v) de gordura que já era utilizado pela Cooperativa para a fabricação deste queijo e o teor 2,5%(m/v) foi escolhido após pré-teste realizado antes do experimento, esse valor foi escolhido para o pré-teste por ser utilizado na Cooperativa para fabricação de queijo Muçarela com adição de fosfolipase. No pré-teste os queijos foram fabricados com leite com teor de gordura 2,5% e adição de fosfolipase e foram observados alguns fatores como aparência, sabor e o peso total da produção, que foram compatíveis com os dos queijos fabricados com leite com teor 3,1%(m/v) e sem adição de fosfolipase.

Figura 4. Fluxograma da fabricação do queijo Minas Padrão.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

O leite pasteurizado foi pesado (aproximadamente 200 litros para cada tratamento) e posteriormente depositado em tanquede fabricação. A pasteurização realizada, foi de acordo com a citada na Instrução Normativa nº 62 (72–75 °C por 15–20 s).

Após a pasteurização, foi feito o ajuste da temperatura à 32°C para o início da etapa de pré-maturação. Para os tratamentos 3,1CF e 2,5CF, a enzima YieldMAX® (CHr. Hansen) foi adicionada no início da fabricação na dosagem recomendada pelo fabricante de 5LEU-P / g de gordura, sendo LEU-P a unidade que expressa a força da enzima fosfolipase, que neste caso é de 2.300 LEU-P/mL. Para o tratamento 3,1CF

utilizamos 14ml, e para o tratamento 2,5CF 11ml. A enzima precisa ser adicionada ao leite no mínimo 20 minutos antes da coagulação (HANSEN, 2017).

O fermento utilizado foi o BIOLACT M03 misto (mesófilo / termófilo) - marca AEB®, composto por multicepas de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (L..L.), *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (L.C.) e *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*. Nos tratamentos 3,1CF e 2,5CF, o fermento foi adicionado na dosagem recomendada pelo fabricante, logo após a enzima YieldMAX® e nos tratamentos 3,1SF e 2,5SF, foi adicionado imediatamente após o ajuste da temperatura. Um pacote de 200U foi diluído em 500 ml de leite, a dosagem utilizada foi 100 ml para todos os tratamentos. Por estar na forma liofilizada, depois de adicionado ao leite, foi necessário esperar no mínimo 30 minutos antes da coagulação.

Após a pré-maturação, foi adicionado o cloreto de cálcio na dosagem recomendada pelo fabricante e também o coagulante CHYMAX EXTRA (Chr. Hansen) com atividade enzimática de 560,00 a 600,00 IMCU/mL na dosagem recomendada pelo fabricante.

Confirmada a coagulação, iniciou-se o corte da coalhada com auxílio de lira em aço inox, nos sentidos horizontal e vertical, até obteção de grãos com diâmetro de 1,0 a 1,5 cm de aresta e em seguida a coalhada foi deixada em repouso por 5 minutos. A primeira mexedura foi de forma lenta por 20 minutos; após esse período 1/3 (um terço) do soro foi eliminada e iniciou-se a segunda mexedura e o aquecimento indireto até a temperatura de 37 °C.

Em todos os tratamentos e repetições o ponto foi padronizado pela consistência da massa e não pelo tempo da segunda mexedura, sendo que o mesmo quejeiro fabricou todos os tratamentos e repetições. Após a obteção do ponto, a massa foi direcionada a uma das extremidades do tanque e o soro resultante do processo foi eliminado para dar início a pré-prensagem da massa por 20 minutos com o dobro do peso extimado em relação a quantidade de massa (aproximadamente 40 kg de peso).

Após a pré-prensagem, a massa foi cortada e colocada em formas redondas com dessoradores e capacidade de aproximadamente 0,6 kg. Essas formas foram colocadas na prensa por 30 minutos com 10 vezes o peso do queijo (6 kg), e em seguida foi feita a viragem dos queijos que permaneceram na prensa até o dia seguinte.

A pesagem dos queijos foi feita após o período de prensagem para cálculo de rendimento e logo em seguida, os queijos foram encaminhados ao tanque de salga a 20% (m/v) de sal (10-12 °C) por 12 horas.

A secagem dos queijos foi realizada em câmara fria com temperatura de 10 a 12 °C e aproximadamente 70% de umidade relativa do ar (URA) por um período de 48 horas. Posteriormente os queijos foram embalados em película termoencolhível à vácuo e foram encaminhados para a câmara de maturação com temperatura de 12 °C a 14 °C durante 20 dias para desenvolver sabor e consistência. Após o período de maturação, os queijos foram armazenados em câmaras de produtos acabados com temperatura entre 2 °C e 4 °C.

4.4 Análises físico-químicas do leite

As amostras de leite cru foram avaliadas em relação à:

- Teor percentual (m/v) de gordura: Método butirométrico (BRASIL,2006);

As amostras de leite pasteurizado dos tratamentos foram avaliadas em relação à:

- pH: Realizado por meio de leitura direta em medidor de pH calibrado (BRASIL,2006);
- Densidade a 15 °C: Realizado por meio de um termolactodensímetro (BRASIL, 2006).
- Teor percentual (m/v) de proteína verdadeira: Realizada a partir da determinação dos teores de nitrogênio total (NT) e nitrogênio dos compostos não proteicos (N-NPN), pelo método de Kjeldahl (PEREIRA et al., 2001). O fator para conversão de nitrogênio em proteína foi de 6,38;
- Extrato Seco Total: Método gravimétrico em estufa 102 °C \pm 2 °C (BRASIL,2006).

4.5 Análises físico-químicas do soro

As amostras dos soros foram coletadas no término da primeira mexedura de 20 minutos e analisadas quanto a:

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

- Densidade a 15 °C: Realizada por meio de um termolactodensímetro (BRASIL, 2006).

4.6 Análises dos queijos Minas Padrão

Os queijos foram coletados aleatoriamente de cada lote para análises físico-químicas, perfil de textura, óleo livre, análise instrumental de cor, proteólise, sensoriais e análises microbiológicas. O processo de preparo de amostra foi realizado segundo Brasil (2006).

4.6.1 Análises físico-químicas dos queijos Minas Padrão

Os queijos foram analisados nos tempos de dois dias de estocagem em cada repetição, quanto aos seguintes aspectos:

- Teores percentuais (m/m) de Umidade e Sólidos Totais: Método gravimétrico em estufa a $102^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ (BRASIL, 2006);
- Teor percentual de gordura: Método butírométrico (BRASIL, 2006) para determinar a Gordura no Extrato Seco (GES) = teor de gordura/extrato seco; a Umidade na massa desengordurada do queijo (UMDQ) = $(100 \times \text{teor de umidade})/100 - \text{teor de gordura}$;
- pH: Realizada por meio de leitura direta em medidor de pH calibrado (BRASIL, 2006);
- Nitrogênio total: Método Kjeldahl, conforme descrito por Pereira et al. (2001) para se calcular teor percentual de proteína: com base no teor de nitrogênio total, conforme descrito na seção 6.036 da A.O.A.C. (1984). O fator utilizado foi de 6,38;
- Teor percentual de cloretos (PEREIRA et al. 2001).

O Índice de extensão de proteólise, foi analisado em todos os tempos de estocagem 2, 20, 35 e 50 dias. Os teores de nitrogênio total (NT) e de nitrogênio solúvel em pH 4,6 (NS) dos queijos foram determinados pelo método Kjeldahl, segundo Pereira et al. (2001).

- O índice de extensão da proteólise foi calculado pela relação entre a porcentagem de nitrogênio solúvel em pH 4,6 e a porcentagem de nitrogênio total (Equação 1).

$$\text{Índice de extensão} = \frac{\text{Nitrogênio solúvel em pH 4,6} \times 100}{\text{Nitrogênio total}} \quad (1)$$

- O Índice de profundidade de proteólise: O índice de profundidade da proteólise foi calculado pela relação entre a porcentagem de nitrogênio solúvel em TCA1 2% e a porcentagem de nitrogênio total (Equação 2).

$$\text{Índice de profundidade} = \frac{\text{Nitrogênio solúvel TCA 12\%} \times 100}{\text{Nitrogênio total}} \quad (2)$$

4.6.2 Rendimento

O estudo do rendimento foi feito com dois dias de estocagem, as amostras de soro, leite e queijo foram coletadas e analisadas para estudo do rendimento de fabricação, com registro da massa do leite e do queijo. O rendimento ajustado e a recuperação dos componentes do leite foram calculados conforme descrito por Alves et al. (2013).

- O rendimento dos queijos foi calculado de acordo com a equação 3.

$$\text{Rendimento (kg queijo/100 kg de leite)} = \frac{\text{massa de queijo obtida}}{\text{massa de leite utilizada}} \quad (3)$$

- O rendimento ajustado (RAJ) foi calculado de acordo com a utilização do teor de sal desejado 1% e umidade desejada 45% no queijo Minas Padrão conforme equação 4.

$$\text{RAJ} = \frac{(\text{rendimento}) \times (100 - (\% \text{ umidade real} + \% \text{ sal real}))}{100 - (\% \text{ umidade desejada} + \% \text{ sal desejada})} \quad (4)$$

* Valores de umidade e sal desejados foram definidos posteriormente pela média da umidade e sal encontrados nas análises.

- A recuperação de gordura (RG) e proteína (RP) do queijo foram calculadas de acordo com a equação 5. A amostra apresentada nessa equação pode ser representada pelo teor da proteína ou gordura do soro ou do queijo.

$$\text{RG ou RP} = \frac{\text{massa da amostra} \times \% \text{ do componente da amostra}}{\text{massa leite} \times \% \text{ componente leite}} \times 100 \quad (5)$$

4.6.3 Formação de óleo livre

A formação de óleo livre foi avaliada em todos os tempos, em quadruplicada, pelo método de Gerber modificado, conforme Kindstedte Fox (1991). Os resultados foram expressos em função da porcentagem de gordura do queijo, de acordo com a equação 6:

$$\% \text{ óleo livre} = \frac{\% \text{ óleo livre do queijo} \times 100}{\% \text{ gordura do queijo}} \quad (6)$$

Sendo, % óleo livre do queijo = gordura medida na escala do butirômetro

2

4.6.4 Análise do perfil de textura dos queijos

A textura foi avaliada em todos os tempos de estocagem e em cada repetição pela análise do perfil de textura (TPA) dos queijos, utilizando o Texturômetro CT3 Textura Analyzer (Brookfield, Middleboro, USA). Para o preparo das amostras, foram retirados seis cubos de 20 mm de aresta não sendo utilizados o centro e as bordas. Os cubos foram embalados e mantidos sob refrigeração a 12 °C, por pelo menos 1h e 30 min antes do início dos testes. Durante os ensaios, as amostras foram comprimidas a 30%, velocidade do teste 1mm/s, célula de carga de 4500g, por um cilindro de 50,8 mm de diâmetro e 20 mm de largura. A textura foi determinada instrumentalmente, em sextuplicata, pela análise do perfil de textura (TPA - Texture Profile Analysis). Os parâmetros medidos foram: dureza, mastigabilidade, adesividade, elasticidade e coesividade.

4.6.5 Análise instrumental da cor

A cor dos queijos foi avaliada em todos os tempos de estocagem e em cada repetição pelo sistema CIE L* a* b*, por meio do espectrofotômetro CM-5, com abertura inferior (Konika Minolta, Sensing Americas, Inc.), com calibração automática do padrão branco (refletância) /100%. O tipo de medição adotada para avaliação da cor dos queijos foi a refletância. Os parâmetros usados no teste foram: faixa de comprimento de onda de 360nm até 740nm, área de medição LAV (diâmetro 30mm) e componente especular para SCI (componente especular incluído). Os componentes utilizados foram: máscara de medição (para miniplaca de Petri): CM-A158 e placa de petri CM-A128.

4.6.6 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas em laboratório terceirizado aos 2

dias de maturação. As legislações usadas como referência foram:

- Anexo II da Portaria nº 146 de 07 março de 1996 (BRASIL, 1996)
- Instrução Normativa MAPA nº 30 de 26 junho de 2018 (BRASIL, 2018)
- Instrução Normativa nº 60 de 23 dezembro de 2019 (BRASIL, 2019)
- Instrução Normativa nº 66 de 21 julho de 2020 (BRASIL, 2020)

As análises e os métodos analíticos foram definidos pelo anexo II da Portaria nº 146 de 07 março de 1996:

- Contagem de coliformes a 30 °C – 35 °C FIL 73A: 1985
- Contagem de coliformes a 45 °C APHA 1992, cap. 24 (1)
- Contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva FIL 145: 1990
- *Salmonella* sp FIL 93A: 1985
- *Listeria monocytogenes* FIL 143: 1990

4.6.7 Análise sensorial

O teste de aceitação foi realizado, mediante o uso de uma escala hedônica de nove pontos (JONES et al., 1955) conforme ficha de resposta modelo (Figura 5) com 120 avaliações no tempo de 20 dias de maturação. O teste foi realizado no escritório da Cooperativa de São João Nepomuceno, foram utilizados provadores não treinados e selecionados aleatoriamente entre eles, funcionário da cooperativa e clientes do varejo da Cooperativa de São João Nepomuceno, representando os consumidores potenciais deste tipo de queijo. Na análise sensorial, o queijo foi oferecido em cubos de 3x3x3 cm, juntamente com um copo com água e um biscoito salgado.

