

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

LIA BARBOSA TAVEIRA

**ASPECTOS FÍSICO-QUÍMICOS E SENSORIAIS DO QUEIJO REINO MATURADO SOB
DIFERENTES CONDIÇÕES, VISANDO À EXPORTAÇÃO**

Juiz de Fora

2013

LIA BARBOSA TAVEIRA

**ASPECTOS FÍSICO-QUÍMICOS E SENSORIAIS DO QUEIJO REINO MATURADO SOB
DIFERENTES CONDIÇÕES, VISANDO À EXPORTAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência 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: Prof^a. DSc. Renata Golin Bueno Costa

Co-orientador: Prof. DSc. Luiz Carlos Gonçalves Costa Junior

Juiz de Fora

2013

*À minha família, pelo amor, apoio, confiança e
compreensão em todos os momentos.*

AGRADECIMENTOS

À Deus, por permitir a conclusão desta importante etapa em minha vida e por me colocar ao lado de pessoas tão maravilhosas.

À Fapemig, pelo apoio financeiro ao projeto e pela concessão da Bolsa de Desenvolvimento Tecnológico Industrial.

À toda equipe do Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, sobretudo aos professores, pela dedicação e conhecimento passado.

Ao Bernardo e ao Jarbas pela parceria, por toda atenção e ajuda, pela concessão das amostras de queijo Reino.

À toda equipe do Laticínios MB, sobretudo ao Sr. Raimundo, ao Júlio, ao Renato, ao Mauro e aos colegas do laboratório, pela atenção, respeito, ajuda e conhecimento passado.

Ao Múcio Furtado, pela atenção dedicada ao projeto e pelo apoio na execução do mesmo.

Ao Márcio, por toda atenção, generosidade, conhecimento passado, ajuda e disponibilidade.

À Dona Alcy, por não ter medido esforços para ajudar-me e pela atenção e carinho.

Às bolsistas do ILCT, Suelen, Sheila, Amanda, Mônica, Gisela, Karla, Talita e Josiane pela ajuda e amizade. O que seria de mim sem vocês?!

Aos pesquisadores do ILCT, Gisela, Paulo Henrique, Daniel, Adauto, Denise, Júnio e Fernando pela atenção dedicada ao projeto e pela amizade.

Ao José Lourenço, ao Marcelo e ao Helvécio, por terem facilitado a logística de meu trabalho.

E o que dizer a vocês, Renata e Luiz Carlos? Muito obrigada pela paciência e confiança, pelo conhecimento passado, e, principalmente, pelo carinho e amizade. Estamos colhendo, juntos, os frutos do nosso trabalho!

À professora Míriam por todo carinho e pelo conhecimento passado.

Aos amigos Maynomi, Martha, Mônica, Eduardo, Victor, Eliane, Ariane, Erika, Jeruza, Fernanda e Letícia, por todo apoio, incentivo, ajuda e carinho constantes.

Aos meus pais pelo apoio, confiança e amor ilimitados.

À minha irmã, pela amizade, ajuda, paciência e confiança.

Ao meus padrinhos Solange, Zé e Filó por todo apoio e carinho.

Ao meu filho Arthur, por me fazer acreditar que tudo é possível.

Ao Thiago, pelo amor, atenção e paciência e, por que de forma especial e carinhosa me deu força e coragem, me apoiando em todos os momentos.

Aos meus tios e primos pelo carinho e atenção nos momentos difíceis.

A todos, meu sincero e eterno agradecimento.

Muito obrigada!

RESUMO

O queijo Reino é considerado um queijo brasileiro tradicional, originário do queijo *Edam* holandês, cuja história remonta ao final do século XIX. Foi o primeiro queijo maturado a ser produzido industrialmente no Brasil. É de formato esférico, bastante aromático, sua casca é ligeiramente espessa e tingida de vermelho. Tradicionalmente, é comercializado em latas esféricas. O queijo Reino tradicional exige uma maturação mais prolongada, o que agrega valor ao mesmo e resulta em um queijo com características sensoriais peculiares, que atreladas às suas embalagem e casca tradicionais, fortalecem seu padrão internacional. O Brasil ocupa uma posição de destaque frente aos principais países produtores mundiais de queijos, e, atualmente, produzir queijos finos representa a possibilidade de trabalhar com produtos diferenciados e de alto valor agregado, sendo, portanto, um nicho de mercado emergente com grandes oportunidades. E, uma vez que, o queijo Reino se apresenta como um dos queijos de maior importância para a indústria queijeira nacional, torna-se viável pensar em seu potencial para exportação, uma vez verificado o crescimento do comércio mundial de queijos. Assim, esse experimento, objetivou consolidar as especificações técnico-científicas para o queijo Reino versando sobre os requisitos físico-químicos e sensoriais, a fim de viabilizar a inserção do mesmo no mercado externo. Foram produzidos três lotes de queijo Reino em escala industrial. Cada lote de queijo foi fabricado a partir de 10.000 litros (L) de leite pasteurizado e padronizado oriundos de um mesmo tanque de refrigeração. Retirou-se aleatoriamente 60 queijos de cada lote, perfazendo um total de 180 unidades amostrais, sendo 108 destinadas às análises físicas, químicas e físico-químicas, e, 72 às análises sensoriais. O experimento foi dividido em duas fases, sendo que, na Fase 1 os queijos Reino foram divididos nos tratamentos A e B, e, na Fase 2, foram subdivididos em seis tratamentos, sendo eles: A₁, A₂, A₃, B₁, B₂ e B₃. Em ambas as fases os queijos foram analisados ao longo do tempo. Empregou-se o delineamento em parcelas subdivididas no experimento. Fez-se a análise de variância (ANAVA) e, empregou-se o teste de Student Newman-Keuls (SNK) para comparar as médias entre os tratamentos A e B, em cada tempo, e, para comparar as médias entre os tempos de cada tratamento; e, para comparar as médias entre as subdivisões do tratamento A e do B, em cada tempo, e, para comparar as médias entre os tempos de cada tratamento. A maturação ocorrida durante simulação de transporte refrigerado do queijo Reino (tratamento B) se diferenciou da maturação tradicional (simulada pelo Tratamento A). Foi verificado que houve diferença estatisticamente significativa entre as subdivisões dos tratamentos A e B nas análises químicas, físicas, físico-químicas e sensoriais. O sal se distribuiu homogeneamente no queijo Reino 26 dias após a fabricação independentemente das condições de temperatura e umidades na secagem/maturação. Concluiu-se que, os resultados desse experimento confirmou a classificação desse queijo como gordo e de baixa umidade, segundo as especificações do RTIQQ e que, do ponto de vista tecnológico, o queijo Reino tradicional apresenta potencial de exportação em função de suas características peculiares de sabor e textura, e, de sua embalagem tradicional em latas. Para isso, deve-se investir na qualidade do leite e na rastreabilidade do produto de forma a atender às exigências internacionais.

Palavras-chave: Queijo Reino. Qualidade. Exportação.

ABSTRACT

The Reino cheese is considered a traditional Brazilian cheese, originate by Edam Dutch cheese, whose history dates back to late nineteenth century. It was the first cheese matured produced industrially in Brazil. It is spherical, very aromatic, its bark is thick and tinged with red. Traditionally, it is sold in cans spherical. traditionally, The Reino cheese requires a longer maturation, which adds value to it and results in a cheese with sensory characteristics peculiar, who linked to their traditional packaging and bark, strengthening its international standard. Brazil occupies a prominent position opposite the main producing countries of world cheeses, and currently producing fine cheeses represent the possibility of working with differentiated products with high added value, therefore, a niche emerging market with great opportunities. And, once the Reino cheese presents itself as one of the most important cheeses for the cheese national industry, it becomes feasible to think of their export potential, once verified the growth of world trade in cheese. Thus, this experiment aimed to consolidate the scientific-technical specifications for Reino cheese in about physicochemical and sensory aimed its at inserting foreign market. Three batches were produced of Reino cheese in an industrial scale. Each batch of cheese was made from 10.000 liters (L) standardized and pasteurized milk coming from the same cooling tank . Randomly withdrew 60 cheeses from each batch, a total of 180 sampling units, 108 aimed to analysis physical, chemical and physic-chemical and 72 aimed to analyzes sensory. The experiment was divided into two phases, in Phase 1, the Reino cheeses were divided into two treatments A and B, and in Phase 2, were divided into six treatments, as follows: A₁, A₂, A₃, B₁, B₂ and B₃. In both phases of the cheeses were analyzed over time. We used the split-plot design experiment. Made the analysis of variance (ANOVA), and we used the test of Student Newman Keuls (SNK) to compare the means between treatments A and B, at each time, and to compare the means between the times each treatment, and to compare the means between the subdivisions of treatment A and B, at each time, and to compare the means between the times of each treatment. The maturation that occurred during refrigerated transport of Reino cheese (simulated by Treatment B) differed of traditional maturation (simulated by Treatment A). It was found that there was statistically significant difference between the subdivisions of treatments A and B in characteristics chemical, physical, physicochemical and sensory . The salt was homogeneously distributed in the cheese 26 days after manufacture regardless of the temperature and humidity in the drying/curing. It was concluded that the results of this experiment confirmed the classification of this cheese like fat and low humidity, according to the specifications of RTIQQ and that the technological point of view, the traditional Reino cheese has export potential due to its peculiar characteristics of flavor and texture, and its traditional packaging in cans. To do so, we must invest in the quality of milk and in traceability to meet the international requirements.

Key words: Reino cheese. Quality. Export.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 01. Fluxograma de fabricação do queijo Reino.....	21
FIGURA 02. Produção brasileira de queijos em toneladas (t), no período compreendido entre os anos 1993 e 2010.....	23
FIGURA 03. Evolução do consumo <i>per capita</i> de queijos no Brasil durante o período compreendido entre os anos 2000 e 2009*.....	24
FIGURA 04. Evolução da produção do queijo Reino no Brasil (1993-2010).....	24
FIGURA 05. Evolução da proteólise em queijos.....	27
FIGURA 06. Sistema plasmina/plasminogênio no leite.....	28
FIGURA 07. Esquema da extensão e da profundidade de proteólise em queijos.....	30
FIGURA 08. Formas racêmicas do ácido lático.....	34
FIGURA 09. Fluxograma de fabricação do queijo Reino.....	41
FIGURA 10. Detalhamento das etapas do projeto.....	42
FIGURA 11. Representação da metodologia utilizada para retirar a alíquota da amostra, na qual “C” representam as 2 porções centrais, “I” as 2 intermediárias e “S” as 2 superficiais do queijo Reino.....	48
FIGURA 12. Curvas ajustadas do pH <i>versus</i> tempo dos queijos Reino, considerando valores de pH obtidos para os tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação.....	59
FIGURA 13. Curvas ajustadas da A_w <i>versus</i> tempo dos queijos Reino, considerando valores de A_w obtidos para os tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação.....	61
FIGURA 14. Curvas ajustadas do % (m/m) de umidade <i>versus</i> tempo dos queijos Reino, considerando valores de teor % (m/m) de umidade obtidos para os tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação.....	63
FIGURA 15. Curvas ajustadas do % (m/m) RMF <i>versus</i> tempo dos queijos Reino, considerando valores de % (m/m) de RMF obtidos para os tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação.....	65
FIGURA 16. Curvas ajustadas do % (m/m) de NaCl <i>versus</i> tempo dos queijos Reino, considerando valores de teor % (m/m) de NaCl obtidos para os tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação.....	69
FIGURA 17. Curvas ajustadas do % (m/m) de NaCl/U <i>versus</i> tempo dos queijos Reino, considerando valores de % (m/m) de NaCl/U obtidos para os tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação	70
FIGURA 18. Curvas ajustadas do % (m/m) de proteína <i>versus</i> tempo dos queijos Reino, considerando valores de % (m/m) de proteína obtidos para os tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação.....	72
FIGURA 19. Curvas ajustadas da relação % $NS_{pH4,6}/NT$ <i>versus</i> tempo dos queijos Reino, considerando valores de relação $NS_{pH4,6}/NT$ obtidos para os tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação	74
FIGURA 20. Curvas ajustadas da relação % $NS_{TCA12\%}/NT$ <i>versus</i> Tempo dos queijos Reino, considerando valores de relação $NS_{TCA12\%}/NT$ obtidos para os Tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação.....	75
FIGURA 21. Comportamento das médias da relação % $NS_{pH4,6}/NT$ dos queijos Reino	

ao longo da estocagem	83
FIGURA 22. Comportamento médio de cada tratamento quanto à % $NS_{TCA12\%}/NT$ dos queijos Reino durante estocagem	86
FIGURA 23. Ficha de ADQM desenvolvida pelos provadores que compuseram a equipe de análise de ADQM para o queijo Reino.....	89
FIGURA 24. Representação gráfica dos resultados médios das notas de cada atributo avaliado na análise sensorial.....	106
FIGURA 25. Representação gráfica da Tabela 37.....	108
FIGURA 26. CLC presente na trinca interna do queijo submetido ao <i>Tratamento A₃</i>	110