As respostas dos provadores foram transformadas em valores numéricos, para análise estatística dos resultados.

Figura 5. Modelo da ficha-resposta do teste de aceitação (escala hedônica de nove pontos) para o queijo Minas Padrão.

<u>Ficha de Avaliação Sensorial</u>	Amostra:
Nome: _____ Idade: ____ Sexo (F) (M) Data: _____	
<p>Por favor, prove as amostras de queijo Minas Padrão e responda ao questionário.</p> <p><u>De uma forma geral</u>, marque por favor o quanto você gostou ou desgostou desse queijo:</p>	
Marque com um x o quanto você gostou desgostou (uma única vez)	
<input type="checkbox"/> Gostei extremamente	
<input type="checkbox"/> Gostei muito	
<input type="checkbox"/> Gostei moderadamente	
<input type="checkbox"/> Gostei ligeiramente	
<input type="checkbox"/> Nem gostei / nem desgostei	
<input type="checkbox"/> Desgostei ligeiramente	
<input type="checkbox"/> Desgostei moderadamente	
<input type="checkbox"/> Desgostei muito	
<input type="checkbox"/> Desgostei extremamente	

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

4.7 Análise estatística

O delineamento utilizado foi em parcelas subdividas no tempo, sendo considerado o tratamento como fator principal, e o tempo como subfator. A análise sensorial, a composição centesimal e o rendimento foram realizados em um só tempo, utilizado delineamento em blocos. Os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA), seguida do teste de Tukey com significância ($P < 0,05$) por meio do programa estatístico.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análises físico-químicas do leite Pasteurizado

A Tabela 4 apresenta os valores médios de composição físico-química encontrados para o leite utilizado nas fabricações dos queijos Minas Padrão de cada tratamento.

Tabela 4. Composição físico-química média do leite utilizado na fabricação dos queijos Minas Padrão (média \pm DP).

Análise	Tratamentos			
	3,1SF	3,1CF	2,5SF	2,5CF
Proteína%(m/v)	3,54 \pm 0,60 ^a	3,38 \pm 0,68 ^a	3,22 \pm 0,53 ^a	3,21 \pm 0,50 ^a
Gordura%(m/v)	3,1 \pm 0 ^a	3,1 \pm 0 ^a	2,5 \pm 0 ^b	2,5 \pm 0 ^b
Densidade a 15° C (g/mL)	1029,03 \pm 1,55 ^a	1029,30 \pm 1,77 ^a	1031,20 \pm 1,25 ^a	1029,73 \pm 1,76 ^a
pH	6,60 \pm 0,08 ^a	6,60 \pm 0,10 ^a	6,60 \pm 0,10 ^a	6,60 \pm 0,10 ^a
ESD%(m/v)*	8,22 \pm 0,35 ^a	8,54 \pm 0,38 ^a	8,47 \pm 0,20 ^a	8,20 \pm 0,43 ^a

a,b,c Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P > 0,05). 3,1SF – queijo sem fosfolipase com 3,1% de gordura no leite, 3,1CF- queijo com fosfolipase com 3,1% de gordura no leite, 2,5SF-queijo sem fosfolipase com 2,5% de gordura no leite e 2,5CF- queijo com fosfolipase com 2,5% de gordura no leite.

*ESD: Extrato seco desengordurado.

Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

A análise de variância (ANOVA) não indicou diferenças significativas (P>0,05) para os seguintes aspectos físico-químicos analisados: proteína, densidade, pH e extrato seco desengordurado. Isso pode ser justificado pelo fato de ter sido usado o leite oriundo no mesmo tanque de estocagem para os quatro tratamentos. As amostras do leite para análise de composição foram retiradas após a etapa de padronização da gordura, de acordo com o percentual desejado para cada tratamento.

Os teores de gordura apresentaram diferença significativa (P<0,05) devido à padronização da gordura do leite em função da variação dos tratamentos realizados durante o trabalho. De acordo com a Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018 (IN 76), os leites padronizados com teor de gordura de 3,1% (tratamentos 3,1 CF e 3,1SF) são classificados como integral e os padronizados a 2,5% (tratamentos 2,5CF e 2,5SF) como semidesnatado (BRASIL, 2018).

5.2 Análises físico-químicas do soro

A Tabela 5 apresenta os valores médios de composição físico-química encontrados para o soro de leite oriundo das fabricações dos queijos Minas Padrão de cada tratamento.

Tabela 5. Composição físico-química média do soro das fabricações de queijo Minas Padrão (média \pm DP).

Análise	Tratamentos			
	3,1SF	3,1CF	2,5SF	2,5CF
Proteína%(m/v)	0,87 \pm 0,34 ^a	0,93 \pm 0,16 ^a	0,99 \pm 0,20 ^a	0,91 \pm 0,05 ^a
Gordura%(m/v)	0,73 \pm 0,12 ^a	0,66 \pm 0,15 ^a	0,50 \pm 0,10 ^a	0,50 \pm 0,10 ^a
Densidade a 15°C (g/mL)	1026,80 \pm 1,08 ^a	1027,96 \pm 0,25 ^a	1026,83 \pm 0,68 ^a	1027,40 \pm 0,95 ^a
pH	6,56 \pm 0,06 ^a	6,50 \pm 0,00 ^a	6,50 \pm 0,17 ^a	6,43 \pm 0,31 ^a

a,b,c Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$). 3,1SF – queijo sem fosfolipase com 3,1% de gordura no leite, 3,1CF- queijo com fosfolipase com 3,1% de gordura no leite, 2,5SF- queijo sem fosfolipase com 2,5% de gordura no leite e 2,5CF- queijo com fosfolipase com 2,5% de gordura no leite.

Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

Não foi possível detectar diferença significativa ($P > 0,05$) na composição e características do soro dos quatro tratamentos testados devido à padronização da tecnologia de fabricação e da coleta das amostras, sendo retirada sempre no término da primeira mexedura de 20 minutos. Este resultado é semelhante ao trabalho realizado por Lilbaek *et al.*, (2006) e Trancoso-Reyes *et al.* (2014), que utilizaram a fosfolipase para fabricação dos queijos Mozzarella e Chihuahua respectivamente e também não observou diferença significativa ($P > 0,05$) na composição e características do soro quando comparou os tratamentos com adição de fosfolipase e controle.

Trancoso-Reyes *et al.* (2014), observaram diferença ($P > 0,05$) para o teor de gordura no soro somente no tratamento que utilizou fosfolipase combinada com cultura láctica produtora de exopolissacarídeo (EPS), no qual apresentou teor de gordura do soro inferior ao do tratamento controle.

Já Brito (2019), que trabalhou com queijo Minas Frescal, verificou diferença ($P > 0,05$) para o teor de gordura no soro. O tratamento com adição de enzima apresentou menor teor de gordura no soro quando comparado com tratamento controle. Esse resultado segundo o autor, pode ser explicado pela diferença na

tecnologia de fabricação dos queijos, que no caso do queijo Minas Frescal, apresenta grãos maiores o que pode ter intensificado a interação entre gordura e fosfolipase.

5.3 Análises dos queijos Minas Padrão.

5.3.1 Análises físico-químicas dos queijos Minas Padrão

A Tabela 6 apresenta os valores médios de composição centesimal encontrados para cada tratamento do queijo Minas Padrão com dois dias após fabricação.

Tabela 6. Composição centesimal dos queijos Minas Padrão produzidos com e sem adição de fosfolipase (média \pm DP).

Análise	Tratamentos			
	3,1SF	3,1CF	2,5SF	2,5CF
Umidade (%m/m)	45,05 \pm 1,37 ^a	45,16 \pm 2,84 ^a	46,15 \pm 2,43 ^a	47,32 \pm 4,04 ^a
Gordura (%m/m)	24,33 \pm 0,94 ^a	24,33 \pm 1,15 ^a	24,00 \pm 1,73 ^a	22,66 \pm 2,08 ^a
GES (%m/m)*	44,28 \pm 1,35 ^a	44,38 \pm 0,23 ^a	44,54 \pm 1,47 ^a	43,00 \pm 0,70 ^a
Proteína (%m/m)	26,66 \pm 3,34 ^a	28,07 \pm 2,84 ^b	31,75 \pm 1,27 ^c	29,38 \pm 1,50 ^b
Clorretos (%m/m)	0,82 \pm 0,16 ^a	0,71 \pm 0,13 ^a	0,71 \pm 0,13 ^a	0,86 \pm 0,12 ^a
pH	5,43 \pm 0,05 ^a	5,33 \pm 0,23 ^a	5,56 \pm 0,15 ^a	5,46 \pm 0,06 ^a

a,b,c Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$). 3,1SF – queijo sem fosfolipase com 3,1% de gordura no leite, 3,1CF-queijo com fosfolipase com 3,1% de gordura no leite, 2,5SF-queijo sem fosfolipase com 2,5% de gordura no leite e 2,5CF- queijo com fosfolipase com 2,5% de gordura no leite.

*GES - gordura no extrato seco

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) no teor de umidade, gordura, gordura no extrato seco e no pH (Tabela 6) entre os tratamentos. Resultado semelhante foi encontrado no trabalho de Trancoso-Reyes *et al.* (2014) que utilizaram a fosfolipase para fabricação de queijo Chihuahua. No entanto, Lilbaek *et al.* (2006) e Brito (2019) que trabalharam com queijo Mozzarella e Minas Frescal respectivamente, verificaram diferença para umidade ($P > 0,05$) com o uso da fosfolipase na fabricação dos queijos. O aumento da umidade é um resultado esperado quando se faz o uso da enzima, pois ao hidrolisar fosfolipídeos, ocorre um aumento da concentração de lisofosfolipídeos no meio, essa hidrólise modifica a membrana do glóbulo de gordura proporcionando uma maior retenção de gordura e

umidade na massa (HANSEN, 2017). Essas diferenças e semelhanças podem ser explicadas pela tecnologia de fabricação de cada queijo; no presente estudo, o ponto do queijo foi padronizado durante o processo de fabricação e não o tempo de fabricação, o que pode ter causado esse teor de umidade semelhante entre os tratamentos. Como o queijo foi fabricado em uma unidade industrial, o ponto da massa foi padronizado pelo queijeiro em todos os tratamentos. Possivelmente, se o tempo de fabricação fosse padronizado poderia ocorrer diferenças no teor de umidade entre os tratamentos, como observado na literatura por Lilbaek *et al.* (2006) e Brito (2019).

Apesar de não ter apresentado diferença significativa ($P>0,05$) no teor de umidade, os tratamentos que utilizaram leite com teor de gordura padronizado a 2,5% (m/v) (2,5 CF e 2,5 SF) não se enquadraram dentro do padrão estabelecido na Instrução Normativa nº 66, de 21 de julho de 2020 (IN66), que estabelece umidade mínima de 36,0g/100g e máxima de 45,9g/100g para queijo Minas Padrão (BRASIL, 2020). Possivelmente, o teor de umidade mais alto foi compensado pelo teor de gordura mais baixo dos queijos, quando o ponto da massa foi dado pelo queijeiro. Ou pela maior interação entre proteínas e gordura provocada pela ação da lipase.

O teor de gordura dos queijos foi semelhante entre os tratamentos ($P>0,05$). Como não foi encontrada diferença significativa ($P>0,05$) no teor de gordura no soro proveniente da fabricação dos queijos, este resultado já era esperado também para os queijos. No trabalho realizado por Trancoso-Reyes *et al.* (2014), o mesmo resultado foi observado com relação ao teor de gordura do soro e do queijo, que não apresentou diferença significativa ($P>0,05$) entre os tratamentos com adição de fosfolipase e controle. A diferença só foi observada no tratamento que utilizou fosfolipase combinada com cultura lática produtora de exopolissacarídeo (EPS) no qual o teor de gordura do queijo Chihuahua ficou maior que o controle, resultado inverso ao encontrado na análise do soro. Esses resultados foram divergentes ao de Brito (2019) que verificou menor teor de gordura no soro proveniente de queijos fabricados com adição de fosfolipase e não encontrou diferença significativa ($P>0,05$) para o teor de gordura no queijo. Este fato pode ser atribuído a complexibilidade da matriz do queijo Minas Frescal por sofrer influências de alguns fatores durante a produção ou possíveis variações no processo de produção.

Como não foram encontradas diferenças significativas ($P>0,05$) para os teores de umidade e gordura no queijo Minas Padrão, já era de se esperar o mesmo resultado para análise percentual de gordura no extrato seco (GES), que não apresentou diferença significativa também ($P>0,05$). Os valores encontrados estão de acordo com que preconiza a Instrução Normativa nº 66, de 21 de julho de 2020 (IN66), que estabelece teor de gordura no extrato seco de 42,0g/100g a 57,0g/100g.