LISTA DE TABELAS

TABELA 01. Classificação dos queijos no Brasil, segundo as especificações do RTIQQ.....	18
TABELA 02. Composição físico, química e físico-química média esperada para o queijo Reino maturado.....	20
TABELA 03. Análises físicas, químicas e físico-químicas realizadas com o leite cru, com o leite pasteurizado e padronizado, com o soro do queijo e com o queijo Reino.....	44
TABELA 04. Definições de parcelas e subparcelas em cada etapa experimental.....	51
TABELA 05. Resultado médio das análises físicas, químicas e físico-químicas encontrados para o leite cru empregado na fabricação do queijo Reino. Média das três repetições	53
TABELA 06. Resultado médio das análises físicas, químicas e físico-químicas encontrados para o leite pasteurizado e padronizado empregado na fabricação do queijo Reino. Média das três repetições	56
TABELA 07. Resultado médio das análises físicas, químicas e físico-químicas encontrados para o soro do queijo Reino. Média das três repetições	56
TABELA 08. Resultado médio dos valores de pH encontrados para os queijos Reino submetidos aos tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação. Média das três repetições	58
TABELA 09. Resultado médio dos valores de A_w encontrados para os queijos Reino submetidos aos tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação. Média das três repetições	60
TABELA 10. Resultado médio dos valores de % (m/m) de umidade encontrados para os queijos Reino submetidos aos tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação. Média das três repetições	62
TABELA 11. Resultado médio dos valores de % (m/m) de RMF encontrados para os queijos Reino submetidos aos tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação. Média das três repetições	64
TABELA 12. Resultado médio dos valores de % (m/m) de gordura encontrados para os queijos Reino submetidos aos tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação. Média das três repetições	65
TABELA 13. Resultado médio dos valores de % (m/m) de GES encontrados para os queijos Reino submetidos aos tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação. Média das três repetições	67
TABELA 14. Resultado médio dos valores de % (m/m) de NaCl encontrados para os queijos Reino submetidos aos tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação. Média das três repetições	68
TABELA 15. Resultado médio dos valores de % (m/m) de NaCl/U encontrados para os queijos Reino submetidos aos tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação. Média das três repetições	69
TABELA 16. Resultado médio dos valores de % (m/m) de proteína encontrados para os queijos Reino submetidos aos tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação. Média das três repetições	71
TABELA 17. Resultado médio dos valores da relação $\% NS_{pH4,6}/NT$ (% m/m) encontrados para os queijos Reino submetidos aos tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação. Média das três repetições	73
TABELA 18. Resultado médio dos valores da relação $NS_{TCA12\%}/NT$ (% m/m) encontrados para os queijos Reino submetidos aos tratamentos A e B, nos tempos dois,	75

onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação. Média das três repetições	
TABELA 19. Resultado médio das análises de pH encontrados para os queijos Reino subdivididos nos tratamentos A ₁ , A ₂ , A ₃ , B ₁ , B ₂ e B ₃ , nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação. Média das três repetições.....	77
TABELA 20. Resultado médio das análises de Aw encontrados para os queijos Reino subdivididos nos tratamentos A ₁ , A ₂ , A ₃ , B ₁ , B ₂ e B ₃ , nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação. Média das três repetições.....	79
TABELA 21. Resultado médio das análises de % (m/m) de umidade encontrados para os queijos Reino subdivididos nos tratamentos A ₁ , A ₂ , A ₃ , B ₁ , B ₂ e B ₃ , nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação. Média das três repetições.....	81
TABELA 22. Resultado médio das análises da relação % NS _{pH4,6} /NT encontrados para os queijos Reino subdivididos nos tratamentos A ₁ , A ₂ , A ₃ , B ₁ , B ₂ e B ₃ , nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação. Média das três repetições.....	83
TABELA 23. Resultado médio das análises da relação % NS _{TCA12%} /NT encontrados para os queijos Reino subdivididos nos tratamentos A ₁ , A ₂ , A ₃ , B ₁ , B ₂ e B ₃ , nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação. Média das três repetições.....	85
TABELA 24. Composição centesimal do queijo Reino no tempo 156 dias após a fabricação. Média das três repetições.....	87
TABELA 25. Lista dos termos descritivos definidos pelos provadores e respectivas referências para o queijo Reino.....	90
TABELA 26. Resultado médio para aspecto global dos queijos Reino subdivididos nos tratamentos A ₁ , A ₂ , A ₃ , B ₁ , B ₂ e B ₃ , nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação, na ADQM. Média das três repetições.....	91
TABELA 27. Resultado médio para cor interna dos queijos Reino subdivididos nos tratamentos A ₁ , A ₂ , A ₃ , B ₁ , B ₂ e B ₃ , nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação, na ADQM.. Média das três repetições.....	93
TABELA 28. Resultado médio para consistência dos queijos Reino subdivididos nos tratamentos A ₁ , A ₂ , A ₃ , B ₁ , B ₂ e B ₃ , nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação, na ADQM. Média das três repetições.....	95
TABELA 29. Resultado médio para massa dos queijos Reino subdivididos nos tratamentos A ₁ , A ₂ , A ₃ , B ₁ , B ₂ e B ₃ , nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação, na ADQM. Média das três repetições.....	97
TABELA 30. Resultado médio para textura dos queijos Reino subdivididos nos tratamentos A ₁ , A ₂ , A ₃ , B ₁ , B ₂ e B ₃ , nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação, na ADQM. Média das três repetições.....	99
TABELA 31. Resultado médio para odor típico dos queijos Reino subdivididos nos tratamentos A ₁ , A ₂ , A ₃ , B ₁ , B ₂ e B ₃ , nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação, na ADQM. Média das três repetições.....	100
TABELA 32. Resultado médio para gosto salgado dos queijos Reino subdivididos nos tratamentos A ₁ , A ₂ , A ₃ , B ₁ , B ₂ e B ₃ , nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação, na ADQM. Média das três repetições.....	102
TABELA 33. Resultado médio para sabor típico dos queijos Reino subdivididos nos tratamentos A ₁ , A ₂ , A ₃ , B ₁ , B ₂ e B ₃ , nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação, na ADQM. Média das três repetições.....	103
TABELA 34. Resultado médio para sabor residual dos queijos Reino subdivididos nos tratamentos A ₁ , A ₂ , A ₃ , B ₁ , B ₂ e B ₃ , nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação, na ADQM. Média das três repetições.....	105
TABELA 35. Tabela de ANAVA.....	107

TABELA 36. Resultados do teor percentual (m/m) médio de NaCl encontrado em cada porção do queijo Reino, em cada tempo analisado. Média das três repetições.....	108
TABELA 37. Equações ajustadas encontradas para cada porção amostrada dos tratamentos A e B.....	109

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADQM – Análise Descritiva Quantitativa Modificada

ANAVA – Análise de variância

AW - atividade de água

BLI – Bactérias Lácticas Iniciadoras

CCS - Contagem de células somáticas

CLC – Cristais de lactato de cálcio

EPAMIG - Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais

ESD - Extrato seco desengordurado

EST - Extrato seco total

GES - gordura no extrato seco

HTST - High Temperature Short Time

ILCT - Instituto de Laticínios Cândido Tostes

IN – Instrução Normativa

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

NaCl/U- Sal na umidade do queijo

NSLAB – Non Starter Lactic Acid Bacteria

NS_{pH 4,6} - Nitrogênio solúvel em pH 4,6

NS_{TCA 12%} - Nitrogênio solúvel em ácido tricloroacético 12%(m/v).

RA - Resíduo de antibiótico

RMF - Resíduo mineral fixo

RTIQQ – Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos

SNK – Student Newman-Keuls

TRAM – Teste de redução do azul de metileno

URA – Umidade relativa do ar

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 QUEIJO REINO	18
2.1.1 Histórico	18
2.1.2 Composição física, química, físico-química e sensorial esperada para o queijo Reino maturado	20
2.1.3 Tecnologia de fabricação	21
2.1.4 Mercado	22
2.1.4.1 <i>Forma de comercialização do queijo Reino</i>	25
2.2 O PROCESSO DE MATURAÇÃO EM QUEIJOS	25
2.2.1 Proteólise	26
2.2.1.1 <i>Determinação dos índices de proteólise em queijos</i>	29
2.2.2 Lipólise	30
2.2.3 Fermentação da lactose e do citrato	32
2.2.3.1 <i>Formação de cristais de lactato de cálcio (CLC)</i>	33
2.3 DISTRIBUIÇÃO DE SAL NO QUEIJO	34
3 OBJETIVOS	39
3.1 Geral	39
3.2 Específicos	39
4 METODOLOGIA	40
4.1 LOCALIZAÇÃO	40
4.2 SELEÇÃO DA UNIDADE PRODUTORA DE QUEIJO REINO	40
4.3 DELINEAMENTO E TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS	40
4.3.1 Determinações analíticas	43
4.3.1.1 <i>Análises físicas, químicas e físico-químicas do leite cru refrigerado</i>	44
4.3.1.2 <i>Análises físicas, químicas e físico-químicas do leite pasteurizado e padronizado</i>	45
4.3.1.3 <i>Análises físicas, químicas e físico-químicas do soro</i>	46
4.3.1.4 <i>Análises físicas, químicas e físico-químicas do queijo Reino</i>	46
4.3.1.4.1 <u>Distribuição de sal no queijo</u>	48
4.3.2 Análise sensorial	48
4.3.2.1 <i>Pré-seleção dos provadores</i>	49
4.3.2.2 <i>Desenvolvimento da terminologia descritiva</i>	49
4.3.2.3 <i>Seleção final da equipe de ADQM</i>	50
4.3.2.4 <i>Análise sensorial das amostras de queijo Reino</i>	50
4.3.3 Análise estatística dos dados	51
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
5.1 FASE 1	53
5.1.1 Análises físicas, químicas e físico-químicas do leite cru refrigerado	53
5.1.2 Análises físicas, químicas e físico-químicas do leite pasteurizado e padronizado	55
5.1.3 Análises físicas, químicas e físico-químicas do soro	56
5.1.4 Análises físicas, químicas e físico-químicas do queijo Reino nos tempos 2, 11, 16 e 36 dias após a fabricação	57
5.1.4.1 <i>pH</i>	57
5.1.4.2 <i>Atividade de água (Aw)</i>	59
5.1.4.3 <i>Umidade</i>	62
5.1.4.4 <i>Resíduo mineral fixo (RMF) (Cinzas)</i>	63

5.1.4.5 Gordura	65
5.1.4.6 Gordura no Extrato Seco Total (GES)	66
5.1.4.7 Cloreto de sódio (NaCl)	67
5.1.4.8 Sal na umidade do queijo (NaCl/U)	69
5.1.4.9 Proteína	71
5.1.4.10 Relação % $NS_{ph4,6}/NT$	72
5.1.4.11 Relação % $NS_{TCA12\%}/NT$	74
5.2 FASE 2	76
5.2.1 Análises físicas, químicas e físico-químicas do queijo Reino nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação	76
5.2.1.1 pH	76
5.2.1.2 A_w	78
5.2.1.3 Umidade.....	80
5.2.1.4 Relação % $NS_{ph4,6}/NT$	82
5.2.1.5 Relação % $NS_{TCA12\%}/NT$	84
5.2.1.6 Composição centesimal do queijo Reino no tempo 156 dias após a fabricação	87
5.2.2 Análise sensorial do queijo Reino nos tempos 66, 96, 126 e 156 após a fabricação	88
5.2.2.1 Aspecto Global (casca)	90
5.2.2.2 Cor interna	92
5.2.2.3 Consistência	94
5.2.2.4 Massa	96
5.2.2.5 Textura	98
5.2.2.6 Odor típico	99
5.2.2.7 Gosto salgado	101
5.2.2.8 Sabor típico	102
5.2.2.9 Sabor residual	104
5.2.2.10 Considerações gerais	106
5.3 DISTRIBUIÇÃO DE SAL NO QUEIJO REINO	107
5.4 PRESENÇA DE CRISTAIS DE LACTATO DE CÁLCIO (CLC)	109
6 CONCLUSÃO	111
REFERÊNCIAS	113

1 INTRODUÇÃO

A produção leiteira no Brasil vem crescendo nos últimos anos revelando seu grande potencial de desenvolvimento e a consolidação do queijo como produto de importância na economia nacional. Esse fato não é verificado somente em relação aos queijos denominados *commodities* (mussarela, prato e requeijão culinário), como também em relação aos queijos finos, dentre os quais se encontra o Reino (cuja produção aumentou consideravelmente na última década).

O queijo Reino é considerado um queijo brasileiro tradicional cuja história remonta ao final do século XIX. Apesar de inicialmente ter sido fabricado a partir de uma adaptação tecnológica do queijo *Edam* holandês, pouco se assemelha a ele, uma vez que, passou por adaptações e mudanças em seu processo tecnológico, ao longo dos anos.

O queijo Reino tradicional é caracterizado por sua textura interna relativamente dura, alaranjada, fechada ou com pequenas olhaduras, casca fina, lisa, de coloração vermelho ou róseo, e, por seu sabor picante e aroma acentuado (FURTADO, 2007). Outra característica tradicional desse queijo é sua embalagem em latas esféricas, hermeticamente fechadas, que permitem a manutenção das características típicas do produto.

O consumo do queijo Reino sempre foi sazonal e localizado, por ocorrer com maior frequência e intensidade em determinadas épocas do ano, nos estados da região Nordeste do Brasil, onde é comercializado frequentemente, à temperatura ambiente. Entretanto, o consumo do queijo Reino foi sendo difundido para os estados da região Sudeste do Brasil, onde é comercializado, geralmente, sob temperatura refrigerada e controlada. As diferentes formas de estocagem do queijo Reino influenciam diretamente no processo de maturação, e, conseqüentemente, no desenvolvimento do *flavour* do mesmo. Dessa forma, monitorar as alterações físicas, químicas, físico-químicas e sensoriais ocorridas durante a maturação e *shelf life* desse produto torna-se fundamental para assegurar sua qualidade final.

Por ter sido caracterizado com sua descrição tecnológica e histórica de forma detalhada em recente estudo que foi tema de tese de doutoramento (FURTADO, 2008), tornou-se, desde então, um dos produtos lácteos brasileiros com grande potencial de mercado, inclusive de exportação. Associado a esse fato, tem-se que o queijo Reino exige uma maturação mais prolongada, o que agrega valor ao mesmo e resulta em um queijo com características sensoriais peculiares, que atreladas às suas embalagem e casca tradicionais, fortalecem seu padrão internacional.

Dada a importância desse queijo objetivou-se consolidar as especificações técnicas científicas atribuídas ao mesmo e verificar as alterações físicas, químicas, físico-químicas e sensoriais ocorridas durante a maturação e *shelf life* desse produto, estocado sob diferentes condições, e, dessa maneira monitorar sua qualidade visando expandir a comercialização e o consumo do mesmo, com vistas à sua inserção no mercado externo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) é responsável pela regulamentação e normatização dos serviços vinculados ao setor de leite e derivados, dentre outros. Desta forma, o MAPA regulamenta os produtos lácteos por meio da Portaria nº 146, de 07 de março de 1996, na qual está incluído o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos (RTIQQ), que classifica os queijos em função do teor (% m/m) de umidade e de gordura no extrato seco (GES), conforme apresentado na Tabela 01.

TABELA 01. Classificação dos queijos no Brasil, segundo as especificações do RTIQQ.