Em relação ao teor de proteínas, houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos. No entanto, os tratamentos com adição de fosfolipase (3,1CF e 2,5CF) o teor de proteína foi semelhante. Isso pode ser explicado pelo fato dos fosfolípidos interagirem com as proteínas, formando complexos lisofosfolípido-caseína que agem como emulsionantes e evitam a ruptura dos glóbulos de gordura além de reduzir a sinérese (saída do soro) (HANSEN, 2017). Resultado semelhante foi encontrado por Trancoso-Reyes *et al.* (2014) que também encontrou aumento no teor de proteína no tratamento com adição da enzima fosfolipase no queijo Chihuahua.

Não houve diferença estatística ($P > 0,05$) na análise de cloretos em relação aos tratamentos avaliados. A salga do queijo Minas Padrão é realizada em salmoura e em todos os tratamentos os queijos permaneceram o mesmo tempo na salga com o mesmo teor de sal. Os resultados apresentados para umidade também pode ser um fator que contribuiu para não haver diferença significativa ($P > 0,05$) no teor de cloretos uma vez que a umidade interfere no teor de sal e pode causar impactos sobre as propriedades reológicas, o que pode afetar a textura do queijo (BANNWART; PINTO E SILVA; VIDAL, 2014).

Além de conferir sabor ao alimento, o cloreto também é considerado um conservante, interferindo na redução da atividade de água agindo assim como obstáculo para controlar o crescimento de patógenos e organismos de deterioração. No entanto, quando os níveis de sal nos alimentos são reduzidos, podem ser necessários outros conservantes para garantir a segurança do alimento (DOYLE; GLASS, 2010).

A análise para avaliar o potencial hidrogeniônico (pH) não apresentou diferença estatística ($P > 0,05$) entre os tratamentos, o que significa que o uso da fosfolipase não interferiu no pH do queijo Minas Padrão. O pH está relacionado com a fermentação da lactose presente no soro do queijo que é metabolizada pelas bactérias do fermento. Como os queijos não apresentaram diferença estatística ($P > 0,05$) para análise de umidade, o pH foi semelhante entre os tratamentos. Além disso, a dosagem do fermento foi padronizada durante a fabricação o que justifica os valores de pH dos tratamentos.

Os resultado encontrados neste trabalho estão semelhantes aos de Lilbaek *et al.* (2006), Trancoso-Reyes *et al.* (2014) e Brito (2019) que também não observaram diferença significativa de pH entre os tratamentos com e sem adição de fosfolipase. Vale lembrar que cada autor trabalhou um queijo diferente, Muzzarella, Chihuahua e Minas Frescal respectivamente.

5.3.2 Proteólise

A maturação consiste em uma série de processos que alteram a composição química dos queijos, que são responsáveis pelo desenvolvimento das características sensoriais e de textura específicas para cada tipo de queijo. O principal processo ocorrido durante a maturação é a proteólise que consiste em degradar a proteína. O índice de maturação é medido através da degradação da caseína (PERRY, 2004).

Para avaliar a evolução da proteólise, precisamos analisar o índice de extensão da proteólise (IEP), proteólise primária e o índice de profundidade de proteólise (IPP), proteólise secundária.

5.3.2.1 Índice de extensão de proteólise

O índice de extensão da proteólise (IEP), proteólise primária, está relacionado com as proteínas naturais do leite e a ação dos agentes coagulante sobre a caseína que degradam a proteína em peptídeos de alta massa molecular, os quais são liberados para fase aquosa do queijo. Esse efeito proteolítico é calculado através do nitrogênio solúvel em pH 4,6 pela razão entre o nitrogênio solúvel e o nitrogênio total, assim sendo é possível afirmar, que quanto maior a atividade proteolítica primária, mais peptídeos solúveis em pH 4,6 serão liberados da caseína (MALAGUTTI CORSATO et al., 2021). A Tabela 7 apresenta os resultados dessas análises realizadas entre os tratamentos.

Tabela 7. Índices de extensão e Profundidade de proteólise encontrado nos queijos Minas Padrão produzidos com e sem adição de fosfolipase (média \pm DP).

Índices	Tratamentos			
	3,1 SF	3,2 CF	2,5 SF	2,5 CF
IEP*	10,75 \pm 3,02 ^a	11,32 \pm 3,02 ^a	10,60 \pm 3,07 ^a	10,56 \pm 3,07 ^a
IPP**	6,72 \pm 1,75 ^a	7,63 \pm 2,25 ^a	6,99 \pm 1,92 ^a	6,76 \pm 2,11 ^a

^{a,b,c} Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P > 0,05). 3,1SF – queijo sem fosfolipase com 3,1% de gordura no leite, 3,1CF- queijo com fosfolipase com 3,1% de gordura no leite, 2,5SF-queijo sem fosfolipase com 2,5% de gordura no leite e 2,5CF- queijo com fosfolipase com 2,5% de gordura no leite.

*Índice de extensão da proteólise (IEP);

**Índice de profundidade de proteólise (IPP)

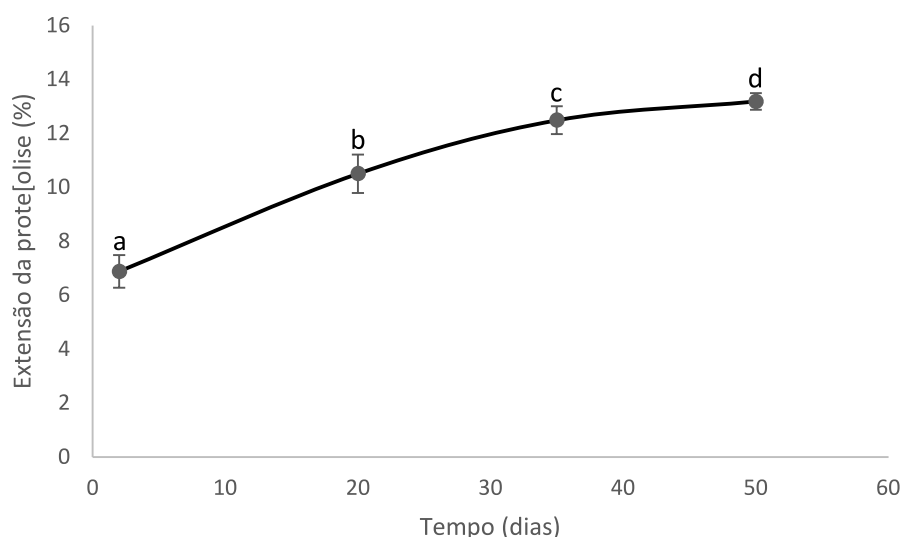
Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

Como apresentado na Tabela 7, não houve diferença significativa (P>0,05) entre os tratamentos para o índice de extensão de proteólise. De acordo com Corsato

et al.(2021) alguns fatores como pH do soro, pH e umidade do queijo; tempo e temperatura de maturação influenciam na atividade proteolítica, o que pode ter contribuído para o resultado apresentado uma vez que esses parâmetros citados anteriormente, não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$) e o tempo e temperatura de maturação foram os mesmos para todos os tratamentos.

No entanto, quando se trata da análise do índice de extensão de proteólise ao longo do tempo, houve diferença estatística significativa ($P < 0,05$). Como não foi observado diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos, podemos afirmar que a adição da fosfolipase não interferiu no índice de extensão da proteólise, portanto, esses resultados foram agrupados em uma única curva conforme apresentado na Figura 6.

Figura 6. Índice de extensão (%) da proteólise dos queijos Minas Padrão*
a,b,c Letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).



*Resultados expressos em médias dos tempos de maturação
Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Na avaliação geral, os resultados médios para extensão da proteólise dos queijos obtidos com e sem adição de fosfolipase apresentaram aumento gradativo ($P < 0,05$) ao longo do tempo de armazenamento. O resíduo de coagulante no período de maturação é o maior responsável pela proteólise primária do queijo, que provoca o aumento da degradação da matriz proteica. Durante a fabricação, a quantidade de coagulante foi padronizada para todos os tratamentos, isso pode explicar o resultado de não haver diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos (WOLFSCHOON-POMBO; LIMA, 1989).

Apesar do aumento gradativo ($P < 0,05$) em todos os tratamentos ao longo do tempo, é possível observar na Figura 6, que a curva é mais acentuada entre os dias 2 e 20. Após o dia 20 em que os queijos foram armazenados a 12-14 °C, a temperatura

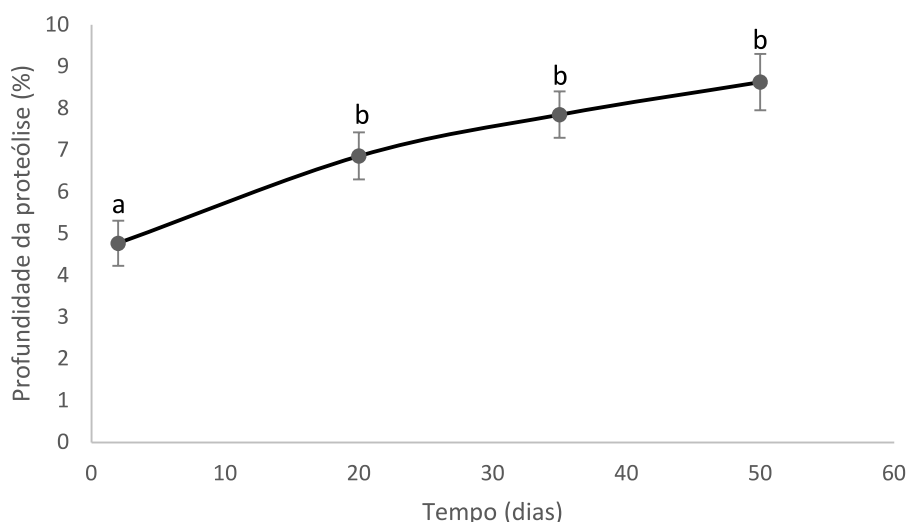
de armazenamento dos queijos foi reduzida para 4 °C, o que impactou na proteólise. Segundo (CORSATO *et al.*, 2021), as temperaturas mais elevadas potencializam o aumento da proteólise.

5.3.2.2 Índice de profundidade de proteólise

O índice de profundidade de proteólise (IPP), proteólise secundária, está relacionado principalmente com a atividades das culturas lácticas na fabricação de queijos e possíveis contaminantes que degradam os peptídeos de alta massa molecular em peptídeos de baixa massa molecular. Esse efeito proteolítico é calculado pela razão entre o nitrogênio solúvel em ácido tricloroacético a 12% (NS TCA 12%) e o nitrogênio total (WOLFSCHOON-POMBO; LIMA, 1989).

Como apresentado na Tabela 7 não houve diferença estatística significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos para o índice de profundidade da proteólise, porém ao longo do tempo, os resultados apresentam diferenças significativas ($P > 0,05$). Como não foi observado diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos, podemos afirmar que a adição da fosfolipase não interferiu no índice de profundidade da proteólise, esses resultados foram agrupados em uma única curva conforme apresentado na Figura 7.

Figura 7. Índice de profundidade (%) da proteólise dos queijos Minas Padrão*
a,b,c Letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).



*Resultados expressos em médias dos tempos de maturação
Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Observa-se que o índice de extensão da proteólise apresentou um crescimento gradativo significativo ($P < 0,05$) entre todos os tempos durante o período de maturação. Já o índice de profundidade da proteólise só teve aumento significativo ($P < 0,05$) em

um único tempo 20 dias. Após esse período, não foi observado diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tempos. Este resultado pode ser explicado pelo fato dos queijos não terem apresentado diferença significativa ($P < 0,05$) para teor de umidade, pela padronização do fermento e coagulante durante o processo de fabricação e pelo fato da temperatura de maturação do queijo ter sido reduzida após o tempo de 20 dias.

Esses resultados corroboram com a relação de cada índice de proteólise. O índice de extensão está relacionado com a ação do coagulante e os resultados apresentados foram gradativos durante todos os tempos de análises, pois a ação proteolítica de corrente do resíduo de coagulante é mais intensa e atua primeiramente sob as caseínas, degradando-as em pequenos peptídeos solúveis e de alta massa molecular (WOLFSCHOON-POMBO; LIMA, 1989)

Já o índice de profundidade está relacionado com ação proteolítica das enzimas produzidas pelo fermento sob os compostos nitrogenados gerados na proteólise primária, gerando substâncias de baixa massa molecular. Este resultado afirma a importância do tempo mínimo de maturação preconizado pela Instrução Normativa nº 66, de 21 de julho de 2020 (IN 66), que estabelece tempo mínimo de 20 dias de maturação em temperaturas máxima e mínima entre 10°C a 16°C respectivamente para queijo Minas Padrão (BRASIL, 2020; WOLFSCHOON-POMBO; LIMA, 1989).

5.4 Rendimento

O rendimento do queijo pode variar em média de 9 a 15% em virtude de diversos fatores, tais como, composição química do leite, pasteurização, perdas dos constituintes da matéria-prima no soro, tipos de insumos utilizados, processos de fabricação além da umidade do produto final (FARKYE, 2004). A Tabela 8 apresenta os rendimentos atual (kg de queijo/100 kg de leite), rendimento ajustado (kg de queijo/100 kg de leite), recuperação de proteína do leite para o queijo (%) e recuperação de gordura do leite para o queijo (%) nos 4 tratamentos.

Tabela 8. Rendimentos atual (kg queijo/100 kg de leite), ajustado (RAJ) (kg queijo/100 kg de leite), recuperação de proteína do leite para o queijo (%) (RPTN), recuperação de Gordura (RG) do leite para o queijo (%) produzidos por 4 diferentes tratamentos.

Rendimentos	Tratamentos			
	3,1 SF	3,1 CF	2,5 SF	2,5 CF
Atual	10,00 ± 0,65 ^a	10,32 ± 0,75 ^a	9,52 ± 0,70 ^a	9,96 ± 0,19 ^a
RAJ	10,03 ± 0,91 ^a	10,35 ± 0,99 ^b	9,38 ± 0,97 ^c	9,55 ± 0,71 ^a
RPTN	77,55 ± 7,33 ^a	77,63 ± 2,30 ^a	77,19 ± 3,34 ^a	77,99 ± 1,37 ^a
RG	78,57 ± 4,13 ^a	80,67 ± 4,95 ^a	83,54 ± 2,10 ^a	83,39 ± 3,03 ^a

^{a,b,c} Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$). 3,1SF – queijo sem fosfolipase com 3,1% de gordura no leite, 3,1CF- queijo com fosfolipase com 3,1% de gordura no leite, 2,5SF-queijo sem fosfolipase com 2,5% de gordura no leite e 2,5CF- queijo com fosfolipase com 2,5% de gordura no leite. Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 8, não houve diferença significativa ($P < 0,05$) para o rendimento atual de queijo Minas Padrão fabricados com e sem adição de fosfolipase.

Quanto ao rendimento ajustado, os queijos dos tratamentos 3,1SF e 2,5CF foram semelhantes, ou seja, foi possível obter o mesmo rendimento no queijo fabricado com 3,1% (m/v) de gordura no leite e no queijo fabricado com 2,5% (m/v) de gordura no leite, sem alterar seu teor de umidade e GES. Isso se torna um ganho para a indústria que pode utilizar esse creme para um outro produto como manteiga, sem perda das características do queijo.

Também houve um aumento de 3,2% no rendimento do tratamento 3,1CF quando comparado com o tratamento 3,1SF, o que é compatível com os resultados citados na literatura. Lilbaek *et al.*, (2006) que trabalhou com o queijo Mozzarella, verificou um rendimento de 32% superior ao rendimento da fabricação controle, já para Brito (2019) que testou o queijo Minas Frescal, o aumento foi de 3,38% quando a enzima foi utilizada. Ambos relatam o efeito da umidade dos queijos fabricados com enzima que tendem ter um maior percentual de umidade quando comparado com o queijo sem adição de fosfolipase.

5.4.1 Recuperação de constituintes do leite para os queijos

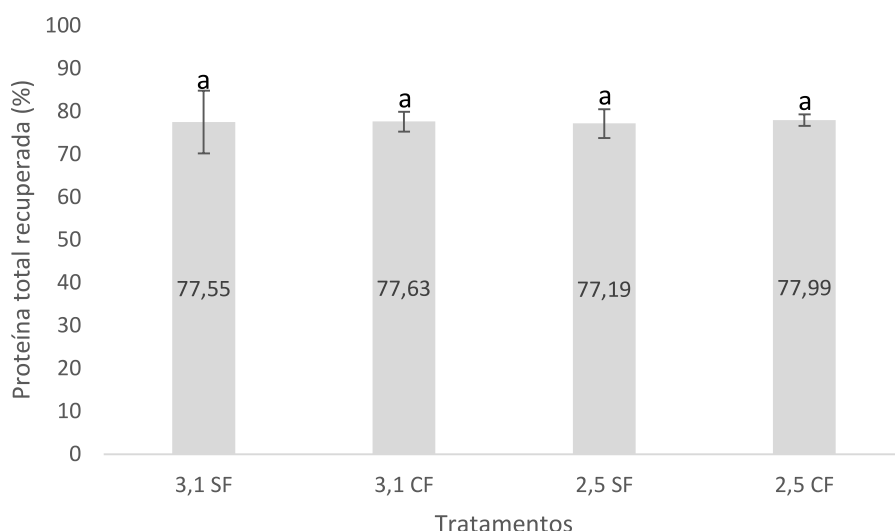
Quando falamos de rendimento, a proteína e a gordura são os constituintes do leite mais interessante durante o processo de produção. As proteínas em especial a

caseína são responsáveis pela coagulação e aprisionamento dos demais constituintes na coalhada e a gordura auxilia no sabor e consistência do queijo. A eficiência no processo de produção do queijo é definida pelas recuperações dos componentes do leite na coalhada e suas perdas no soro do leite (BANKS, 2007).

A recuperação de componentes do leite para o queijo estão expostos na Figura 8, que apresenta a recuperação de proteínas do leite para o queijo e na Figura 9, que apresenta a recuperação de gordura do leite para o queijo.

Figura 8. Recuperação de proteína do leite para o queijo*.

a,b,c Letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$). 3,1SF – queijo sem fosfolipase com 3,1% de gordura no leite, 3,1CF- queijo com fosfolipase com 3,1% de gordura no leite, 2,5SF-queijo sem fosfolipase com 2,5% de gordura no leite e 2,5CF- queijo com fosfolipase com 2,5% de gordura no leite.



*Resultados expressos em média.

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

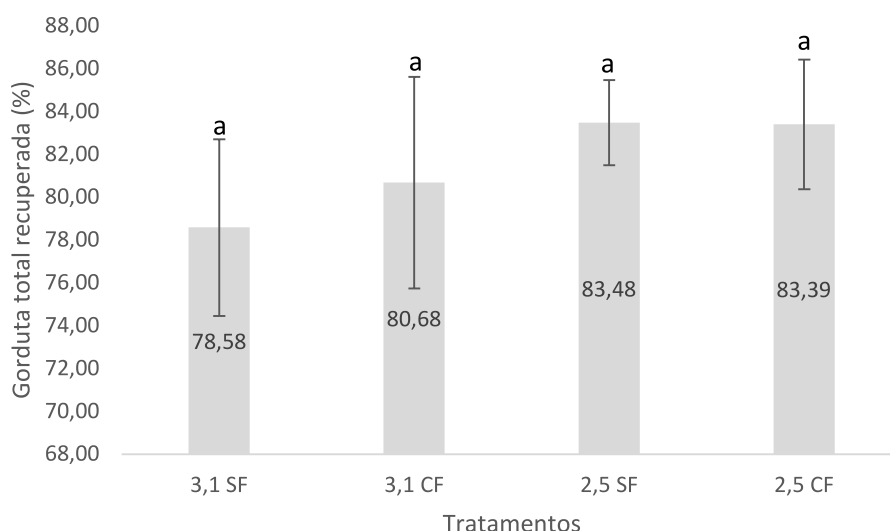
Apesar dos queijos terem apresentado diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos para análise de proteínas, não foi observado diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos para recuperação de proteína do leite para o queijo. Quando é avaliada a recuperação de constituintes, verifica-se a quantidade percentual de proteínas do leite que foram aproveitadas no queijo, já a composição centesimal avalia o valor total de proteína presente nos queijos.

Apesar de não mencionar a análise de recuperação de proteína, Lilbaek *et al.*, (2006) que trabalhou com o queijo Mozzarella, não obteve diferença significativa ($P > 0,05$) para análises de proteína no queijo e concluiu que o enriquecimento do leite com leiteiro combinado com uso de fosfolipídios, pode facilitar não só a retenção de gordura, mas também a retenção de proteínas na coalhada do queijo e

consequentemente o aumento do rendimento.

Figura 9. Recuperação de gordura do leite para o queijo (%)*

a,b,c Letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$). 3,1SF – queijo sem fosfolipase com 3,1% de gordura no leite, 3,1CF- queijo com fosfolipase com 3,1% de gordura no leite, 2,5SF-queijo sem fosfolipase com 2,5% de gordura no leite - 2,5CF- queijo com fosfolipase com 2,5% de gordura no leite.



*Resultados expressos em média.

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Em relação à gordura, observa-se na Figura 9 resultados semelhantes à recuperação de proteína, uma vez que a recuperação de gordura do leite para o queijo não diferiu significativamente ($P < 0,05$) entre os tratamentos. Mesmo trabalhando teores diferentes de gordura no leite (3,1% e 2,5%) utilizado para a fabricação, as análises para teor de gordura do soro e do queijo não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos. Resultado semelhante a de Trancoso-Reyes et al., (2014), que também não obteve diferença significativa ($P > 0,05$) em relação as análises de teor de gordura do soro e do queijo quando comparou os tratamentos com adição de fosfolipase e controle. O autor não relatou em seu trabalho análises de recuperação de constituintes do leite para o queijo Chihuahua.

Divergente dos resultados encontrados, muitos trabalhos atribuem o uso da fosfolipase ao aumento do rendimento através da retenção de umidade e gordura na coalhada, como é o caso de Lilbaek *et al.*, (2006) que trabalhou com o queijo Mozzarella e Brito (2019) que testou o queijo Minas Frescal, porém não mencionam as análises de recuperação de constituintes do leite para o queijo em seus trabalhos.

Essas diferenças e semelhanças podem ser explicadas pela tecnologia de fabricação de cada queijo. O presente estudo utilizou o leite proveniente do mesmo tanque de estocagem, padronizando apenas o teor de gordura (2,5% e 3,1%) de acordo com cada tratamento. O processo de fabricação foi padronizado pelo ponto da coalhada

e não pelo tempo da segunda mexedura, além do ponto, também foram padronizados teores de cloreto de cálcio, fermento e coagulante.

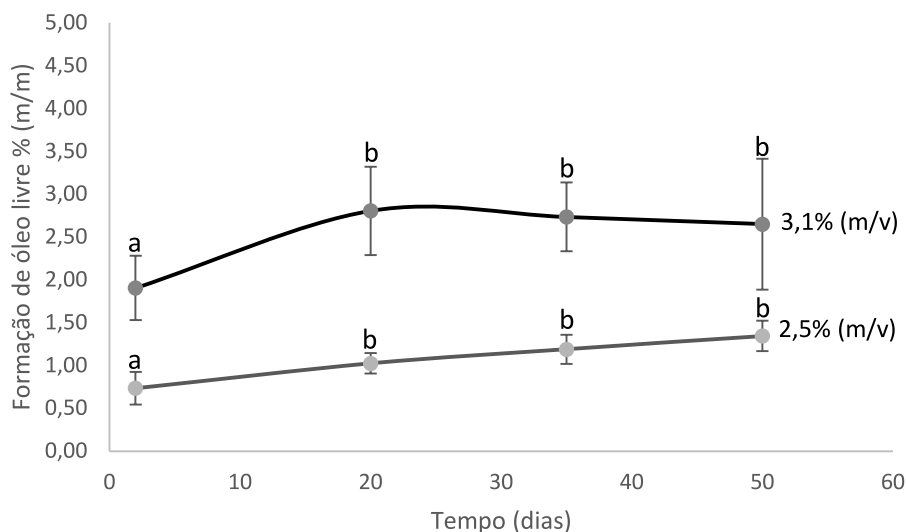
5.5 Formação de óleo livre

Quando o queijo é submetido a aquecimento acontece o rompimento da matriz proteica permitindo que os glóbulos de gordura se unam e fiquem visíveis na superfície. Essa propriedade está relacionada com o teor de gordura do queijo, quando o teor de gordura é baixo apresentam grandes glóbulos de lipídeos espalhados separadamente em uma densa rede de caseína, o que não é suficiente para romper a matriz proteica quando submetido ao aquecimento (GARCÍA GAC Y PENNA BAL, 2010).

Apesar de não haver diferença estatística significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos quanto ao teor de gordura dos queijos, a formação de óleo livre diferiu significativamente ($P < 0,05$) entre os tratamentos que usaram diferentes teor de gordura do leite durante o processo de fabricação. Os queijos produzidos com o leite padronizado com teor de gordura 3,1% (m/v) apresentaram maior liberação de óleo quando comparados aos queijos produzidos com leite padronizado com teor de gordura 2,5% (m/v), ou seja, os queijos produzidos com o leite com maior teor de gordura liberaram mais óleo livre. Este resultado é justificado pois a enzima atua hidrolisando os fosfolipídeos da membrana dos glóbulos de gordura, gerando um composto (lisofosfolípide) altamente emulsificante que interage com as caseínas, portanto os resultados foram semelhantes entre os tratamentos com o mesmo teor de gordura do leite.

A adição da fosfolipase não interferiu na formação de óleo livre, pois não houve diferença estatística significativa ($P > 0,05$) quando comparamos os tratamentos com mesmo teor de gordura do leite, com e sem adição de fosfolipase. Esses resultados foram agrupados em duas curvas conforme apresentado na Figura 10.