Quanto ao teor de umidade em %(m/m)	%(m/m) de umidade
Queijo de baixa umidade	até 35,9%.
Queijos de média umidade	entre 36,0 e 45,9%
Queijos de alta umidade	entre 46,0 e 54,9%
Queijos de muita alta umidade	maior ou igual a 55,0%
Quanto ao teor de GES em %(m/m)	%(m/m) de GES
Extragordo ou Duplo Creme	Mínimo de 60%
Gordos	entre 45,0 e 59,9%
Semigordo	entre 25,0 e 44,9%
Magros	10,0 e 24,9%
Desnatados	Menor que 10,0%

Fonte: BRASIL, 1996.

Os queijos podem, ainda, ser classificados quanto à maturação em dois grandes grupos: queijos frescos e queijos maturados (finos ou especiais). Os queijos frescos são assim denominados por estarem prontos para o consumo logo após a fabricação, enquanto os queijos maturados necessitam de um tempo de estocagem de médio a longo prazo, para que possam adquirir as características próprias da variedade e, posteriormente, serem comercializados e consumidos (ABREU, 2005; CHALITA et al, 2009). Dentre os queijos finos maturados, há o queijo Reino, que não possui regulamentação específica no Brasil, apesar de sua importância histórica para a indústria queijeira nacional.

2.1 QUEIJO REINO

2.1.1 Histórico

O queijo Reino é considerado um queijo brasileiro tradicional, originário do queijo

Edam holandês, cuja história remonta ao final do século XIX. Naquela época, o queijo *Edam* era trazido ao Brasil por meio do Reino de Portugal, via de importação de grande parte do que se consumia no país. Daí a origem da expressão “do Reino” atribuída àquele queijo e atualmente consagrada. (FURTADO, 2008).

O queijo Reino foi o primeiro queijo maturado a ser produzido industrialmente no Brasil, fato de importância histórica para o desenvolvimento da indústria queijeira nacional. Sua produção teve início em 1888, quando foi fundada em Palmyra (hoje Santos Dumont) - cidade localizada na região da zona da mata do estado de Minas Gerais - a primeira fábrica de laticínios da América Latina, a “Companhia de Laticínios da Mantiqueira”. Esta foi fundada pelo português Carlos Pereira de Sá Fortes e pelo holandês Alberto Boeke. Sá Fortes trouxe da Holanda o queijeiro Gaspar Jong, dentre outros, para elaborar tais queijos. (FURTADO, 2008).

A partir da criação da “Companhia de Laticínios da Mantiqueira” várias fábricas foram criadas nessa e em outras regiões do país. Dentre essas, pode-se citar uma fundada em 1921 por Gaspar Jong, que comercializou o queijo Reino sob a marca “Jong”. Em 1972, a fábrica foi adquirida por Yvo Jaques de Mello, até então diretor-geral da mesma, sendo posteriormente administrada pela família Mello Bahia (Laticínios MB), que manteve a marca comercial “Jong” e a tradição do produto ao longo dos anos (FURTADO, 2008). Em novembro de 2012, o Laticínios MB foi comprado pelo grupo Vigor Alimentos, que permaneceu, também, comercializando o queijo Reino sob esta marca.

Apesar de inicialmente o queijo Reino ter sido fabricado a partir de uma adaptação tecnológica do queijo *Edam* holandês, pouco se assemelha a ele, uma vez que, tradicionalmente, se apresentava mais seco, mais firme, com sabor mais pronunciado (picante) e com coloração mais intensa. Outra característica tradicional do queijo Reino era sua embalagem em latas esféricas, hermeticamente fechadas. Este processo, inexistente no mercado europeu, poderia ser justificado em função da proteção que a mesma conferia ao queijo. A lata funcionava como uma barreira ao desenvolvimento de mofo por manter um ambiente com baixa concentração de oxigênio ao redor do produto. Essas características foram atribuídas ao fato de que o queijo *Edam* holandês exportado naquela época para o Brasil teria sido fabricado com menor teor de umidade e embalado em latas, para que suportasse o longo tempo de transporte realizado nos porões dos navios, à temperatura ambiente. Atualmente, as marcas de queijo Reino mais tradicionais do mercado ainda são comercializadas nessas embalagens, o que é um diferencial nesse tipo de queijo, agregando valor e protegendo-o (FURTADO, 2007; FURTADO 2008).

2.1.2 Composição física, química, físico-química e sensorial esperada para o queijo Reino maturado

O queijo Reino não possui Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade e, portanto, é difícil enquadrá-lo nos aspectos legais quanto à caracterização físico-química. No entanto, alguns parâmetros desta composição encontrados na literatura estão apresentados na Tabela 02.

TABELA 02. Composição físico, química e físico-química média esperada para o queijo Reino maturado.

Referências						
U (%m/m)	Gd (%m/m)	EST (%m/m)	GES (%m/m)	pH	NaCl (%m/m)	Fontes
38-41	25-29	-	40-49	5,1-5,3	1,5-1,8	Furtado e Lourenço Neto (1999)
36-40	25-30	60-64	40-51	5,1-5,3	1,5-1,8	Furtado (2007)
33,72-35,79	30,87-32,76	64,21-66,28	47,78-49,65	5,70-5,78	1,08-1,18	Furtado (2008)

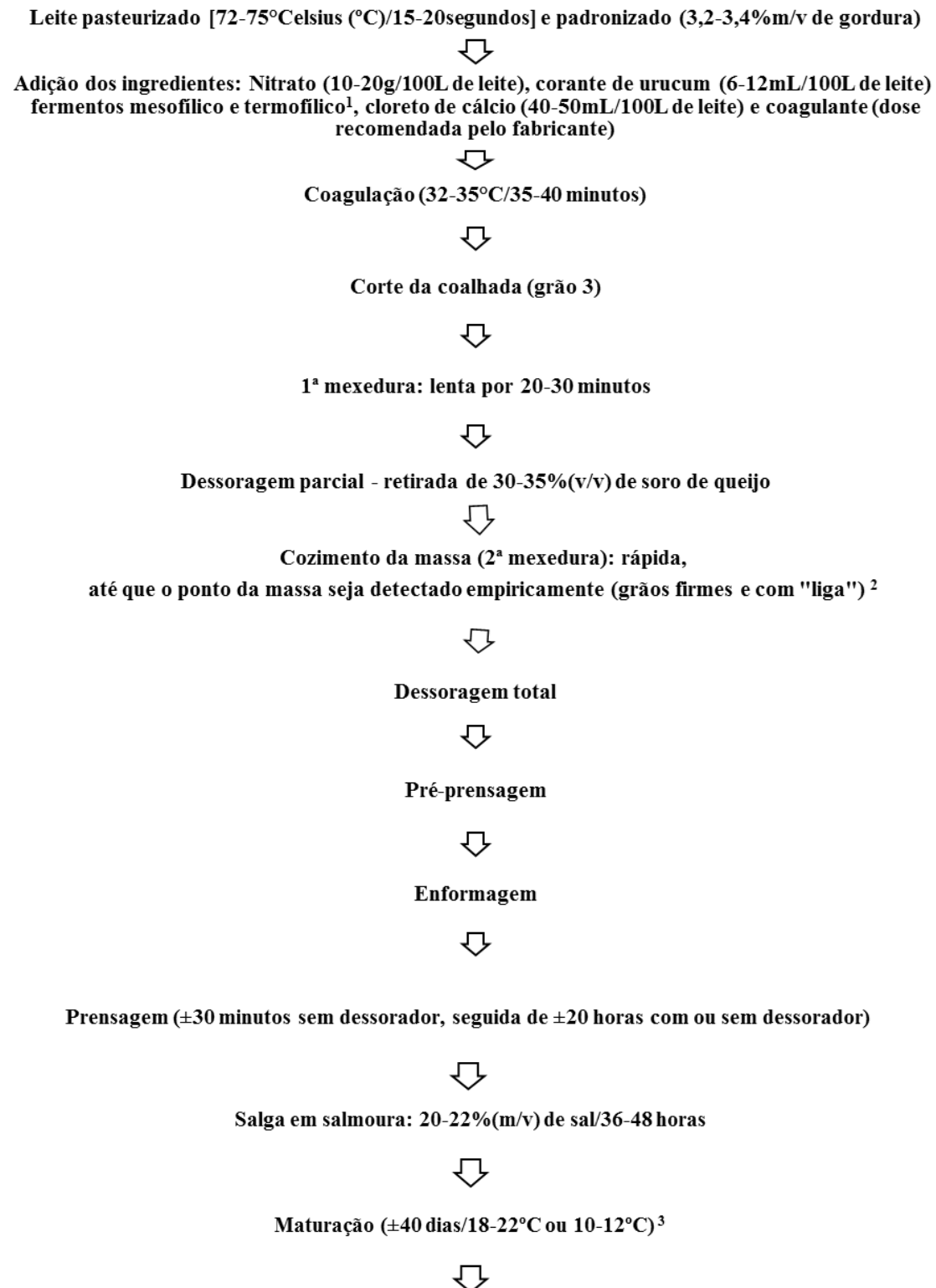
U=umidade, Gd=gordura, EST=extrato seco total, GES=gordura no extrato seco.

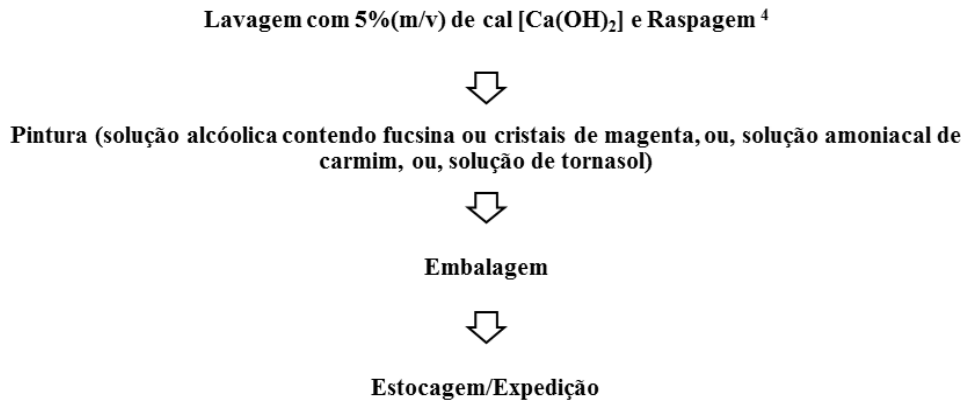
A pesquisa realizada por Furtado (2008) incluiu também os resultados médios da atividade de água (A_w), do teor de sal na umidade (% m/m) e de proteína total encontrados para o queijo Reino maturado (60 dias após a fabricação). Estes foram de 0,981-0,984; 3,02-3,30% (m/m) e, 28,96-29,86% (m/m), respectivamente.

Os atributos sensoriais do queijo Reino estão descritos na Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Nesta, o queijo Reino é apresentado como um queijo de consistência semi-dura, pouco elástica e untura tendendo a seca; cor amarelo-palha ou amarelada, homogênea, podendo ter tonalidade rósea; casca fina, lisa, de coloração vermelho ou róseo, com ou sem parafina; odor característico; sabor suavemente picante e adocicado; textura aberta, com olhos de contorno nítido de fundo brilhante, de aproximadamente 3 mm (BRASIL, 2006). Porém, estas referências não reproduzem o queijo Reino tradicional, que é caracterizado por sua textura interna relativamente dura, alaranjada, fechada ou com pequenas olhaduras, e, por seu sabor picante e aroma acentuado (FURTADO, 2008; FURTADO, 2007). Isto pode ser decorrente da falta de padronização do produto, face à falta de legislação específica para o queijo Reino.

2.1.3 Tecnologia de fabricação

A tecnologia básica de fabricação do queijo Reino tradicional está descrita a seguir, na Figura 01 (FURTADO, 2007; FURTADO, 2008).





¹Os gêneros de bactérias lácticas mais comumente empregados na fabricação do queijo Reino são: *Lactobacillus*, *Leuconostoc* e *Lactococcus*. Geralmente, emprega-se uma mistura de cultura pura de *Lactobacillus helveticus* (na dose de 0,1-0,5% m/v, num total de 1,5% m/v de fermento adicionado) com outros cultivos mesofílicos, como o fermento láctico tipo “O” (composto pelos micro-organismos *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*) ou fermento láctico “LD” (composto pelos micro-organismos *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* e *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*). O uso de *L. helveticus* tende a tornar o queijo mais firme, mais seco e de sabor mais acentuado e o uso de cultivos “LD” favorece a formação de aroma mais intenso e de olhaduras pequenas, lisas ou irregulares. O uso de cultivos concentrados (*Directo Vac System*) na fabricação do queijo Reino tem aumentado muito nos últimos anos.

²Nesta etapa, ocorre a adição de 15-20% de água quente (75-80° C) ao leite, até aquecer a massa à temperatura de 43-45° C. Temperaturas mais altas (45° C) facilitam a ação do *L. helveticus*.

³O processo de maturação varia em função da tecnologia de fabricação adotada para elaborar o queijo. Tradicionalmente, o queijo é maturado por 40 dias. No entanto, atualmente, o período de maturação vem sendo reduzido para que haja menor desidratação e contaminação da casca do mesmo.

⁴O processo de lavagem dos queijos em água quente adicionada de cal ocorre durante o processo de maturação. Trata-se de uma etapa importante da fabricação por neutralizar parcialmente o pH da casca do queijo e remover as manchas de gordura da superfície do queijo tornando-a mais lisa, o que retarda o aparecimento de mofos. O processo de raspagem consiste na remoção mecânica visível dos mofos presentes na casca do queijo, e antecede à etapa de pintura.

FIGURA 01. Fluxograma de fabricação do queijo Reino.

Fonte: Adaptado de Furtado (2007) e Furtado (2008).

2.1.4 Mercado

A produção leiteira no Brasil vem crescendo nos últimos anos revelando seu grande potencial de desenvolvimento e a consolidação do queijo como produto de importância na economia, por representar 34% da industrialização do leite produzido no país (EMBRAPA GADO DE LEITE, 2007). Além disso, foi o terceiro produto mais exportado em 2011 (responsável por 12,2% do total de produtos lácteos exportados) (EMBRAPA GADO DE LEITE, 2012).