Figura 10. Formação de óleo livre em %(m/m) dos queijos Minas Padrão de acordo com teor de gordura do leite e adição de fosfolipase durante o período de maturação*.



*Resultados expressos em médias dos tempos de maturação
Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Quanto a formação de óleo livre ao longo do tempo, houve diferença estatística significativa ($P > 0,05$) para análise no tempo de 2 dias, onde a formação de óleo livre foi menor quando comparado com os tempos de 20, 35 e 50 dias, que não apresentou diferença significativa ($P > 0,05$) entre si. Este aumento na liberação de óleo livre, tem relação com a maturação dos queijos, pois ao decorrer do armazenamento acontece o aumento nos níveis de extensão da proteólise (CHIESA et al., 2011).

5.6 Análise do Perfil de textura

Textura, sabor e aparência são os principais atributos para um alimento ser aceito pelo consumidor, essas características que vão influenciar na escolha dos produtos alimentícios. A textura é definida como o conjunto de propriedades mecânicas, geométricas e de superfície de um produto, é perceptível pelo tato, visão e audição. As propriedades mecânicas envolve alguns parâmetros como dureza, adesividade, coesividade, elasticidade e mastigabilidade, estes parâmetros estão relacionadas com a reação do produto, à força e pressão (ABNT, 2017).

A médias encontradas para entre os tratamentos para esses parâmetros estão descritas na Tabela 9.

Tabela 9. Análises do perfil de texturadosqueijos Minas Padrão (média \pm DP).

Perfil de textura	Tratamentos			
	3,1 SF	3,1 CF	2,5 SF	2,5 CF
Dureza (N)	22,97 \pm 8,77 ^a	23,41 \pm 7,08 ^a	22,96 \pm 9,95 ^a	26,10 \pm 11,75 ^a
Adesividade (J)	0,0006 \pm 0,0 ^a	0,0006 \pm 0,00 ^a	0,0005 \pm 0,00 ^a	0,0004 \pm 0,00 ^a
Coesividade	0,72 \pm 0,02 ^a	0,72 \pm 0,04 ^a	0,75 \pm 0,02 ^a	0,74 \pm 0,03 ^a
Elasticidade (MM)	5,05 \pm 0,15 ^a	4,97 \pm 0,17 ^a	5,06 \pm 0,15 ^a	5,05 \pm 0,11 ^a
Mastigabilidade (N)	0,08 \pm 0,03 ^a	0,08 \pm 0,03 ^a	0,08 \pm 0,04 ^a	0,09 \pm 0,04 ^a

^{a,b,c} Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$). 3,1SF – queijo sem fosfolipase com 3,1% de gordura no leite, 3,1CF-queijo com fosfolipase com 3,1% de gordura no leite, 2,5SF-queijo sem fosfolipase com 2,5% de gordura no leite - 2,5SF e 2,5CF- queijo com fosfolipase com 2,5% de gordura no leite.

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

5.6.1 Dureza

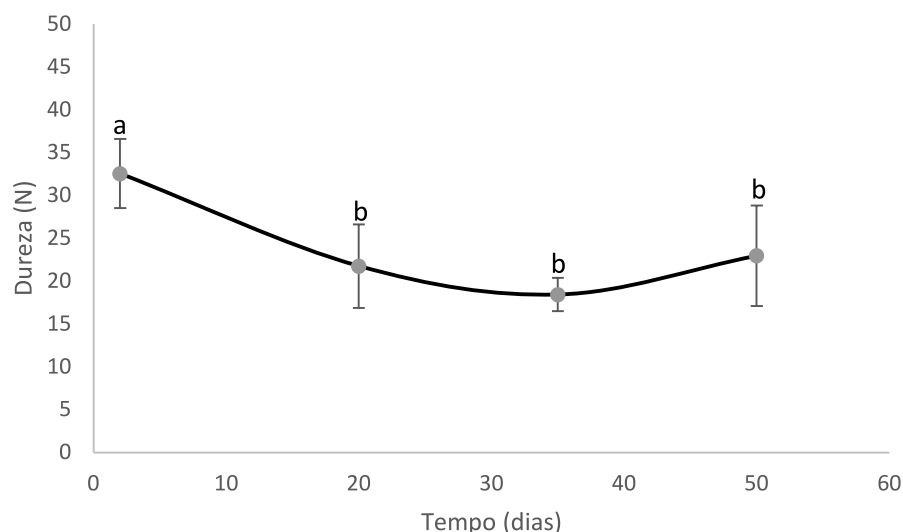
A dureza está relacionada com a força necessária para alcançar determinada deformação em um produto. No queijo, ela pode aumentar à medida que a matriz proteica se torna mais rígida. Essa matriz é formada por caseína e micelas e é responsável pela estrutura dos queijos, o cálcio ajuda manter essa estrutura estável. À medida que se adiciona mais proteínas e cálcio ou diminui o teor de gordura, os demais componentes se concentram gerando ligações proteicas mais rígidas, o que pode gerar maior rigidez no queijo (PASTORINO et al,2003).

Não houve diferença estatística significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos, as médias de dureza encontradas nos queijos Minas Padrão estão descritas na Tabela 9. Esse resultado pode ser explicado pelo fato dos teores de umidade entre os tratamentos terem sido semelhantes ($P > 0,05$) assim como a proteólise, pois esses dois fatores interferem na dureza dos queijos. Outro parâmetro que interfere na dureza é a gordura dos queijos, que também foram semelhantes entre os tratamentos. Portanto a adição da fosfolipase em queijos fabricados com diferente teor de gordura não interferiu no parâmetro dureza.

Considerando-se que os tratamentos não apresentaram diferenças significativas e que os modelos ajustaram-se adequadamente, eles foram agrupados em uma só curva. A Figura 11 apresenta os valores médios de dureza encontrados para cada tratamento do queijo Minas Padrão ao longo do período de maturação.

Figura 11. Dureza (N) dos queijos Minas Padrão com e sem adição de fosfolipase durante o período de maturação*

a,b,c Letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).



*Resultados expressos em médias dos tempos de maturação

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Os resultados apresentados na Figura 11 corroboram com a relação da análise de proteólise com o parâmetro dureza, pois as análises apresentaram diferença estatística significativa ($P < 0,05$) ao longo do tempo. A dureza ficou maior na análise com 2 dias e não apresentou diferença significativa ($P > 0,05$) nas análises 20, 35 e 50 dias. Esse resultado demonstra a importância do tempo de maturação determinado para o queijo Minas Padrão (mínimo de 20 dias) pela legislação, tornando os queijos macios.

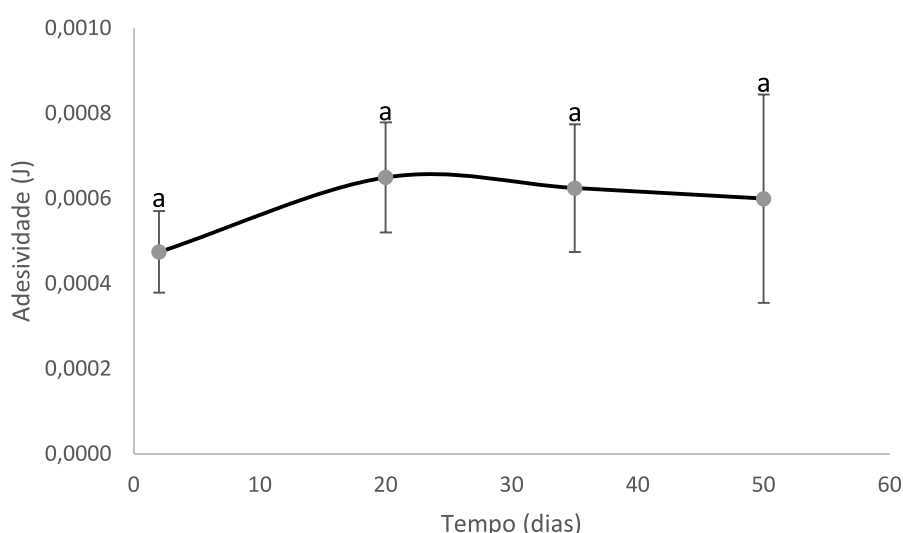
Divergente dos resultados encontrados, Trancoso-Reyes et al, (2014), apresentaram em seu trabalho, diferença significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos para o parâmetro dureza, onde o queijo controle apresentou uma média maior, diferindo-se estatisticamente ($P > 0,05$) em relação aos outros tratamentos. Segundo o autor, a textura mais macia pode ser explicada pelas alterações nos componentes do queijo como por exemplo o aumento da umidade em queijos que foram produzidos com cultura lática produtora de exopolissacarídeo (EPS) e a relação proteína- gordura em queijos produzidos com PL-A1. Além desses fatores, o pH mais ácido e um baixo teor de cinzas contribuíram para que o queijo ficasse mais macio, acredita-se que o pH mais ácido aumenta a solubilização do cálcio e o teor de umidade, resultando em diminuição da dureza.

5.6.2 Adesividade

A adesividade é relativa a força requerida para remover o material que adere a boca ou a um substrato. Esse grau de aderência é influenciado pela proteólise que libera água e gordura da rede proteica (PASTORINO et al,2003).

As médias de adesividade encontradas nos queijos estão expostas na tabela 9. Não houve diferença estatística significativa ($P>0,05$) entre os tratamentos e nem ao longo do tempo. Considerando-se que os tratamentos não apresentaram diferenças significativas e que os modelos ajustaram-se adequadamente, eles foram agrupados em uma só curva. A Figura 12 apresenta os valores médios de adesividade encontrados para cada tratamento do queijo Minas Padrão ao longo do período de maturação.

Figura 12. Adesividade (J) dos queijos Minas Padrão com e sem adição de fosfolipase. a,b,c Letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).



*Resultados expressos em médias dos tempos de maturação
Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

A adesividade do queijo pode ser influenciada por qualquer coisa que altere a capacidade das proteínas interagirem com a água ou outras proteínas, assim a proteólise e a umidade são fatores que influenciam intensamente nesse aspecto (PASTORINO et al.,2003).

A umidade e o índice de proteólise não apresentaram diferença significativa ($P>0,05$) entre os tratamentos. Como os queijos foram maturados embalados, não houve perda de umidade durante a maturação, esse fatores podem ter contribuído para os resultados observados neste trabalho para os parâmetros de adesividade.

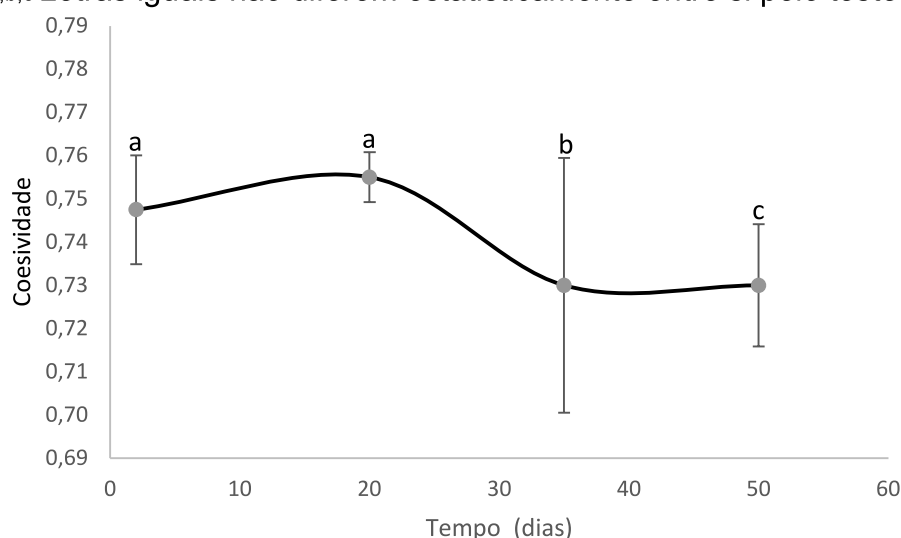
5.6.3 Coesividade

A coesividade é a extensão limite até ao qual o material pode se deformar antes de quebrar. A coesão aumenta à medida que o tempo de maturação avança (TOBÓN et al., 2004).

As médias de coesividade encontradas nos queijos Minas padrão estão dispostas na Tabela 9. Não houve diferença estatística significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos. Observa-se que a adição de fosfolipase não afetou significativamente ($P > 0,05$) a coesividade do queijo.

Trancoso-Reyes et al., (2014), apresentaram em seu trabalho, resultados semelhantes sem diferença significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos para o parâmetro coesividade.

Figura 13. Coesividade dos queijos Minas Padrão com e sem adição de fosfolipase. a,b,c Letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).



Resultados expressos em médias dos tempos de maturação

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Como podemos observar na Figura 13 ocorreu uma queda significativa ($P > 0,05$) no parâmetro coesividade ao longo da maturação. Essa diminuição é observada após o tempo de 20 dias que é o período mínimo de maturação exigido pela legislação para o queijo Minas Padrão. Durante a maturação, o queijo ficou armazenado em câmara com temperatura de 12 a 14 °C, após esse período os queijos foram armazenado em câmaras com temperatura entre 2 e 4°C.