O Brasil ocupa uma posição de destaque frente aos principais países produtores mundiais de queijos, atrás somente da União Européia (27 países membros) e dos Estados Unidos (LIMA FILHO; POMBO, 2010). A produção brasileira de queijos em toneladas (t), no período compreendido entre os anos 1993 e 2010 está detalhada no gráfico da Figura 02.

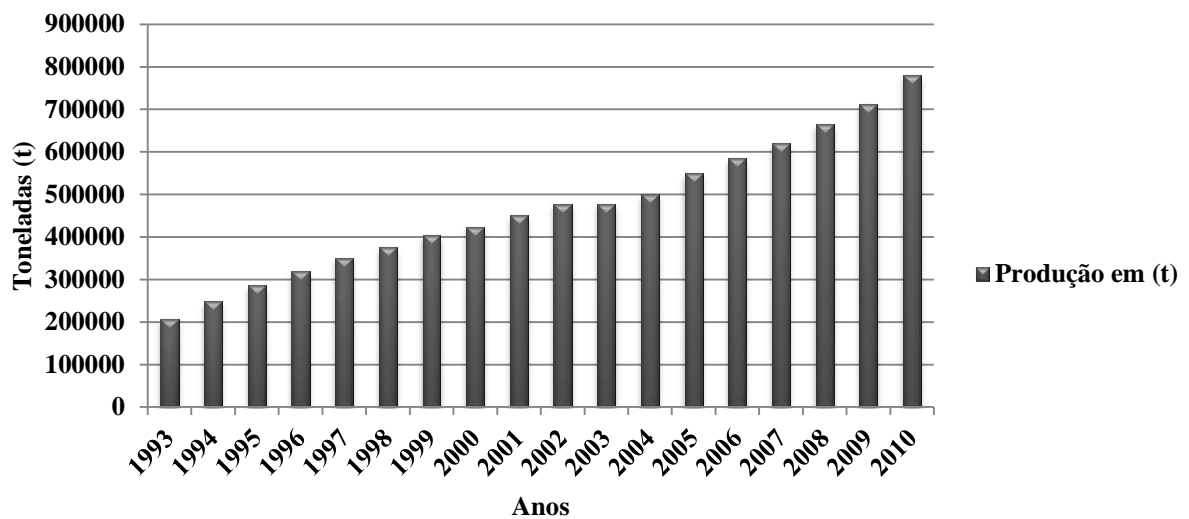


FIGURA 02. Produção brasileira de queijos em toneladas (t), no período compreendido entre os anos 1993 e 2010.

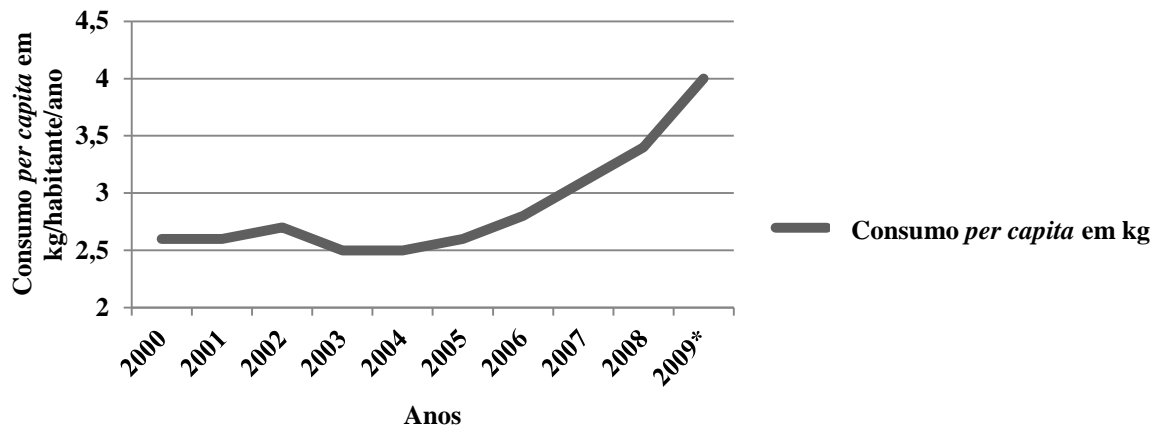
Fonte: Elaborado pelo autor com base nos dados da Associação Brasileira das Indústrias de Queijo (ABIQ) (2011).

Nesta década, a produção brasileira de queijos cresceu a uma taxa média anual de 5%. Este fato é justificado pelo aumento do consumo *per capita* no país, o que pode ser visualizado no gráfico da Figura 03. Pode-se perceber que o consumo *per capita* passou de 2,6 para 3,4 kg/habitante/ano, nos anos de 2000 e 2008, respectivamente. Desta forma, com base no crescimento médio do período, estima-se que o consumo atual seja de 4 kg/habitante/ano (LIMA FILHO; POMBO, 2010).

O aumento significativo do consumo de queijos no Brasil não ocorre somente em relação aos queijos denominados *commodities* (mussarela, prato e requeijão culinário), como também em relação aos queijos finos, dentre os quais encontra-se o Reino. O aumento na produção do mesmo pode ser verificado no gráfico da Figura 04.

O incremento na renda brasileira observado a partir do Plano Real em 1994, as mudanças nos hábitos de consumo e a redução das alíquotas de importação naquela época, são os principais fatores apontados para justificar o aumento contínuo de consumo dos queijos finos (CHALITA et al., 2009; REZENDE, 2005). Hoffman (2010) verificou que a relação elasticidade-renda da demanda para os queijos, em especial os queijos finos, apresenta um coeficiente elevado, cujo valor é 0,767.

Em relação ao potencial de exportação Guimarães et al (2008) verificaram que os maiores fluxos comerciais ocorrem nos países europeus. No entanto, eles também verificaram o recuo na participação de mercado dos mesmos, em função do aumento da participação de novos países nas exportações mundiais de queijos.



*Estimativa.

FIGURA 03. Evolução do consumo *per capita* de queijos no Brasil durante o período compreendido entre os anos 2000 e 2009*.

Fonte: Elaborado pelo autor com base nos dados da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) (2009) e Lima Filho; Pombo (2010).

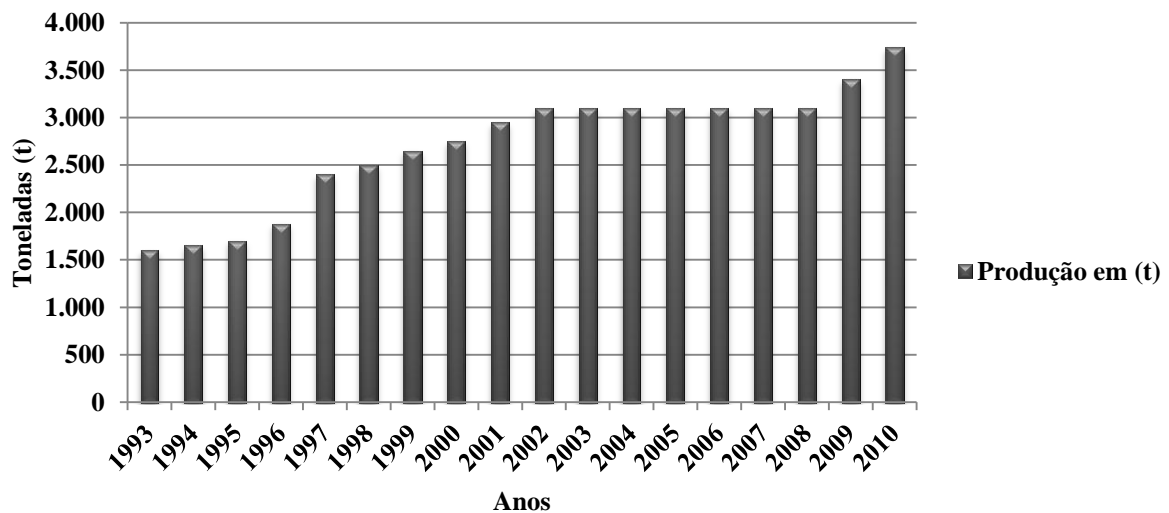


FIGURA 04. Evolução da produção do queijo Reino no Brasil (1993-2010).

Fonte: Elaborado pelo autor com base nos dados da ABIQ (2010).

Nesse contexto, produzir queijos finos representa a possibilidade de trabalhar com produtos diferenciados e de alto valor agregado, sendo, portanto, um nicho de mercado emergente com grandes oportunidades (REZENDE, 2003 e 2005). O

O queijo Reino se apresenta como um produto diferenciado em função de seu sabor e aroma e de sua embalagem atrativa e por isso, é considerado um dos queijos de maior importância para a indústria queijeira nacional. Dessa maneira, torna-se viável pensar em seu potencial de exportação, uma vez verificado o crescimento do comércio mundial de queijos (GUIMARÃES et al, 2008).

2.1.4.1 Forma de comercialização do queijo Reino

O queijo Reino é de formato esférico, bastante aromático, sua casca é ligeiramente espessa e tingida de vermelho. Tradicionalmente, é comercializado em latas esféricas (hermeticamente fechadas); atualmente, também é comercializado em embalagens de películas plásticas termo-encolhíveis (Cry-o-Vac[®]), fracionado ou não (FURTADO, 2007; FURTADO, 2008).

A massa do queijo Reino maturado variava de 1,5 a 2,0 quilos (kg) (FURTADO, 2007). No entanto, de acordo com Furtado (2008), atualmente, esta varia entre 0,900 e 1,300 kg. Algumas empresas ainda lançaram no mercado queijos menores, cujas massas variam entre 0,400 e 0,500 kg, para atender consumidores solteiros e/ou aqueles que preferam adquirir pequenas quantidades. Essa realidade traduz uma alternativa mercadológica adotada por algumas empresas a fim de reduzir os custos de produção e incentivar o consumo deste queijo (FURTADO, 2008).

O consumo do queijo Reino sempre foi sazonal e localizado, por ocorrer com maior frequência e intensidade em determinadas épocas do ano, nos estados da região Nordeste, do Brasil. Isto se deve à tradição de seu consumo nas festas de São João (junho) e Natal (dezembro) naqueles estados, em função da colonização de Pernambuco pelos holandeses, no século XVII, os quais propagaram este costume na região (FURTADO, 2007; FURTADO, 2008). Entretanto, o consumo do queijo Reino foi sendo difundido para os estados da região Sudeste do Brasil, o que levou à inserção de dois produtos distintos no mercado: um queijo tradicional, destinado aos consumidores da região Nordeste, e, um queijo com tecnologia adaptada, de sabor e aroma mais suaves, destinado aos consumidores da região Sudeste. O primeiro exige uma maturação mais prolongada, o que agrega valor ao mesmo e resulta em um queijo com características sensoriais peculiares, que atreladas às suas embalagem e casca tradicionais, fortalecem seu padrão internacional (FURTADO, 2008).

2.2 O PROCESSO DE MATURAÇÃO EM QUEIJOS

A maturação consiste em uma série de eventos físicos, bioquímicos e microbiológicos que ocorrem nos queijos que necessitam de um tempo específico de armazenamento após a fabricação para que os atributos sensoriais típicos do mesmo se desenvolvam. O tempo de

maturação pode variar de semanas a vários meses, em função do tipo de queijo (UPADHYAY et al, 2004).

O processo de maturação altera, sobretudo, o conteúdo de gordura e proteína dos queijos. No entanto, o metabolismo da lactose e dos sais é importante em todas as variedades de queijos e crítico em algumas (FOX et al, 2000).

Segundo El Soda (1995), o processo de maturação pode ser dividido em duas fases:

Na primeira, as caseínas são convertidas em peptídeos e aminoácidos; os triacilgliceróis são hidrolisados a ácidos graxos; e a lactose é degradada, originando como produto principal de sua fermentação, o ácido láctico.

Já na segunda fase, os produtos finais resultantes da primeira são convertidos em: aminas, ácidos orgânicos, compostos sulfurados e dióxido de carbono, a partir dos peptídeos e aminoácidos; cetonas, lactonas, aldeídos, álcoois secundários e dióxido de carbono, a partir dos ácidos graxos; e, ácidos orgânicos e dióxido de carbono, a partir do ácido láctico.

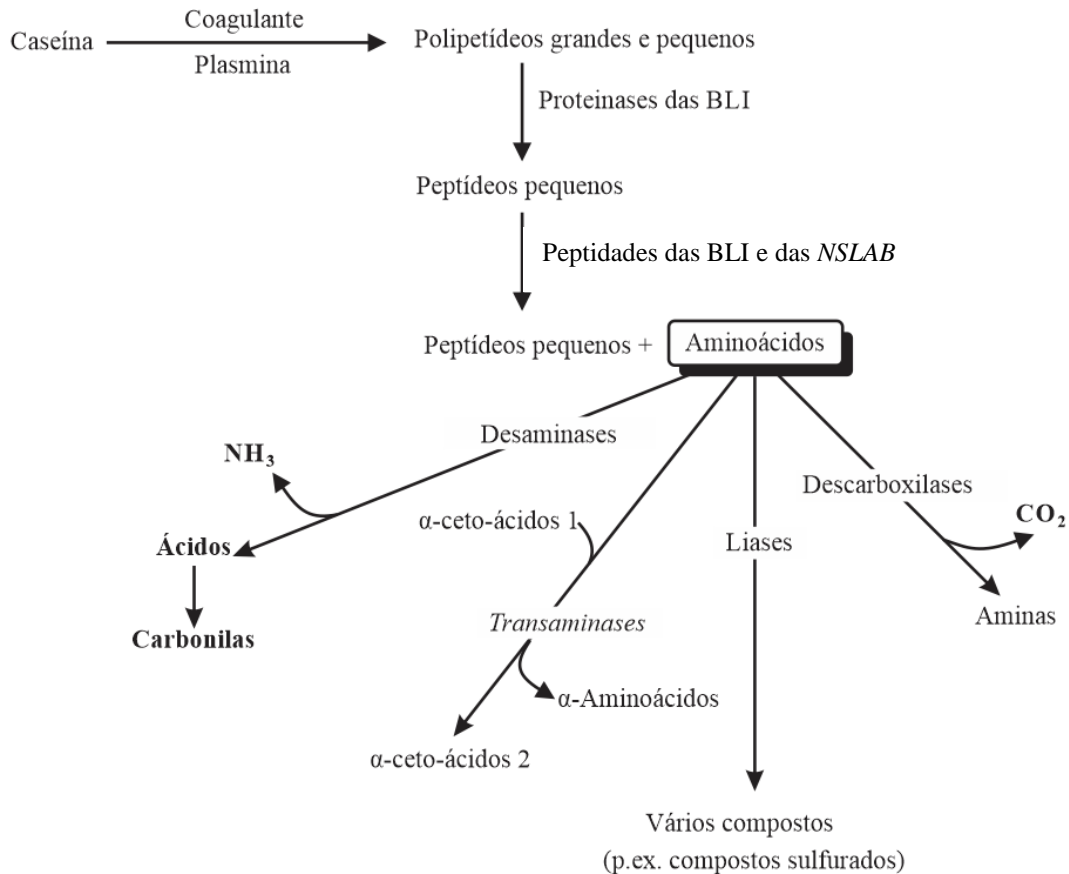
Dessa maneira, tem-se que os principais eventos ocorridos durante o processo de maturação em queijos são a hidrólise das caseínas (proteólise) e da gordura (lipólise), e, a fermentação da lactose. Estes são dependentes da composição do leite, do processo de fabricação, do pH, do teor de sal, da atividade de água, da temperatura de armazenamento, e, principalmente, do tipo de fermento presente no queijo (McSWEENEY, 2004a e 2004b; UPADHYAY et al, 2004).