De acordo com AYYASH & SHAH (2010) o decréscimo da coesividade no decorrer do período de armazenamento possivelmente se deve a redução do Ca e gordura no queijo e ao aumento da proteólise. Nesse experimento a extensão da proteólise aumentou gradativamente em todo o período de maturação

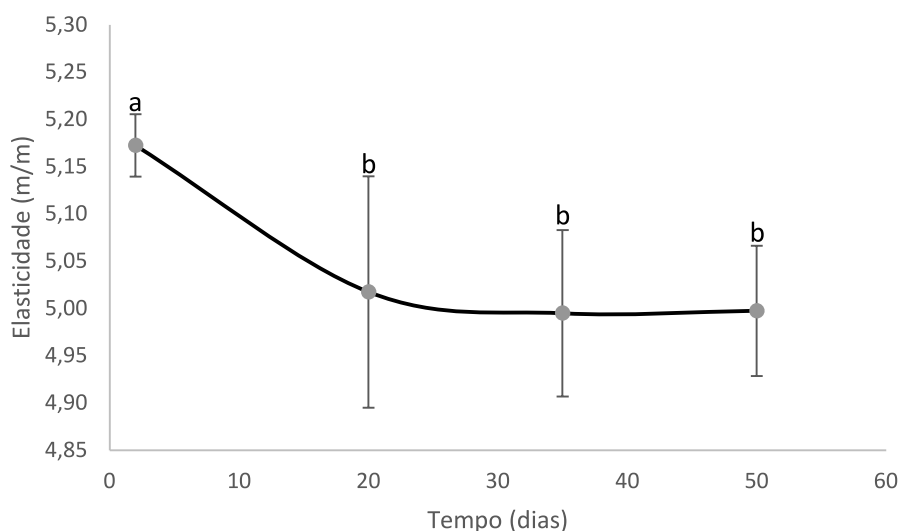
5.6.4 Elasticidade

As médias de elasticidade encontradas nos queijos Minas Padrão estão apresentadas na Tabela 9. Não houve diferença estatística significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos. Observa-se que a adição de fosfolipase não afetou significativamente ($P > 0,05$) a coesividade do queijo. Considerando-se que os tratamentos não apresentaram diferenças significativas e que os modelos ajustaram-se adequadamente, eles foram agrupados em uma só curva. A Figura 14 apresenta os valores médios de elasticidade encontrados para cada tratamento do queijo Minas Padrão ao longo do período de maturação.

Trancoso-Reyes et al., (2014), apresentaram em seu trabalho, resultados semelhantes, onde não foram encontradas diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os tratamentos para o parâmetro elasticidade.

Figura 14. Elasticidade (m/m) dos queijos Minas Padrão com e sem adição de fosfolipase durante o período de maturação*

a,b,c Letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).



Resultados expressos em médias dos tempos de maturação
Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Os resultados apresentados na Figura 14, mostraram diferença estatística significativa ($P < 0,05$) ao longo do tempo para elasticidade que teve uma média maior no tempo 2 dias e não apresentou diferença significativa ($P > 0,05$) nas análises 20, 35 e 50 dias. A redução da elasticidade está relacionada com a proteólise primária que provoca redução da firmeza e, conseqüentemente, na elasticidade dos queijos e a proteólise secundária que resulta na quebra proteolítica da matriz proteica. O presente trabalho apresentou índices de proteólises crescente o que indica ação das

proteínases sobre a matriz proteica do queijo, levando à fragilização das mesma (KAVAK; KARABIYIK, 2020).

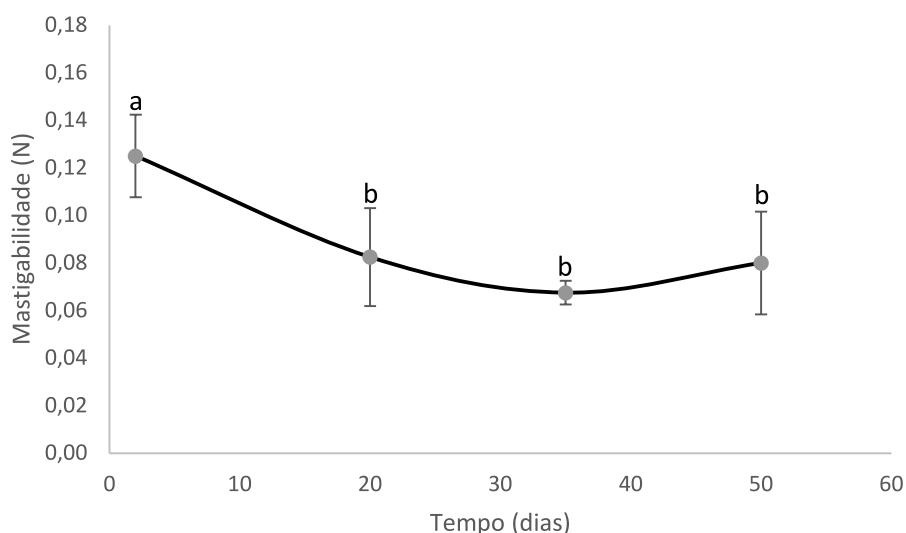
5.6.5 Mastigabilidade

Mastigabilidade é a quantidade de trabalho necessário para mastigar uma amostra sólida até o ponto de engoli-la. Ela está relacionada com os parâmetros de elasticidade, coesividade e dureza. Quanto mais maturado o queijo, mais energia é necessária para mastigar, isso devido ao aumento da dureza e da coesão na mesma proporção (TOBÓN et al., 2004).

As médias de mastigabilidade encontradas nos queijos Minas Padrão estão dispostas na Tabela 9. Não houve diferença estatística significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos. Observa-se que a adição de fosfolipase não afetou significativamente ($P > 0,05$) a coesividade do queijo. Considerando-se que os tratamentos não apresentaram diferenças significativas e que os modelos ajustaram-se adequadamente, eles foram agrupados em uma só curva. A Figura 15 apresenta os valores médios de mastigabilidade encontrados para cada tratamento do queijo Minas Padrão ao longo do período de maturação.

Figura 15. Mastigabilidade (N) dos queijos Minas Padrão com e sem adição de fosfolipase durante o período de maturação*

a,b,c Letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).



*Resultados expressos em médias dos tempos de maturação
Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Ao longo do tempo pode-se observar diferença significativa ($P < 0,05$) para mastigabilidade, sendo que a análise realizada no dia 2 apresentou maior média, as análises realizadas nos dias 20, 35 e 50 não apresentaram diferença significativa

($P < 0,05$) entre si. Este resultado era esperado uma vez que o parâmetro mastigabilidade está relacionado com a elasticidade, coesividade e dureza.

Trancoso-Reyes et al., (2014), apresentaram em seu trabalho resultados contrários ao presente estudo quanto ao parâmetro mastigabilidade entre os tratamentos. Os queijos Chihuahua que foram produzidos com adição de PL-A1 apresentaram redução significativa ($P > 0,05$) no parâmetro mastigabilidade. O autor afirma que esses resultados eram esperados pois estão de acordo com os resultados apresentados para os parâmetro elasticidade, coesividade e dureza.

Em nenhum dos parâmetros avaliados para perfil de textura foi observada diferença significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos o que indica que a adição da fosfolipase em queijos fabricados com teores de gorduras 3,1% e 2,5% não interferiram no perfil de textura, possivelmente por causa do teor de umidade dos queijos que foi semelhante entre os tratamentos.

5.7 Análise instrumental da cor

A cor é um aspecto visual importante durante a escolha do alimento, muitas das vezes ela está relacionada com a qualidade do produto. Em queijos, os parâmetros de cor são utilizados para avaliar o processo de maturação em função do tempo, além disso, está relacionada ao teor de gordura e degradação da proteína (GARCÍA GAC Y PENNA BAL, 2010).

Na avaliação da cor, o valor L^* indica a luminosidade e a capacidade de um objeto de refletir ou transmitir luz. Os valores de L^* encontrados nos queijos Minas Padrão, que em uma escala de 0 (preto) a 100 (branco) indicam a luminosidade, estão dispostos na Tabela 10 e não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos ($P > 0,05$), isso significa que o uso da fosfolipase em queijos fabricados com teores de gordura de 3,1 e 2,5 não influenciou a cor L^* da cor dos queijos

Tabela 10. Análise instrumental da cor dos queijos Minas Padrão (média \pm DP).

Cor	Tratamentos			
	3,1 SF	3,1 CF	2,5 SF	2,5 CF
Cor L^* *	81,54 \pm 3,05 ^a	82,22 \pm 2,98 ^a	80,99 \pm 3,18 ^a	81,22 \pm 3,69 ^a
Cor a^* **	1,62 \pm 0,47 ^a	1,48 \pm 0,57 ^a	1,36 \pm 0,37 ^a	1,18 \pm 0,45 ^a
Cor b^* ***	23,85 \pm 3,30 ^a	22,46 \pm 3,19 ^a	22,95 \pm 2,90 ^a	22,82 \pm 3,59 ^a

^{a,b,c} Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$). 3,1SF – queijo sem fosfolipase com 3,1% de gordura no leite, 3,1CF-queijo com fosfolipase com 3,1% de gordura no leite, 2,5SF-queijo sem fosfolipase com

2,5% de gordura no leite - 2,5SF e 2,5CF- queijo com fosfolipase com 2,5% de gordura no leite.

Cor L - luminosidade

**Cor a* - verde (-100) e vermelha (+100)

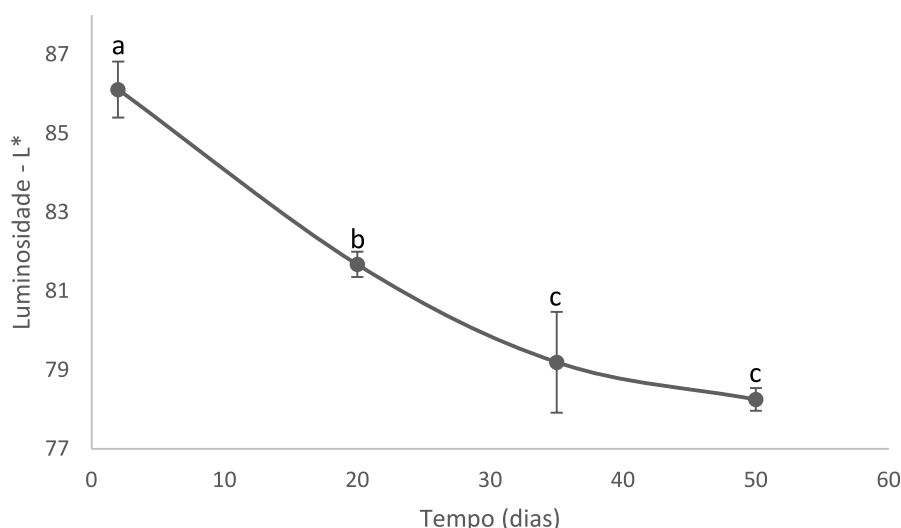
***Cor b* - azul (-100) e amarelo (+100)

Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

. Considerando-se que os tratamentos não apresentaram diferenças significativas e que os modelos ajustaram-se adequadamente, eles foram agrupados em uma só curva. (Figura16).

Figura 16. Comportamento da cor dos queijos Minas Padrão, ao longo da maturação, para o parâmetro de cor L*.*

a,b,c Letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).



*Resultados expressos em média dos tempos de maturação.

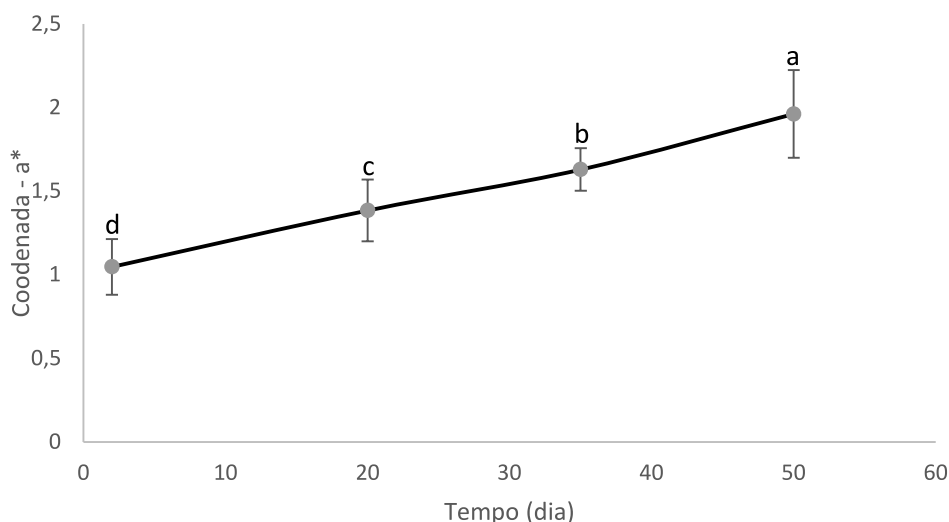
Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

A Figura 16 apresenta um decréscimo significativo ($P > 0,05$) nas médias e consequentemente queijos mais escuros para a cor L* durante o período de maturação entre os dias 2, 20 e 35. Durante o processo de maturação acontecem varias alterações nas características dos queijos causadas por reações bioquímicas que podem influenciar inclusive na coloração (SOBRAL et al., 2016).