2.2.1 Proteólise

A proteólise é o fenômeno mais complexo e o mais importante evento bioquímico primário que ocorre durante a maturação, para o desenvolvimento do perfil de textura e do *flavour* do queijo. Esta pode ser definida como a hidrólise das caseínas por meio da ação proteolítica das enzimas presentes no coagulante residual retido na coalhada e das proteinases naturais presentes no leite, o que resulta na produção de grande quantidade de peptídeos de massa molecular elevada e média (primeira fase da proteólise). Estes serão hidrolisados a peptídeos pequenos e aminoácidos pelas proteinases e peptidases do fermento lácteo, das *Non Starter Lactic Acid Bactéria (NSLAB)* e de fontes exógenas (fases posteriores da proteólise) (Figura 05) (McSWEENEY, 2004a e 2004b; UPADHYAY et al, 2004).

A primeira fase da proteólise no queijo é resultante principalmente, das ações do coagulante residual retido na coalhada e das proteinases naturais presentes no leite. Esta fase

afeta basicamente a consistência do queijo, que perde a estrutura “borrachenta” e se torna mais macio (McSWEENEY, 2004a e 2004b, SOUZA et al, 2001).



* BLI=Bactérias lácticas iniciadoras, NSLAB= *Non Starter Acid Lactic Bacteria*.

FIGURA 05. Evolução da proteólise em queijos.

Fonte: McSWEENEY, 2004a.

A maior parte do coagulante adicionado ao leite é removida com a dessoragem da coalhada. No entanto, até 30% do mesmo pode ficar retido na mesma em função, do tipo de enzima presente, do pH do soro drenado (menor pH resulta em maior retenção), da temperatura de cozimento da massa (maior temperatura, maior degradação da α_1 -caseínas), da variedade e da umidade do queijo (SOUZA et al, 2001). Esta retenção do coagulante caracteriza uma importante fonte de enzimas proteolíticas, que participam da proteólise durante a maturação do queijo (UPADHYAY et al, 2004), uma vez que, a quimosina residual hidroliza a β -caseínas (em sete locais, por exemplo, na posição Leu 192-Tyr 193) e a α_1 -caseínas (posição Phe 23-Phe 24), formando respectivamente, peptídeos hidrofóbicos de cadeia curta (amargos) e peptídeos pequenos, que serão hidrolisados pelas enzimas do fermento láctico.

A principal protease natural do leite é a plasmina, que é uma protease alcalinao originária do sangue. Esta é a forma ativa que é produzida a partir do zimógeno denominado plasminogênio, por meio de um sistema de ativadores e inibidores de ambos (Figura 06) (McSWEENEY, 2004a e 2004b, UPADHYAY et al, 2004).

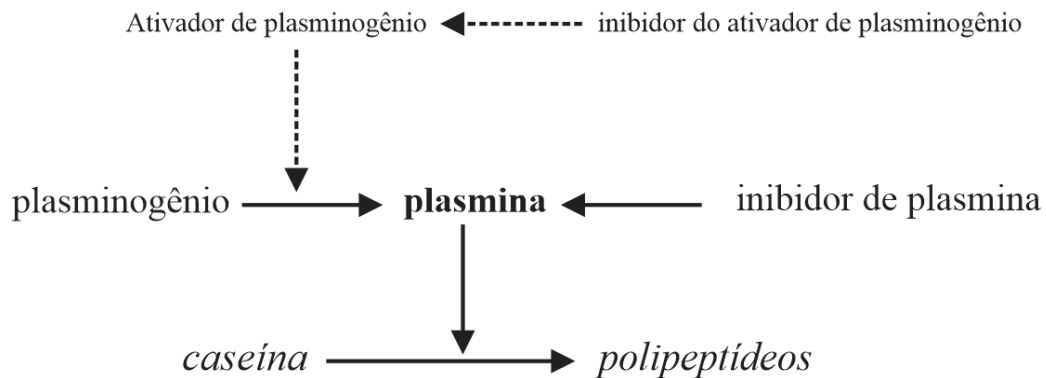


FIGURA 06. Sistema plasmina/plasminogênio no leite.

Fonte: UPADHYAY et al, 2004.

No leite, plasmina, plasminogênio e ativadores de plasminogênio estão, sobretudo, associados às micelas de caseínas, enquanto os inibidores de plasmina e de ativadores de plasminogênio são encontrados no soro, sendo perdidos na dessoragem (McSWEENEY, 2004a e 2004b; VIEIRA, 2010).

A plasmina possui atividade ótima em pH 7,5 e 37°C. Sua atividade é maior em queijos de massa cozida ($\geq 55^{\circ}\text{C}$) provavelmente devido à inativação térmica dos inibidores de ativadores de plasminogênio e de plasmina. A ação da plasmina no queijo depende do pH (em pH de dessoragem baixo a plasmina se dissocia da micela de caseínas, ficando menos retida na massa do queijo), da concentração de sal, do teor de umidade e da temperatura durante a maturação (McSWEENEY, 2004a e 2004b; UPADHYAY et al, 2004).

A especificidade da plasmina é restrita a ligações de peptídeos tipo Lys-X, em menor extensão Arg-X, e a mesma degrada as caseínas na ordem β -caseínas \approx α_2 -caseínas $>$ α_1 -caseínas. A κ -caseínas parece ser mais resistente à ação desta proteinase. No entanto, o substrato mais importante da plasmina são as β -caseínas, as quais são clivadas em três sítios específicos: Lys28-Lys29, Lys105-His106 e Lys107-Glu108, para produzirem γ_1 -caseínas, γ_2 -caseínas, γ_3 -caseínas e proteoses peptonas PP8_f, PP8_s e PP5. Por isso, uma evidência direta da atuação da plasmina na maturação de queijo é o acúmulo de γ -caseínas (UPADHYAY et al, 2004).

As fases posteriores da proteólise irão contribuir para o refinamento do sabor, aroma e características típicas do queijo e é dependente, sobretudo, da ação das enzimas peptidolíticas da microbiota secundária presente no queijo, que convertem os aminoácidos e peptídeos a aminas, ácidos orgânicos, compostos sulfurados e dióxido de carbono (UPADHYAY et al, 2004; SOUZA et al, 2001).

No queijo Reino, o *Lactobacillus helveticus* se apresenta ativo desde a primeira fase da maturação, e gera aminoácidos de forma persistente no queijo, em função do seu eficiente sistema proteolítico e peptidolítico. Com o decorrer da maturação exo e endoenzimas de outros micro-organismos também prosseguem com a degradação de peptídeos de baixa massa molecular, liberando aminoácidos que pouco a pouco sofrem outras transformações, o que resulta no *flavour* tradicional do queijo (FURTADO, 2011).

2.2.1.1 Determinação dos índices de proteólise em queijos

Em 1894, Bondzynski sugeriu os substantivos “extensão” e “profundidade” para designar os eventos que ocorrem na proteólise do queijo (WOLFSCHOON-POMBO; LIMA, 1989). Atualmente, estes índices são referenciados como relação % de $NS_{pH4,6}/NT$ e relação % de $NS_{TCA12\%}/NT$, respectivamente.

A relação % de $NS_{pH4,6}/NT$ está fundamentalmente relacionada com as proteínas naturais do leite (plasmina) e com o coagulante residual, os quais degradam a proteína em peptídeos de média e alta massas moleculares; ou seja, um indicativo da primeira fase da proteólise (WOLFSCHOON-POMBO; LIMA, 1989).

A relação % de $NS_{TCA12\%}/NT$ está relacionada principalmente com a atividade das endo e exoenzimas da cultura lática empregada na fabricação do queijo, e de possíveis contaminantes, que degradam os peptídeos de alta massa molecular a peptídeos de baixa massa molecular ; ou seja, está relacionada com as fases posteriores da proteólise (Figura 07). No entanto, não há uma divisão precisa onde começa um índice e termina o outro (WOLFSCHOON-POMBO; LIMA, 1989).

Tradicionalmente, o Método de *Kjeldahl* é o mais empregado para se determinar estes índices, baseando-se na partição do nitrogênio em nitrogênio solúvel em pH 4,6 e nitrogênio solúvel em ácido tricloroacético 12%(m/v) (TCA 12% m/v), respectivamente (PEREIRA et al, 2001).

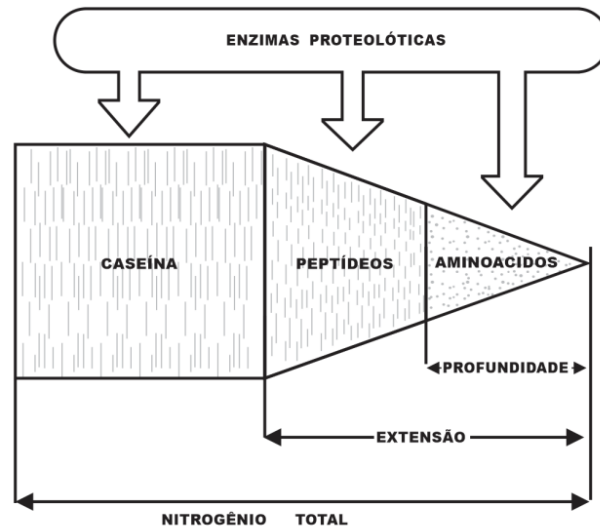


FIGURA 07. Esquema da extensão e da profundidade de proteólise em queijos.
 Fonte: WOLFSCHOON-POMBO; LIMA, 1989.

2.2.2 Lipólise

Os lipídeos (triacilgliceróis -TAG) presentes no queijo constituem uma importante fonte de sabor e aroma para o mesmo. Segundo Fox et al (2000), McSweeney e Souza (2000), isto ocorre de três maneiras:

1. Os TAGs podem sofrer degradação oxidativa, levando à formação de vários aldeídos insaturados de aroma intenso, causando o defeito conhecido como ranço oxidativo. No entanto, a extensão da oxidação lipídica não é significativa no queijo, visto seu baixo potencial de redução (-250 mili volts).

2. Podem funcionar como solventes de compostos aromáticos desagradáveis ao *flavor* característico do queijo, oriundos não somente deles, mas também da proteína e da lactose.

3. A hidrólise enzimática (lipólise) dos TAGs a ácidos graxos e glicerol, mono ou diglicerídeos se trata de um importante evento bioquímico ocorrido durante o processo de maturação do queijo que tem sido extensivamente estudado, sobretudo, em variedades de queijos azuis e duros, nos quais é fundamental para a geração do sabor característico. Os ácidos graxos livres, especialmente os de cadeia curta, apresentam sabor intenso e característico. Estes são precursores de vários compostos de sabor e aroma, tais como metilcetonas, lactonas, ésteres, alcanos e álcoois secundários.

A lipólise ocorre por ação de enzimas lipolíticas, denominadas lipases. Estas podem provir do leite, do coagulante, do fermento lácteo, das *NSLAB*, de micro-organismos acompanhantes e de preparações de lipases exógenas (FOX et al, 2000; McSWEENEY; SOUZA, 2000).

A lipase existente naturalmente no leite cru é uma lipoproteína, com atividade ótima em pH 6,5-9,0 e temperatura entre 35 e 40° C. Não possui especificidade por determinado ácido graxo, mas é específica para as posições *sn-1* e *3* de mono-, di- e triacilgliceróis. Portanto, a lipase do leite libera, preferencialmente, ácidos graxos de cadeias curta e média, uma vez que estes são predominantemente esterificados na posição *sn-3* (FOX et al, 2000; McSWEENEY; SOUZA, 2000).

Mais de 90% destas enzimas se encontram associadas às micelas e caseínas, enquanto os TAGs se encontram envoltos por uma membrana lipoproteica. Caso ocorra algum dano a esta membrana, como por exemplo, devido à agitação, formação de espuma, homogeneização, ordenha inadequada ou técnicas de tratamento do leite, poderá ocorrer a lipólise resultando em um sabor desagradável e atípico no queijo. (FOX et al, 2000; McSWEENEY; SOUZA, 2000).

Cabe salientar que as lipases do leite são extensivamente inativadas pelo processo de pasteurização rápida, fato que justifica sua ação ser mais significativa em queijos fabricados a partir de leite cru (COLLINS; McSWEENEY; WILKINSON, 2004; FOX et al, 2000).

Os coagulantes de boa qualidade não apresentam ação lipolítica. No entanto, os coagulantes em pasta utilizados na fabricação de variados queijos duros italianos contêm lipases derivadas dos tecidos pré-gástricos ou gástricos de ruminantes jovens (COLLINS; McSWEENEY; WILKINSON, 2004; FOX et al, 2000). Estas possuem especificidade por ácidos graxos de cadeia curta esterificados na posição *sn-3*, e, possuem atividade ótima em pH 4,8-5,5 e temperatura entre 32 e 42° C (COLLINS; McSWEENEY; WILKINSON, 2004; FOX et al, 2000).