De acordo com a escala CIELAB, um aumento positivo ou negativo no valor de a* corresponde a um aumento na proporção das cores verde (-100) e vermelha (+100). Como apresentada na Tabela 10 os valores foram positivos quando se trata da cor a*, esse resultado representa a intensidade da cor vermelha. Em relação aos tratamentos, não ocorreu diferença significativa ($P > 0,05$) o que afirma que o uso da fosfolipase não interferiu na cor a* do queijo Minas Padrão. Considerando-se que os tratamentos não apresentaram diferenças significativas e que os modelos ajustaram-se adequadamente, eles foram agrupados em uma só curva. (Figura17)

Figura 17. Comportamento da cor dos queijos Minas Padrão, ao longo da maturação, para o parâmetro de cor a^* .*

a,b,c Letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).



*Resultados expressos em média dos tempos de maturação.

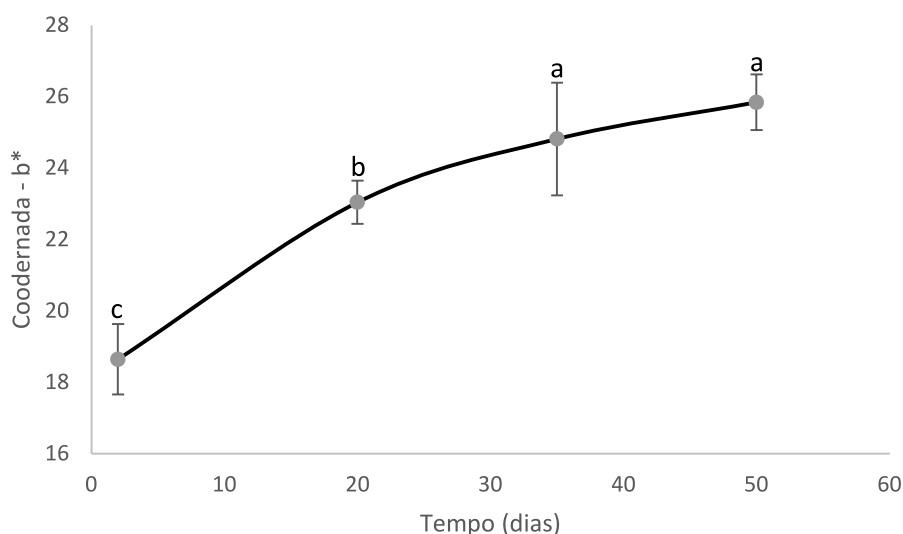
Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Quando se trata da avaliação da cor a^* durante o período de maturação, os valores das médias continuaram positivos tendendo para intensidade da cor vermelha, houve diferença significativa ($P > 0,05$) ao longo do tempo e os valores aumentaram gradativamente conforme apresentado na Figura 17. Estes resultados estão de acordo com esperado, uma vez que a análise de cor está relacionada com a proteólise que também apresentou aumento gradativo significativo ($P > 0,05$) ao longo do tempo (GARCÍA GAC Y PENNA BAL, 2010).

De acordo com a escala CIELAB, o valor b^* representa a variação de azul (-100) a amarelo (+100). Como apresentada na Tabela 10 os valores foram positivos quando se trata da cor b^* , esse resultado representa a intensidade da cor amarela. Em relação aos tratamentos, não ocorreu diferença significativa ($P > 0,05$) portanto o uso da fosfolipase não interferiu na cor b^* do queijo Minas Padrão. Considerando-se que os tratamentos não apresentaram diferenças significativas e que os modelos ajustaram-se adequadamente, eles foram agrupados em uma só curva. (Figura18)

Figura 18. Comportamento da cor dos queijos Minas Padrão, ao longo da maturação, para o parâmetro de cor b^* . *

a,b,c Letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).



*Resultados expressos em média dos tempos de maturação
Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Como apresentado na Figura 18, quando se trata da avaliação da cor b^* durante o período de maturação, os valores das médias continuaram positivos tendendo para intensidade da cor amarela, porém houve diferença significativa ($P > 0,05$) ao longo do tempo e os valores aumentaram gradativamente até 35 dias de maturação e manteve a média até o tempo final 50 dias. Estes resultados estão de acordo uma vez que é esperado uma tendência mais amarelada com o avanço da proteólise (GARCÍA GAC Y PENNA BAL, 2010). No presente trabalho os queijos foram maturados embalados.

Os resultados para avaliação da cor dos queijos fabricados com e sem adição de fosfolipase com teores de gordura 2,5% e 3,1% nesse trabalho, corroboram a afirmativa de García Gac Y Penna Bal (2010) de que alguns estudos foram realizados analisando-se as variações nos parâmetros de cor de queijos, observando, em geral, decréscimo do valor de L e aumento dos valores de a^* e b^* durante o processo de maturação.

Apesar de García Gac Y Penna Bal (2010) relacionar o teor de gordura como com os parâmetros de cor, o presente trabalho não observou uma relação de proporcionalidade entre o teor de gordura dos queijos e a coloração, resultado semelhante ao de Vieira (2013), que teve por objetivo avaliar a relação do teor de gordura com a cor das amostras de queijos coloniais.

5.8 Análises microbiológicas dos queijos Minas Padrão

Os limites de tolerância e padrões microbiológicos sanitários para queijos estão definidos no anexo II da Portaria nº 146 de Março de 1996 (BRASIL, 1996), que classificou os queijos de acordo com o teor de umidade da massa. No caso Minas Padrão, ele se enquadra como queijo de média umidade, pois conforme a Instrução Normativa nº 66, de 21 de Julho de 2020 (IN 66), ele deve apresentar valores entre 36,0g/100g e 45,9g/100g de umidade (BRASIL, 2020). Os resultados obtidos nas análises microbiológicas estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11. Análise microbiológica dos queijos Minas Padrão.

Análise	Tratamentos				Limites máximo*
	3,1 SF	3,1 CF	2,5 SF	2,5 CF	
Coliformes a 30 °C - 35 °C	<1,0x10 ¹ UFC/g est.	<1,0x10 ² UFC/g est.	<1,0x10 ¹ UFC/g est.	<1,0x10 ¹ UFC/g est.	Máx. 5x10 ³ UFC/g
Coliformes a 45 °C	<1,0x10 ¹ UFC/g est.	<1,0x10 ¹ UFC/g est.	<1,0x10 ¹ UFC/g est.	<1,0x10 ¹ UFC/g est.	Máx. 5x10 ² UFC/g
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	<1,0x10 ² UFC/g est.	<1,0x10 ² UFC/g est.	<1,0x10 ² UFC/g est.	<1,0x10 ² UFC/g est.	Máx. 1x10 ³ UFC/g
<i>Salmonella</i> sp	Ausência /25g	Ausência /25g	Ausência /25g	Ausência /25g	Ausência /25g
<i>Listeria monocytogenes</i>	Ausência /25g	Ausência /25g	Ausência /25g	Ausência /25g	Ausência /25g

*Limites máximo estabelecidos pela legislação (1996)

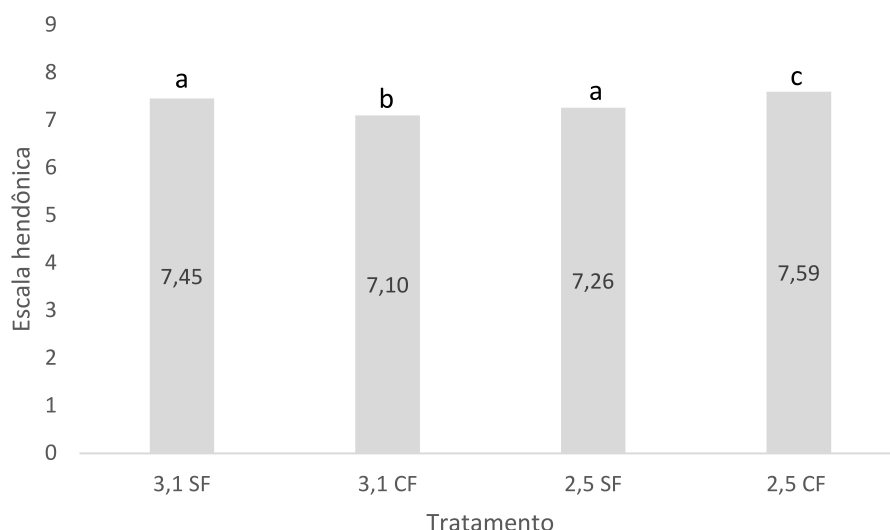
Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Para adquirir suas características específicas, a Instrução Normativa nº 66 (IN 66), estabelece que o queijo Minas Padrão deve ser maturado por pelo menos 20 dias (BRASIL, 2020). Sendo assim, as análises microbiológicas foram realizadas no tempo de 20 dias de maturação. Os resultados das análises microbiológicas apresentaram-se dentro dos critérios de aceitação estabelecidos pelas legislações brasileiras para queijos de média umidade (BRASIL, 1996)

5.9 Análise sensorial

A análise sensorial foi realizada com 120 provadores após a comprovação da inocuidade dos queijos pelas análises microbiológicas. As médias de aceitação dos queijos Minas Padrão avaliados com 20 dias de maturação encontram-se na Figura 19. Em geral, as amostras apresentaram boa aceitação, com médias 7 (gostei moderadamente).

Figura 19. Aceitação (escala hedônica de nove pontos) para o queijo Minas Padrão *
a,b,c Letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).
3,1SF – queijo sem fosfolipase com 3,1% de gordura no leite, 3,1CF- queijo com fosfolipase com 3,1% de gordura no leite, 2,5SF-queijo sem fosfolipase com 2,5% de gordura no leite - 2,5SF e 2,5CF- queijo com fosfolipase com 2,5% de gordura no leite.



*Resultados expressos em média dos tempos de maturação
Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Na análise sensorial, foi avaliada a impressão global dos queijos produzidos com leite com teor de gordura 3,1% (m/v) e 2,5% (m/v), com e sem adição de fosfolipase. Os provadores não observaram diferenças significativas ($P > 0,05$) nos tratamentos sem adição de fosfolipase, já o tratamento com adição de fosfolipase ao leite com teor de gordura 3,1% (m/v) teve menor média na impressão global dos consumidores enquanto os queijos produzidos com teor de gordura reduzido 2,5% (m/v) e adição de fosfolipase foram os preferidos pelos provadores.

Os provadores de Trancoso-Reyes et al. (2014), tiveram maior preferência pelos queijos Chihuahua que foram produzidos com adição de fosfolipase combinada com cultura lática produtora de exopolissacarídeo (EPS), já os provadores de Brito (2019), não notou nenhuma alteração na aceitação de queijo Minas Frescal, fabricados com adição de fosfolipase.

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos quanto às relações do uso da fosfolipase em queijo Minas Padrão produzidos com leite com diferentes teores de gordura, levam às seguintes conclusões:

- O uso da fosfolipase não alterou as características físico-químicas dos queijos, com a exceção da proteína que foram semelhantes entre os tratamentos 3,1 CF e 2,5CF.
- Houve semelhança nos índices de extensão e profundidade de proteólise entre os tratamentos, mas ao longo do tempo de maturação, ocorreu nos índices de extensão um aumento gradativo porém mais acentuado entre os tempos 2 e 20 dias e aumento de profundidade entre os dias 2 e 20.
- O rendimento ajustado dos queijos foram semelhantes entre os tratamentos 3,1SF e 2,5CF, e o tratamento 3,1CF apresentou um aumento em relação ao demais.
- A liberação de óleo livre não sofreu interferência pela adição de fosfolipase e foi maior nos queijos produzidos com teor de gordura 3,1% (m/v), ao longo do tempo, ocorreu maior formação de óleo livre após 20 dias.
- A textura apresentou resultados semelhantes entre os tratamentos, em relação ao longo do tempo, apenas adesividade apresentou semelhança no período de maturação, os outros parâmetros apresentaram um declínio na média após 20 dias.
- A cor dos queijos foram semelhantes entre os tratamentos. A cor b^* aumentou até o tempo de 35 dias, a luminosidade diminuiu até o tempo de 35 dias e a cor a^* aumentou gradativamente durante o período de maturação.
- O queijo produzido com adição de fosfolipase e teor de gordura do leite 2,5% (m/v) foi o preferido pelos provadores enquanto o produzido com adição de fosfolipase e teor de gordura do leite 3,1% (m/v) foi o que menos agradou. Os provadores não notaram diferença entre os queijos dos tratamentos que não utilizaram a fosfolipase.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

. Alguns ajustes precisam ser feitos no processo de fabricação para adequar o uso da fosfolipase aos parâmetros físico-químicos exigidos pela legislação.

O Tempo de maturação preconizado pela legislação, foi fundamental em todos os tratamentos para evidenciar as características do queijo Minas Padão.

Apesar do aumento de rendimento com o uso da fosfolipase no queijo fabricado com teor de gordura 3,1% (m/v), a melhor opção entre os tratamentos realizados neste trabalho, seria 2,5 CF, pois teve melhor aceitação no teste sensorial além de ter teor de gordura do leite reduzido e apresentar o mesmo rendimento do tratamento 3,1 SF.

A utilização da enzima fosfolipase na fabricação de queijos com 2,5% (m/v) de gordura no leite manteve o rendimento dos queijos fabricados com 3,1% (m/v) de gordura no leite, sem alterar seu teor de umidade e GES. Isso se torna um ganho para a indústria que pode comercializar ou utilizar esse creme para um outro produto como manteiga, sem perda das características do queijo.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIC (Associação Brasileira das Indústrias de Queijo). **Minas Padrão**. 2019. Disponível em: https://www.abiq.com.br/queijos_ler.asp?codigo=1926&codigo_categoria=16&codigo_subcategoria=37. Acesso: 05 fev. 2020.

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. **Análise sensorial - Metodologia - Perfil de Textura. ABNT NBR ISO: 11036**: Rio de Janeiro, 2017.

ABRAS (Associação Brasileira de Supermercados). Com 25% da produção nacional, MG aposta no queijo como saída para crise e geração de renda. 25 de maio de 2019. Disponível em: <https://www.abras.com.br/clipping.php?area=1&clipping=67836>. Acesso em: 10 fev. 2020.

ALVES, L. S. et al. Yield, changes in proteolysis, and sensory quality of Prato cheese produced with different coagulants. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n.12, p. 7490–7499, 2013.

BANNWART, G. C. M. DE C.; PINTO E SILVA, M. E. M.; VIDAL, G. Redução de sódio em alimentos: panorama atual e impactos tecnológicos, sensoriais e de saúde pública. **Nutrire**, v. 39, n. 3, p. 348–365, 2014.

BRASIL Lei nº 1.283, de dezembro de 1950. Dispões sobre Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**: Rio de Janeiro, RJ, 07 de jul, 1952.

BRASIL. Portaria Nº 146, DE 07 de março de 1996. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. **Diário Oficial da União**: Brasília, DF, 11 mar. 1996.

BRASIL. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Aprovar os Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite tipo B, do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial da União**: Seção I, Brasília, DF, n.172, p.8-13, 20 set. 2002.

BRASIL. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos. **Diário Oficial da União**: Seção 1, Brasília, DF, p. 8, 14 dez. 2006.

BRASIL. Resolução de Diretoria Colegial – RDC Nº 53, de 07 de Outubro de 2014. Dispões sobre a lista de enzimas, aditivos alimentares e veículos autorizados em preparações enzimáticas para uso na produção de alimentos em geral. **Diário Oficial da União**: Brasília, DF, nº194, p. 16, 08 de Out. 2014.

BRASIL. [Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950](#), e pela [Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989](#). Disciplina a fiscalização e a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. **Diário Oficial da União**: Seção 1, Brasília, DF, p. 3, 30 de mar. 2017.

BRASIL. Portaria nº201de 04 de outubro de 2019. Regulamentos Técnicos que fixa a identidade e os requisitos de qualidade que devem apresentar o queijo Minas Padrão. **Diário Oficial da União**: Seção 1, Brasília, DF, n. 196, p. 3, 09 nov. 2019.

BRASIL. Instrução Normativa nº 66, de 21 de julho de 2020. Dispõe sobre a identidade e os requisitos de qualidade que deve apresentar o produto denominado queijo minas padrão. **Diário Oficial da União**: Seção 1, Brasília, DF, n.140, p. 4, 23 jun. 2020.

BRITO, M. C. **Efeito da utilização de enzima fosfolipase na fabricação de queijo Minas Frescal**. 2019. 78 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados) - Faculdade de farmacia, Universidade Federal de Juiz de fora, 2019.

CASADO, V.; MARTIN, D.; TORRES, C. REGLERO, G.. Phospholipases in Food Industry: A Review. **Methods Mol Biol**, v. 861, n. October 2015, p. 3–30, 2012.

CHIESA, M. O. et al. Avaliação da composição química, proteólise e propriedades funcionais do queijo mussarela comercial com teor reduzido de gordura. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, n. 381, v. 66, p. 28-33, 2011.

COSTA, R. G. B. et al. **Controle de qualidade em queijo minas padrão**. 1ed. Brasília: Embrapa, 2019.

DE MARIA, L. et al. Phospholipases and their industrial applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 74, n. 2, p. 290–300, 2007.

DEWETTINCK, K. et al. Nutritional and technological aspects of milk fat globule membrane material. **International Dairy Journal**, v. 18, n. 5, p. 436–457, 2008.

DOYLE, M. E.; GLASS, K. A. Sodium Reduction and Its Effect on Food Safety, Food Quality, and Human Health. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, n. 1, p. 44–56, 2010.

EL-LOLY, M. M. Composition, properties and nutritional aspects of milk fat globule membrane - a Review. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 61, n. 1, p. 7–32, 2011.

FAY, D. L. 済無No Title No Title No Title. **Angewandte Chemie International Edition**, **6(11)**, 951–952., 1967.

FERNANDES, M.; MILAGRES, A.; MUSSATTO, S. Enzimas - Poderosa Ferramenta na Indústria. **Ciência Hoje**, v. 41, p. 28–33, 2007.

FURTADO, M. M. **Quesos Típicos De Latinoamérica**. p. 212 Saarbrücken: VDM Verlag, 2017.

FURTADO, M. M. **Queijos semiduros**: São Paulo: Setembro Editora; 2019.

FURTADO, M. R. A. **Caracterização histórico, tecnologia de fabricação, características físico-químicas, sensoriais, perfil de textura e de comercialização do queijo Reino**. 2008. 82 p. Dissertação (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, 2008.

GARCÍA GAC Y PENNA BAL. Queijo Prato com teor reduzido de gordura adicionado de enzima proteolítica : características físicas e sensoriais Reduced fat Prato cheese added of proteolytic enzyme : physical and sensorial characteristics. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 69, n. 3, p. 346–357, 2010.

UMA nova opção para aumentar o rendimento do seu queijo. **Há-La Biotec**, Piracicaba, ano 23, n. 140/141, jul./dez. 2017.

A Produção de queijo em um novo patamar. **Há-La Biotec**, Campinas, ano 19, n. 147, abr./jun. 2019.

KARAHAN, L. E.; AKIN, S. Phospholipase Applications in Cheese Production. **Journal of Food Science and Engineering**, v. 7, n. 6, p. 4–8, 2017.

KAVAK, D. D.; KARABIYIK, H. Quality evaluation of kashar cheese: Influence of palm oil and ripening period. **Food Science and Technology (Brazil)**, v. 40, n. 2, p. 354–360, 2020.

KELLY, A. L.; HUPPERTZ, T.; SHEEHAN, J. J. Pre-treatment of cheese milk: Principles and developments. **Dairy Science and Technology**, v. 88, n. 4–5, p. 549–572, 2008.

KWAK, H. S.; GANESAN, P.; HONG, Y. H. Nutritional benefits in cheese. **Cheese: Types, Nutrition and Consumption**, n. November 2015, p. 267–288, 2011.

LAGE, R. T. A. **Pesquisa de Mycobac Terium Bovis, microbactérias não tuberculosas e actinomicetos em queijos Minas Artesanal na microregião do Serro em Minas Gerais**. 2016. 77 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados) - Faculdade de farmacia, Universidade Federal de Juiz de fora, 2016.

LILBÆK, H. M. et al. Improving the yield of mozzarella cheese by phospholipase treatment of milk. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 11, p. 4114–4125, 2006.

MALAGUTTI CORSATO, A. C. et al. Estudo da proteólise de queijos Coloniais da Serra Catarinense durante sua maturação em temperatura ambiente. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 76, n. 1, p. 40–50, 2021.

MARTINS, G. A. DE S.; SILVA, J. F. M. DA; NASCIMENTO, G. N. DO. **Ciência e Tecnologia de Alimentos: Conceitos e Aplicações**. [s.l: s.n.]. v. 1

MAZAL, G. et al. Effect of somatic cell count on Prato cheese composition. **Journal of Dairy Science.**, v. 90, p. 630–636, 2007.

MONTEIRO, V. N.; SILVA, R. DO N. Aplicações Industriais da Biotecnologia Enzimática. **Revista Processos Químicos**, v. 3, n. 5, p. 9–23, 2009.

NASCIMENTO, P. A. M. *et al.* Avaliação da estabilidade da lipase de *Aspergillus niger* em soluções aquosas de Líquidos Iônicos da família das colinas. *In: XII SEMINÁRIO BRASILEIRO DE TECNOLOGIA ENZIMÁTICA*, Rio Grande do Sul. Anais [...]. Caxias do Sul: ENZITEC 2016.

NIELSEN, P. H.; HØIER, E. Environmental assessment of yield improvements obtained by the use of the enzyme phospholipase in mozzarella cheese production. **International Journal of Life Cycle Assessment**, v. 14, n. 2, p. 137–143, 2009.

OLIVEIRA, G. L. A. DE. **Efeito da contagem de células somáticas do leite na fabricação e nas características do queijo Parmesão**. 2019. 101 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados) - Faculdade de farmacia, Universidade Federal de Juiz de fora, 2019.

PAULA, J. C. J. DE. Efeito do uso de dióxido de carbono (CO₂) na fabricação de queijos Minas Frescal e Minas Padrão. 2010. 135 p. Dissertação (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, 2010.

PAULA, J. C. J. DE; CARVALHO, A. F. DE; FURTADO, M. M. Princípios básicos de fabricação de queijo: do histórico à salga. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 64, n. 367, p. 19–25, 2009.

- PEREIRA, D. B. C.; SILVA, P. H. F.; COSTA JÚNIOR, L. C. G.; OLIVEIRA, L. L. **Físico-química do leite e derivados: métodos analíticos**. 2.ed. ampl. e rev. Juiz de Fora: Templo Gráfica e Editora, 2001. 234 p.
- PERRY, K. S. P. Cheese: Chemical, biochemical and microbiological aspects. **Química Nova**, v. 27, n. 2, p. 293–300, 2004.
- PRAXEDES, L. S.; BRITO, M. V. A Participação Dos Catalisadores Biológicos Na Otimização De Processos Industriais. **Meta**, v. 1, n. 1, p. 407–413, 2016.
- RAMALHO, E. X. et al. Análise Dos Custos De Produção De Lipases Produzidas Por Fermentação Em Estado Sólido Em Um Biorreator De Bandejas. v. 3, n. August, p. 2772–2778, 2019.
- RIBEIRO, B. C. et al. Isolamento e seleção de micro-organismos produtores de enzimas de interesse comercial. **Scientia Plena**, v. 14, n. 2, p. 1–10, 2018.
- SAMPAIO, D. A. **Editora Poisson Processos Químicos e Biotecnológicos Volume 5 1ª Edição**. [s.l: s.n.]. v. 5
- SANTOS, A. DE L. et al. Utilização De Dióxido De Cloro Estabilizado Em Solução Aquosa No Tratamento De Salmouras. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 63, n. 364, p. 19–26, 2008.
- SILVA, V. R. O.. **Análise Sensorial**. In: MINAS GERAIS. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sudeste de Minas Gerais. Ministério da Educação: produção didática pedagógica. Rio Pomba: e-Tec Brasil 2013.
- SILVA, C. R. DE A. et al. Biotecnologia Aplicada a Produção De Alimentos Fermentados. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, p. 1387, 2017.
- SILVA, J. M. S. DA et al. Uso de enzimas para aumentar a qualidade nutricional de farinhas de origem animal. **Pubvet**, v. 12, n. 8, p. 1–13, 2018.
- SOBRAL, D. et al. Can lutein replace annatto in the manufacture of Prato cheese? **LWT - Food Science and Technology**, v. 68, p. 349-355, 2016.
- SOUZA, A. M. et al. Introdução a projetos experimentais. p. 1–139, Santa Maria: Laboratório de Design Gráfico Curso de Desenho Industrial / Programação Visual - UFSM 2002.
- SUM-, J. B. As enzimas na fabricação de produtos lácteos. **Aditivos & Ingredientes**, v. 78, p. 27–36, 2011.
- TAFES, A. G. The Application of Novel Inputs and Advanced Technology in Dairy Product Processing a Review. **Dairy & Veterinary Sciences**, v. 14, n. 2, 2019.
- TRANCOSO-REYES, N. et al. Assessing the yield, microstructure, and texture properties of miniature Chihuahua-type cheese manufactured with a phospholipase A1 and exopolysaccharide-producing bacteria. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 2, p. 598–608, 2014.
- VIDAL, A. M. C.; SARAN NETTO, A. **Obtenção e processamento do leite e derivados**. p. 229, Pirassununga: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, 2018.