As lipases de origem microbiana são enzimas intracelulares, com atividade ótima em pH 7,0-8, temperatura ótima em torno de 37°C e incluem as do fermento láctico, de *NSLAB* e micro-organismos acompanhantes (COLLINS; McSWEENEY; WILKINSON, 2004; FOX et al, 2000).

As lipases das BLI são pouco lipolíticas, como as dos *Lactococcus* e *Lactobacillus*. No entanto, são responsáveis pela lipólise em queijos com microbiota essencialmente láctica e feitos com leite pasteurizado, como os queijos holandeses e *Cheedar*. Em queijos fabricados com leite cru, elas podem liberar ácidos graxos de cadeia curta derivados de mono- ou di-

glicerídeos produzidos a partir da ação lipolítica de outras lipases, tais como as do leite ou das *NSLAB*, o que reforça a atuação destas (COLLINS; McSWEENEY; WILKINSON, 2004; FOX et al, 2000).

As lipases do fermento secundário e de micro-organismos acompanhantes atuantes no processo de lipólise no queijo incluem as das espécies *Brevibacterium linens* e *Geotrichum candidum*, de bactérias propiônicas (*Propionibacterium shermanii* e *P. freudenreichii* subsp. *Freudenreichii*), de bactérias típicas de queijos maturados por mofo (*Penicillium roqueforti* e *P.camemberti*) e de psicotróficos (*Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Enterobacter*). Estes últimos estão presentes no leite cru refrigerado e apresentam enzimas lipolíticas termoestáveis que atuam de forma significativa neste processo, quando a concentração destes micro-organismos excede 10^7 UFC/mL (causam rancidez oxidativa) (FOX et al, 2000).

As lipases das *NSLAB* incluem as dos *Micrococcus* e *Pediococcus*, que possuem ação lipolítica e também contribuem para tal processo (FOX et al, 2000).

2.2.3 Fermentação da lactose e do citrato

A maior parte da lactose é perdida no soro do queijo sob a forma de lactose e/ou lactato. Contudo, ao final do processo de fabricação do queijo, baixos níveis deste açúcar permanecem na coalhada (FOX; McSWEENEY, 2004; McSWEENEY, 2004).

Em condições normais, a lactose residual é metabolizada rapidamente pelas Bactérias lácticas iniciadoras (BLI), o que resulta na produção de ácido láctico, sobretudo sob a forma L-lactato. O completo e rápido metabolismo da mesma é essencial para a qualidade do queijo, uma vez que evita o desenvolvimento de uma microbiota secundária indesejável (desenvolvimento das *NSLAB*) (FOX; McSWEENEY, 2004; McSWEENEY, 2004).

A taxa e extensão da acidificação tem grande impacto na textura do queijo, em função da desmineralização da micelas de caseínas, na proteólise (devido ao aumento da susceptibilidade das micelas de caseínas desmineralizadas à proteólise), e, na retenção do coagulante na coalhada (FOX; McSWEENEY, 2004; McSWEENEY, 2004).

O leite bovino contém cerca de 1.750 mg de citrato por litro, a maioria dos quais se encontra na fase solúvel e, assim, é perdido no soro. Os níveis de citrato na coalhada são aproximadamente três vezes mais elevados do que no soro do queijo, provavelmente devido à concentração de citrato coloidal (FOX; McSWEENEY, 2004; McSWEENEY, 2004a e 2004b).

Os produtos oriundos do metabolismo do citrato incluem gás carbônico (CO₂), responsável pela formação de olhaduras, e compostos aromáticos (diacetil) que contribuem para o desenvolvimento de sabor característico (FOX; McSWEENEY, 2004; McSWEENEY, 2004a e 2004b).

O lactato produzido a partir da lactose pelo crescimento das BLI é um importante substrato para várias reações que ocorrem no queijo durante a maturação. Os compostos formados devido à sua degradação incluem propionato, acetato, CO₂, H₂O e L(+)-Lactato (FOX; McSWEENEY, 2004; McSWEENEY, 2004a e 2004b).

No queijo Reino as BLI são representadas pelas espécies mesofílicas: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* e pela espécie termofílica *Lactobacillus helveticus* (FURTADO, 2007; FURTADO, 2008).

As espécies *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* e *Lactobacillus helveticus* são homofermentadoras (fermentam apenas a lactose) e são capazes de produzir grande quantidade de ácido láctico (estritamente acidificantes). A espécie *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* produz compostos aromáticos, como a acetáina e o diacetil, a partir da fermentação do ácido cítrico; apesar de algumas cepas fermentarem a lactose. A espécie *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* é heterofermentadora, capaz de produzir gás carbônico a partir da fermentação da lactose e do ácido cítrico (FOX; McSWEENEY, 2004; FURTADO, 2011; McSWEENEY, 2004a e 2004b).

2.2.3.1 Formação de cristais de lactato de cálcio (CLC)

Os cristais de lactato de cálcio (CLC) tendem a tornar o queijo pouco atrativo para os consumidores, uma vez que estes os associam a contaminação por mofos e/ou defeito de fabricação (AGARWAL et al, 2006a, 2006b, 2008; RAJBHANDARI, KINDSTEDT, 2008).

As perdas financeiras provocadas pela presença dos CLC têm aumentado o investimento em pesquisas por partes das indústrias, a fim de reduzir a ocorrência do problema em queijos duros e semiduros (AGARWAL et al, 2006a, 2006b, 2008; RAJBHANDARI; KINDSTEDT, 2008).

Os CLC são formados, principalmente, a partir do cálcio existente no leite e do lactato, ou, de forma mais específica, a partir do lactato de cálcio pentahidratado

[Ca(CH₃CHOHCOO)₂ · 5H₂O] (AGARWAL et al, 2006b, 2008). O cálcio do leite e do queijo está presente sob duas formas: solúvel (dissociado das caseínas) e coloidal ou insolúvel (associado às caseínas). A forma solúvel do cálcio pode rapidamente combinar com o lactato para formar o lactato de cálcio. Quando ocorre a supersaturação do meio aquoso em função da concentração de lactato de cálcio, microcristais de lactato de cálcio são formados. Estes podem, então, se acumular e formar macrocristais visíveis ao olho nú, que se apresentam como pontos brancos na superfície e em trincas existentes no interior do queijo (AGARWAL et al, 2006b).

A formação de CLC é atribuída a uma série de variáveis, e, não só ao excesso de formação de lactato de cálcio. Dessa maneira, a formação dos CLC ocorre por ação direta dos lactobacilos da cultura láctea iniciadora ou das *NSLAB*, que convertem o ácido pirúvico a L(+) -ácido láctico (por meio da enzima L-lactato desidrogenase) e/ou D(-)-ácido láctico (por meio da enzima L-lactato desidrogenase) de acordo com sua capacidade de produzir tais formas racêmicas (Figura 08). O ácido láctico reage com o cálcio, formando o lactato de cálcio, que estará também, sob as duas formas. A racemização do lactato é significativa uma vez que a solubilidade do D(-)-Lactato é menor que a do L(+)-Lactato, logo, a presença daquele favorece a formação dos CLC (McSWEENEY; FOX, 2004; McSWEENEY, 2004a e 2004b).

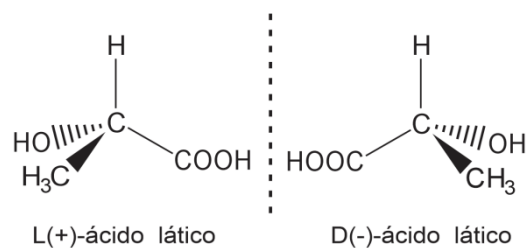


FIGURA 08. Formas racêmicas do ácido láctico.

Fonte: McSWEENEY; FOX, 2004.

Diversos estudos demonstraram a forte associação entre a formação de CLC e a presença de *NSLAB*, comprovando que quanto maior o número destas, maior é a probabilidade de ocorrer a formação dos cristais devido sua capacidade de formar D(-)-Lactato (AGARWAL et al, 2006a, 2006b, 2008; McSWEENEY; FOX, 2004; McSWEENEY, 2004a e 2004b; RAJBHANDARI; KINDSTEDT, 2008). Outros fatores também foram associados ao desenvolvimento dos cristais, tais como: a composição do leite, e, o processo de fabricação, a microbiota, o tipo de embalagem e a temperatura de maturação do queijo. A

oscilação da temperatura de maturação também possui forte associação com o aparecimento dos CLC, por permitir o crescimento das *NSLAB* (AGARWAL et al, 2006a, 2006b e 2008).

2.3 DISTRIBUIÇÃO DE SAL NO QUEIJO

O cloreto de sódio (NaCl) é comumente empregado no processo de salga em queijos. Este processo tem como objetivos principais atuar na conservação, contribuir para a melhoria do *flavor* e da qualidade do produto (FOX et al, 2000; FURTADO, 1991; McSWEENEY, 2007; MORRIS et al, 1985; PAYNE; MORISON, 1999).

A ação conservante do sal se dá por meio da redução da atividade de água (A_w) do queijo, que representa a fração de água livre disponível para o desenvolvimento microbiano. Desta forma, reduzindo-se a A_w , o desenvolvimento de micro-organismos se torna limitado. Além disso, ele aumenta a pressão osmótica da fase aquosa do queijo, causando a desidratação das células bacterianas, matando-as ou, impedindo o seu crescimento (McSWEENEY, 2007; MORRIS et al, 1985; PAYNE; MORISON, 1999).

O NaCl contribui diretamente para o sabor salgado no queijo, que geralmente é desejável no produto, uma vez que um queijo sem sal se apresenta insípido e “aguado” (McSWEENEY, 2007). No entanto, a maior contribuição do sal para o desenvolvimento do *flavor* do queijo se dá de forma indireta por meio de sua interferência na atividade microbiana e enzimática, que, por sua vez influenciam no metabolismo da lactose do queijo, no pH, nos fenômenos de proteólise e lipólise, e, conseqüentemente, na formação de compostos aromáticos (tais como peptídeos, ácidos aminados e ácidos graxos livres) (FOX et al, 2000; FURTADO, 1991 e 2011; HOFMEISTER et al, 2005; McSWEENEY, 2007). Outras funções do sal no queijo são contribuir para a complementação da sinérese e formação da casca e para a seleção da microbiota do mesmo (FURTADO, 1991).

Segundo Guinee e Fox (1987), existem três principais formas de salgar o queijo: diretamente massa, a seco e em salmoura. Esta última, mais comumente empregada, consiste em uma solução salina de cloreto de sódio a 20% (m/v), na maioria dos casos, exceto para alguns tipos de queijos ou tecnologias. Ela não deve apresentar teor menor que 16%-17% (m/v) e nem superior a 20% (m/v), uma vez que o excesso de sal poderá comprometer a qualidade final do queijo (FURTADO, 1991).

Durante o processo de salga em salmoura a casca do queijo funciona como uma membrana semipermeável que permite a ocorrência de dois fluxos importantes: a entrada de

cloreto de sódio no queijo por difusão e a perda de água e de alguns sólidos solúveis (ácido láctico, lactose nitrogenado não proteico) presentes naquele para a salmoura por osmose (FURTADO, 1991; GUINEE; FOX, 1987; HOFMEISTER et al, 2005).

O processo de salga em salmoura geralmente é lento, requer horas ou dias, e, é dependente de diversos fatores que afetam a absorção de sal pelo queijo, entre os quais a concentração, a temperatura, o pH e o teor de cálcio da salmoura, e, os teores de umidade, gordura, o tamanho, o formato e o tempo de salga do queijo (FURTADO, 1991; McSWEENEY, 2007; FOX et al, 2000).

Quanto maior o teor de sal da salmoura, maior é a velocidade de absorção de sal pelo queijo. Entretanto, o aumento da concentração de sal da salmoura não reflete em igual aumento na velocidade de absorção de sal pelo queijo, uma vez que, a maior parte da absorção ocorre nas primeiras horas de salga e reduz gradativamente até que a máxima capacidade de absorção do queijo seja atingida (FURTADO, 1991; GUINEE; FOX, 1987). À medida em que o teor de sal na massa aumenta há uma tendência de equilíbrio osmótico, ocorrendo uma redução na velocidade de migração de sal no queijo. Essa redução na velocidade de migração do sal no queijo não está bem clara, mas pode ser devido ao aumento da viscosidade da solução, o que se torna mais um fator de impedimento da difusão de sal nos queijos (GUINEE; FOX, 1987).

De forma geral, os queijos devem ser salgados em salmouras cujas temperaturas permaneçam entre 10 e 12°C, a fim de controlar as fermentações e a velocidade da difusão do sal no queijo. O aumento da temperatura da salmoura torna mais rápido a absorção de sal pelo queijo, por modificar o tamanho dos poros da matriz proteica e provocar aumento real da difusão do sal, porém, ocasiona consequências desagradáveis para o queijo, como a exsudação de gordura para a superfície. Por outro lado, temperaturas muito baixas (abaixo de 7° C) retardam significativamente o processo de salga (FOX et al, 2000; FURTADO, 1991; GUINEE; FOX, 1987). Deve-se, também, manter o pH da salmoura próximo ao pH do queijo e controlar o teor de cálcio nesta, para evitar possíveis defeitos da casca do queijo (FURTADO, 1991).

Quando o pH da salmoura é muito baixo, ele pode aproximar-se do ponto isoelétrico da caseínas (pH 4,6), levando a uma precipitação de proteínas da casca. Consequentemente, ocorre um aumento da perda de água pelo queijo e uma diminuição da velocidade de absorção de sal (GUINEE; FOX, 1987).

O fenômeno da difusão que ocorre durante o processo de salga em salmoura, leva ao enriquecimento do queijo em sódio (sob a forma de paracaseinato de sódio) e da salmoura em

cálcio (sob a forma de cloreto de cálcio). A salmoura enriquece-se com cálcio até um certo limite, com o decorrer do tempo. À medida em que aumenta o teor de cálcio da salmoura, o queijo tende a salgar-se mais lentamente e a perder, em termos relativos, mais massa (FURTADO, 1991).

Em relação aos aspectos do queijo relacionados ao processo de salga tem-se que quanto maior o teor de umidade e menor o teor de gordura no extrato seco (GES) maior a absorção de sal pelo queijo (FURTADO, 1991; GUINEE; FOX, 1987). E, a taxa de absorção do sal aumenta com o aumento da área superficial, ou seja, para um mesmo tempo de salga, queijos com formato plano absorvem maior quantidade de sal do que queijos com formato esférico (por apresentarem três e duas direções eficazes para a absorção do sal, respectivamente) (FOX et al, 2000; FURTADO, 1991; GUINEE; FOX, 1987; McSWEENEY, 2007;).

Quanto ao tempo de salga, quanto maior, maior é a quantidade de sal absorvida pelo queijo. Entretanto, esta relação não é linear, ou seja, o aumento da concentração de sal da salmoura não reflete em igual aumento na quantidade de sal absorvida pelo queijo, uma vez que, a maior parte da absorção ocorre nas primeiras horas de salga e reduz gradativamente até que a máxima capacidade de absorção do queijo seja atingida (FURTADO, 1991; GUINEE; FOX, 1987).

O processo de salga do queijo em salmoura envolve a transferência de calor e de massa e ambos os processos influenciam na qualidade final do produto. Geurts et al (1974) concluíram que o processo de penetração do sal no queijo e a saída concomitante em sentido oposto da água podem ser descritos como um processo de difusão impedido, isto é, as moléculas de NaCl e de água movem-se em resposta a seus respectivos gradientes de concentração e essa movimentação é dificultada pela tortuosidade e fricção causados pelos glóbulos de gordura e micelas de caseínas e também pela viscosidade da fase aquosa. Por este motivo, a taxa de difusão do NaCl no interior do queijo é menor do que em uma solução pura, sendo então denominada coeficiente de pseudo difusão. No entanto, o modelo proposto por Geurts et al (1974) considera a difusão em apenas uma direção e, em um queijo comercial, no qual a difusão do sal ocorre em todas as direções, esse modelo matemático não pode ser aplicado (GUINEE; FOX, 1983). O Método de Elementos Finitos (MEF), em modelo tridimensional, é empregado, com o auxílio de *software*, para estudos de transferência de massa e calor, e tem como base a lei de Difusão de *Fick*.

Dessa forma, comumente, a Lei de Difusão de *Fick* é adotada para estimar a absorção de sal por um queijo em salmoura e leva em consideração área, volume, concentração de sal

na salmoura e tempo de duração da salga (FOX et al, 2000; FURTADO, 1991). Desta maneira é possível calcular o tempo ideal de salga para um queijo ou o coeficiente de difusão de sal no queijo, dentre outros.

Segundo Furtado (2007) e Furtado (2008), a concentração da salmoura utilizada para salgar o queijo Reino situa-se entre 20-22% (m/v) de NaCl, o tempo de salga varia entre 36 a 48 horas, a uma temperatura de 10-12° C. Ao fim do período de salga, o queijo é retirado da salmoura e estocado durante determinado período, no qual o sal e a água continuarão a se difundir no interior do mesmo, até que a condição de equilíbrio seja atingida e assim, o sal se encontra distribuído homogeneamente no queijo (FONTAN et al., 2004; GUINEE; FOX, 1987).

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

Consolidar as especificações técnico-científicas para o queijo Reino versando sobre os requisitos físico-químicos e sensoriais, com o objetivo de viabilizar a inserção do mesmo no mercado externo.

3.2 ESPECÍFICOS

- Monitorar a qualidade do queijo Reino produzido em Minas Gerais quanto à padronização de tecnologia de fabricação, maturação e expedição, com vistas ao encaminhamento do mesmo a mercados mais distantes, como o Nordeste brasileiro (sua rota atual) e Europa (rota potencial);
- Determinar a composição centesimal e a proteólise do queijo Reino durante o processo de fabricação e *shelf life*, como ferramenta de subsídio à fabricação do produto;
- Determinar quanto tempo é necessário para que o sal se distribua homogeneamente no queijo Reino;
- Determinar o perfil sensorial do queijo Reino submetido à diferentes condições de estocagem.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 LOCALIZAÇÃO

A fabricação e a estocagem dos queijos Reino foi realizada na fábrica de laticínios MB, no município de Lima Duarte, Minas Gerais, Brasil.

As análises físico-químicas do leite cru, do leite pasteurizado, do soro e da salmoura foram realizadas no Laboratório de Controle de Qualidade da indústria supracitada. As análises físico-químicas do queijo Reino foram realizadas nos Laboratórios de Pesquisa do Instituto de Laticínios Cândido Tostes (ILCT), da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), em Juiz de Fora, Minas Gerais (MG).

As análises sensoriais foram conduzidas no Laboratório de Análise Sensorial do ILCT-EPAMIG, Juiz de Fora, MG.

4.2 SELEÇÃO DA UNIDADE PRODUTORA DE QUEIJO REINO

A indústria parceira do projeto foi selecionada por meio de uma avaliação na qual os atributos em questão versaram sobre a condição de ser uma empresa de tradição, com participação representativa no mercado, com volume e frequência de produção do queijo Reino, e ainda, sobre a qualificação, a localização e o interesse em exportação da empresa. Desta maneira, optou-se pela indústria de laticínios MB localizada no município de Lima Duarte, no Estado de Minas Gerais, Brasil. Esta atendeu aos requisitos avaliados e está localizada próxima à cidade de Juiz de Fora, onde foram realizadas as análises físico-químicas e sensoriais do queijo Reino.

A proximidade da empresa se fez relevante pela necessidade de transportar o queijo Reino da empresa fabricante aos laboratórios de análises físico-químicas e sensoriais do ILCT, para que o mesmo fosse analisado. Devido à perecibilidade do produto, buscou-se o menor trajeto, para manter a fidelidade das características analisadas.

4.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS

A tecnologia de fabricação do queijo Reino foi discutida em conjunto em reunião com

os responsáveis técnicos do Laticínios MB. Optou-se por ajustar a fabricação tradicional da indústria, seguindo um controle de todas as etapas de fabricação, bem como dos tempos e condições de salga, secagem, maturação e embalagem.

A tecnologia de elaboração do queijo Reino foi padronizada de acordo com o fluxograma a seguir (Figura 09).

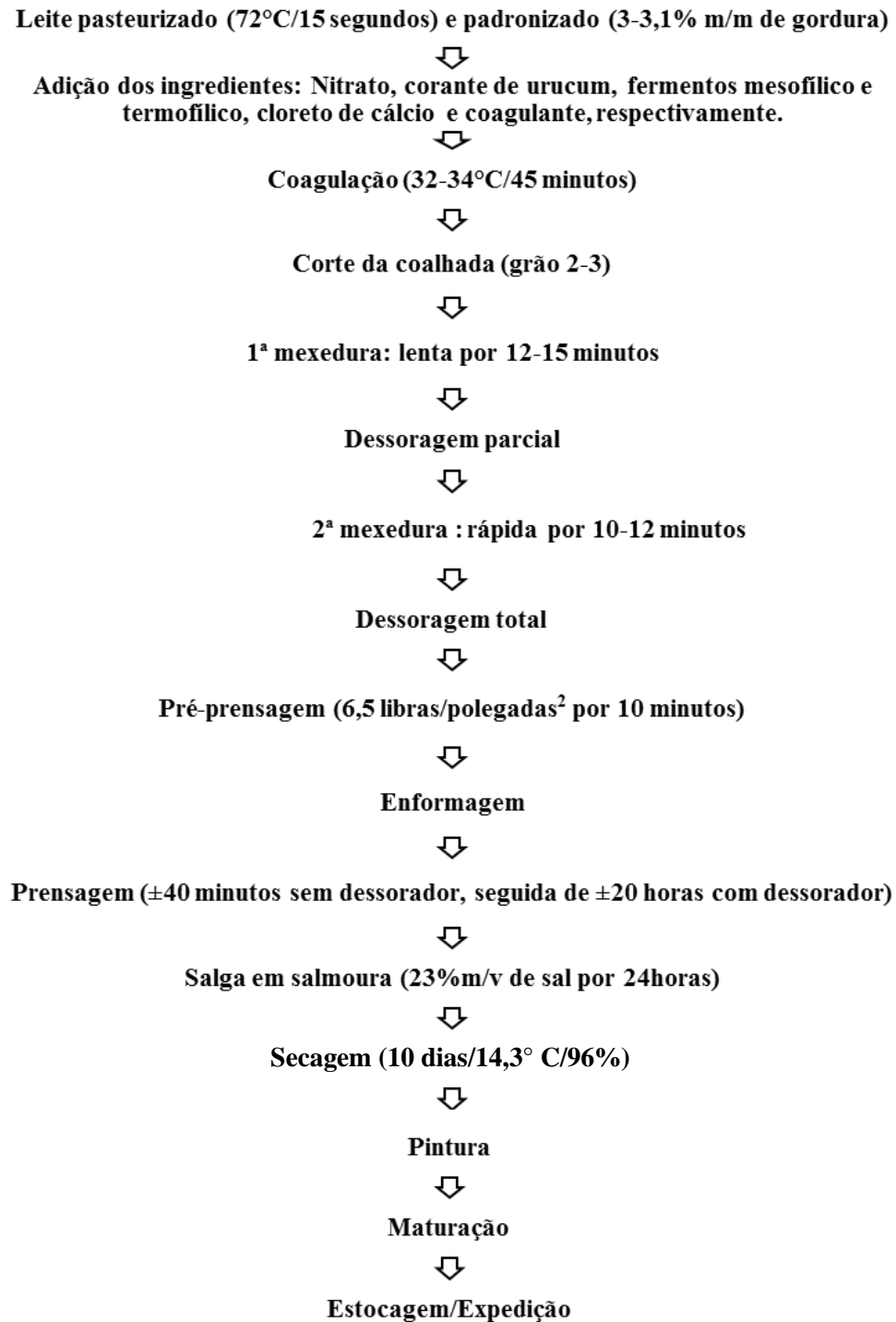
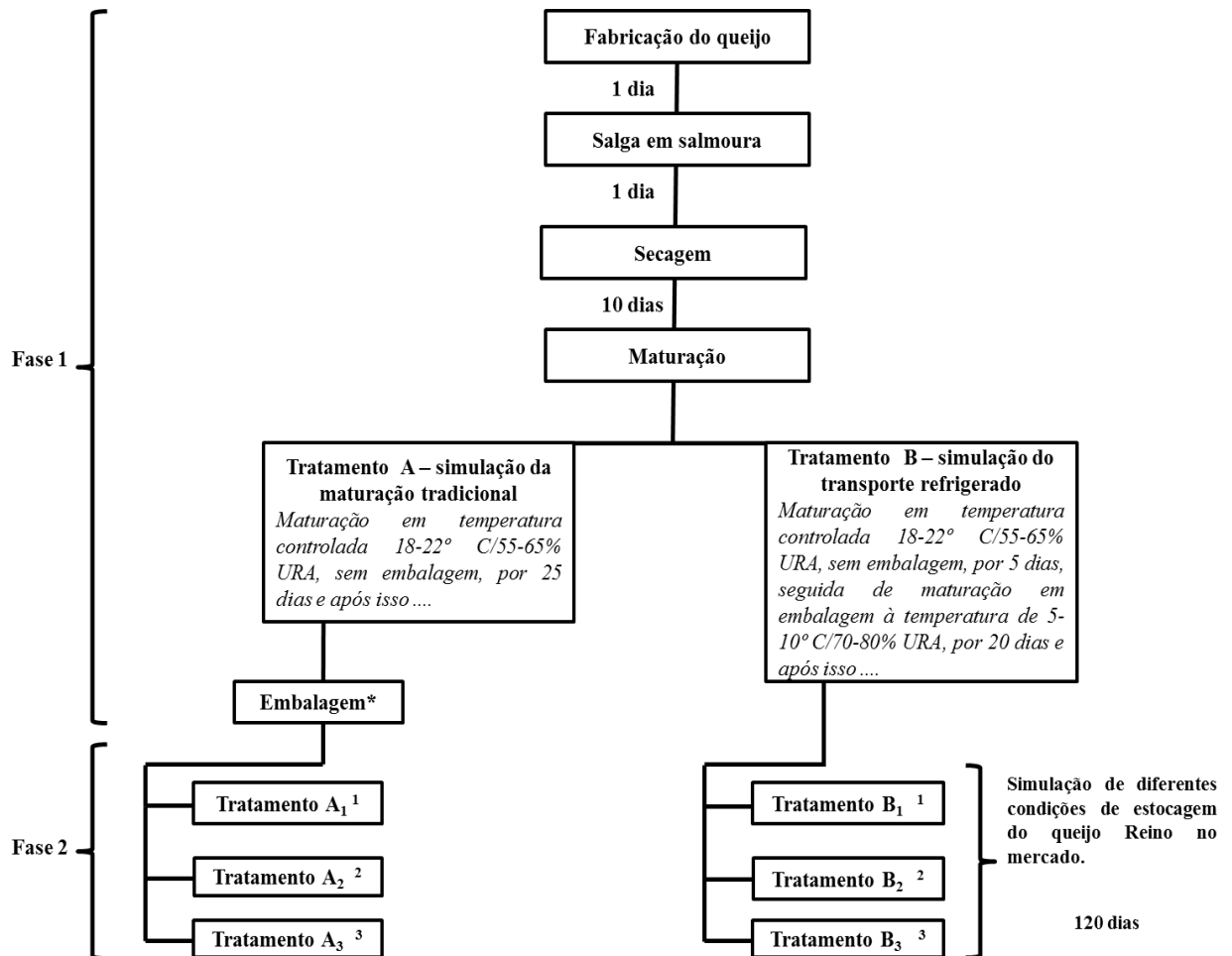


FIGURA 09. Fluxograma de fabricação do queijo Reino.

Foram produzidos três lotes de queijo Reino em escala industrial. Cada lote de queijo foi fabricado a partir de 10.000 litros (L) de leite pasteurizado e padronizado oriundos de um mesmo tanque de refrigeração.

Retirou-se aleatoriamente 60 queijos de cada lote, perfazendo um total de 180 unidades amostrais, sendo 108 destinadas às análises físicas, químicas e físico-químicas, e, 72 às análises sensoriais. O experimento foi dividido em duas fases que estão esquematizadas na Figura 10.

Os queijos Reino analisados nesse experimento apresentaram, em média, massa de 1 kg e 13,0 cm de diâmetro.



* Embalagem em película de plástico termo-encolhível, seguida de embalagem em lata metálica hermeticamente fechada.

¹ ... estocado à temperatura de 5-10° C/70-80% URA, por 120 dias.

² ... estocado à temperatura de 18-22° C/55-65% URA, por 120 dias.

³ ... estocado à temperatura de 28-33° C/80-90% URA, por 120 dias.

FIGURA 10. Detalhamento das etapas do projeto.

Fase 1: Análises físicas, químicas e físico-químicas das três repetições dos queijos Reino.

Os queijos Reino foram divididos em dois tratamentos (A e B) e analisados nos tempos dois, onze (dez dias de secagem a 14,3°C com URA de 95 %), dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação para verificar possíveis alterações físico-químicas que poderiam ocorrer durante o transporte refrigerado ao qual são submetidos até chegarem ao mercado e que neste trabalho foi simulado. No tratamento A, a maturação se deu à temperatura de 18 a 22° C, com 55- 65% de URA durante 25 dias. Já no tratamento B, após 5 dias nas condições do tratamento A, os queijos foram embalados em película termo-encolhível e se mantiveram por mais 20 dias em câmara a 5-10° C, com 70-80% de URA, perfazendo ao final, os mesmos 25 dias. O tratamento B simulou o transporte refrigerado, que, no Brasil, normalmente é realizado por caminhões com sistema de refrigeração controlado, mantido à temperatura entre 5 e 10°C.No caso de exportação, os queijos seriam transportados desde o laticínio até o porto também em caminhões, passados para containers e acondicionados nos navios cargueiros até o destino, onde podem ser novamente alocados em caminhões até o mercado ou nos próprios containers sobre caminhões ou trens, tudo sob refrigeração e controle de temperatura.

Fase 2: Análises físicas, químicas, físico-químicas e sensorial das três repetições dos queijos Reino.

Ao final dos 25 dias de maturação dos tratamentos A e B, os queijos foram subdivididos em seis tratamentos (A₁, A₂, A₃, B₁, B₂ e B₃), os quais permitiram variar temperaturas e umidade relativa do ar (URA) em 3 níveis distintos: 5-10° C com 60-70% de URA; 18-22° C com 55-65% de URA; e 28-33° C com 80-90% de URA. Nessa fase os produtos foram analisados em quatro tempos (66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação) para simular diferentes condições de estocagem do mesmo no mercado e avaliar as possíveis alterações físicas, químicas, físico-químicas e sensoriais ocorridas.

4.3.1 Determinações analíticas

A Tabela 03 sintetiza as análises físicas, químicas e físico-químicas realizadas com o leite cru, com o leite pasteurizado e padronizado, com o soro do queijo e com o queijo Reino e, a análise sensorial realizada com este. As análises foram realizadas em três repetições.

TABELA 03. Análises físicas, químicas e físico-químicas realizadas com o leite cru, com o leite pasteurizado e padronizado, com o soro do queijo e com o queijo Reino.

Análises	Número de repetições (3)													
	Leite cru	Leite pasteurizado	Soro	Queijos Reino										
				Tempo após a fabricação (D) (em dias)										
				2	6	11	16	26	36	66	96	126	156	
Temperatura (° C)	X													
Teste do Alizarol	X													
Triagem da CCS	X													
Pesquisa de RA	X													
ESD	X													
Redutase (TRAM)	X	X												
Lactose	X													
Acidez titulável	X	X	X											
Densidade a 15 °C	X													
Índice crioscópico	X													
Gordura	X	X	X	X	X	X		X						X
pH		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Aw				X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
EST/Umidade				X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
NaCl (sal)				X	X	X	X	X						X
NaCl/U				X		X		X						X
RMF (cinzas)				X		X		X						X
Proteína total	X			X	X	X		X	X	X	X	X	X	X
Nitrogênio total				X	X	X		X	X	X	X	X	X	X
NS pH 4,6				X	X	X		X	X	X	X	X	X	X
NS TCA 12%				X	X	X		X	X	X	X	X	X	X

CCS=contagem de células somáticas, RA=resíduo de antibiótico, ESD=extrato seco desengordurado, TRAM=redução do azul de metileno, EST=extrato seco total, Aw=atividade de água, NaCl/U=sal na umidade do queijo, RMF=resíduo mineral fixo, NS pH 4,6=nitrogênio solúvel em pH 4,6, NS_{TCA 12%}=nitrogênio solúvel em ácido tricloroacético 12%(m/v).

4.3.1.1 Análises físicas, químicas e físico-químicas do leite cru refrigerado

O leite cru refrigerado destinado à obtenção de leite pasteurizado para transformação em derivados lácteos em todos os estabelecimentos de laticínios submetidos à inspeção sanitária oficial é regulamentado pela Instrução Normativa (IN) nº 62, de 29 de dezembro de

2011, do MAPA (BRASIL, 2011). Esta define o controle diário de qualidade que deverá ser realizado com o mesmo para fins de cumprimento aos os requisitos físicos e químicos estabelecidos, dentre outros. Assim, as análises realizadas com o leite cru se trataram de análises de rotina, baseadas nas exigências desta IN, para fins de verificação da qualidade da matéria-prima empregada na fabricação dos queijos.

O leite cru armazenado no tanque de expansão do núcleo industrial do Laticínios MB foi coletado (volume de 250 mL) e analisado previamente à pasteurização para fins de avaliação e validação da qualidade e padronização do mesmo. Foram realizadas as análises físicas, químicas e físico-químicas rotineiras seguindo as seguintes metodologias:

- Teores em porcentagem massa/volume (m/v) de proteína, lactose e extrato seco desengordurado (ESD): por meio da análise eletrônica no equipamento Ultrasonic Milk Analyzer, modelo Master Classic –LM2. Os teores % (m/v) de ESD e proteína bruta foram convertidos em % (m/m), dividindo-o pela densidade do leite a 15° C;
- Temperatura em graus Celsius (° C): por meio do termômetro digital do tanque de armazenamento do leite;
- Teste do Alizarol à 78 % (v/v): BRASIL,2006;
- Triagem da Contagem de Células Somáticas (CCS): por meio do reagente para *Somatic Test*[®] – *Cap Lab*;
- Pesquisa de resíduo de antibiótico: por meio do *kit Assayofbeta-lactam antibiotics in milk* – *Beta Star*[®] – *Neogen Corporation*;
- Redutase: de acordo com metodologia descrita por Behmer, citado por Pereira et al (2012);
- Acidez titulável: BRASIL, 2006;
- Densidade à 15°C (g/cm³): BRASIL, 2006;
- Índice crioscópico em °Hortvet (°H): por meio do crioscópio eletrônico Tex Tech, modelo LK-7000 (BRASIL, 2006);
- Teor percentual de gordura em % (m/v): método butirométrico (BRASIL, 2006). O teor % (m/v) de gordura foi convertido em % (m/m), dividindo-o pela densidade a 15 °C.

4.3.1.2 Análises físicas, químicas e físico-químicas do leite pasteurizado e padronizado

O leite cru apto à fabricação foi padrozinado [3,0-3,1% (m/v) de gordura] e pasteurizado pelo sistema HTST (pasteurização rápida), a 72° C, por 15 segundos e analisado

imediatamente quanto à(ao):

- Teor percentual de gordura em% (m/v): método butirométrico (BRASIL, 2006);
- Acidez titulável: BRASIL, 2006;
- pH: por meio de leitura em medidor de pH calibrado, marca Digimed, modelo DM-20 (BRASIL, 2006);
- Redutase: de acordo com metodologia descrita por Behmer, citado por Pereira et al (2012).

O leite padronizado e pasteurizado foi então descarregado no tanque de fabricação de 10.000 Litros (L) para fabricação dos queijos Reino.

4.3.1.3 Análises físicas, químicas e físico-químicas do soro

Foram coletadas duas amostras de soro, sendo a primeira coleta ao término da primeira mexedura da coalhada, que durou cerca de quatorze minutos (± 2 min) e foi realizada sob agitação lenta, após o corte da coalhada. A segunda coleta se deu ao término da segunda mexedura. Esta durou cerca de doze minutos (± 2 min) e foi realizada após a dessoragem parcial da massa (com retirada de 35% do volume do soro), seguida da adição de água quente (reposição de $\pm 18\%$, a 80-90 ° C) à mesma.

Os soros do queijo Reino foram analisados imediatamente quanto à (ao):

- Teor percentual de gordura em % (m/v): método butirométrico (BRASIL, 2006);
- Acidez titulável: BRASIL, 2006;
- pH: por meio de leitura em medidor de pH calibrado, marca Digimed, modelo DM-20 (BRASIL, 2006).

4.3.1.4 Análises físicas, químicas e físico-químicas do queijo Reino

Em cada tempo experimental, retirou-se de forma aleatória uma unidade de cada lote de queijo Reino. As amostras foram transportadas até o Laboratório de Pesquisa do ILCT-EPAMIG, Juiz de Fora, MG, para procedimento das análises físicas, químicas e físico-químicas.

As amostras de queijo Reino foram preparadas segundo Brasil (2006) e foram conduzidas de acordo com as seguintes metodologias:

- Teores percentuais de umidade e extrato seco total em % (m/m): método gravimétrico em estufa a $102^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ (BRASIL, 2006); e
- Teor percentual de gordura em % (m/m): método butirométrico (BRASIL, 2006) para se calcular o teor percentual de gordura no extrato seco (GES) em % (m/m): pela razão entre os teores percentuais de gordura (% Gd) e de extrato seco total dos queijos (% EST), e o resultado multiplicado por 100 (PEREIRA et al., 2001).
- Teor percentual de resíduo mineral fixo (cinzas) em % (m/m): método gravimétrico (BRASIL, 2006);
- Teor percentual de NaCl em % (m/m): PEREIRA et al, 2001; e
- Teor percentual de NaCl/U em % (m/m) por meio da fórmula:

$$\% \text{ de sal na umidade} = \frac{\% \text{ Cloretos} \times 100}{(\% \text{ Cloretos} + \% \text{ U})} \quad (1)$$

Sendo:

- % de sal na umidade dos queijos em % (m/m);**
- % NaCl: teor de cloretos em % (m/m);**
- %U= teor de umidade em % (m/m).**

- pH: por meio de leitura em medidor de pH calibrado, marca Qualxtron, modelo 8010 (BRASIL, 2006).
- Atividade de água (A_w): por meio de leitura no medidor digital Aqualab[®] modelo CX2T – Decagon Devices, Inc., Washington, USA.
- Teores percentuais de nitrogênio total, nitrogênio solúvel em pH 4,6 e nitrogênio solúvel em TCA a 12% (m/v), todos em % (m/m): obtidos pelo método modificado de *Kjeldahl*, para se calcular (PEREIRA et al., 2001):
 - I. Relação % de $\text{NS}_{\text{pH}4,6}/\text{NT}$: quantificada pela razão entre $\% \text{NS}_{\text{pH}4,6}$ e $\% \text{NT}$, e o resultado obtido multiplicado por 100 (WOLFSCHOON-POMBO & LIMA, 1989).
 - II. Relação % de $\text{NS}_{\text{TCA } 12\%}/\text{NT}$: quantificada pela razão entre $\% \text{NS}_{\text{TCA}12\%}$ e $\% \text{NT}$, e o resultado obtido multiplicado por 100 (WOLFSCHOON-POMBO & LIMA, 1989).
 - III. Teor percentual (m/m) de proteína total: com base no teor de nitrogênio total. O fator utilizado de conversão de nitrogênio em proteína foi 6,38 (PEREIRA et al, 2001).

4.3.1.4.1 Distribuição de sal no queijo

A caracterização do perfil de distribuição de sal nos queijos Reino amostrados foi conduzida por meio da determinação do teor percentual de cloretos (% m/m) das porções centrais, intermediárias e superficiais deles, conforme ilustra a Figura 11. Utilizou-se uma sonda de 30 centímetros (cm) de comprimento e 1,5 cm de diâmetro para retirar a alíquota das amostras, que foram posteriormente divididas em seis porções de mesmo tamanho. Dessa forma, obtiveram-se duas porções centrais, duas intermediárias e duas superficiais, que foram colocadas em diferentes recipientes e analisadas separadamente para verificação da concentração de cloretos (sal) em cada porção individual.

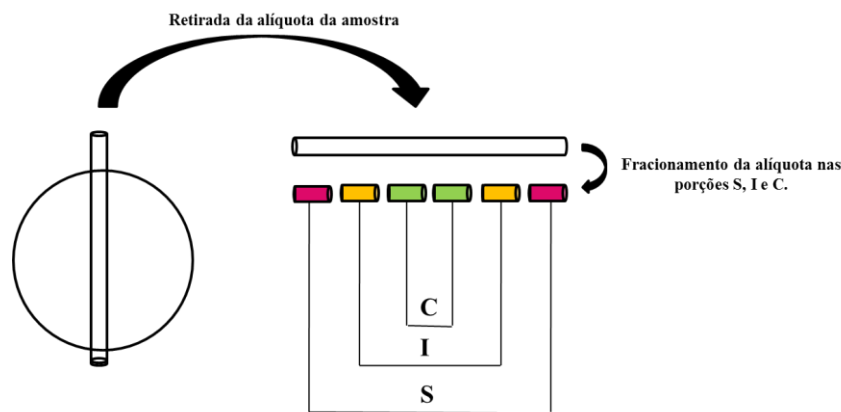


FIGURA 11. Representação da metodologia utilizada para retirar a alíquota da amostra, na qual “C” representam as 2 porções centrais, “I” as 2 intermediárias e “S” as 2 superficiais do queijo Reino.

O teor percentual de cloretos da porção total extraída pela sonda (% m/m) no queijo Reino foi representado pela média dos resultados obtidos a partir das análises das três porções alíquotas (C, I e S), até que os resultados analíticos das mesmas se equiparassem (de forma a comprovar que o sal já estava distribuído homogeneamente no queijo Reino). A partir daí, as análises de determinação do teor percentual de cloretos foram conduzidas sem fracionar a alíquota.

4.3.2 **Análise sensorial**

Retirou-se de forma aleatória uma unidade de cada tratamento (A₁, A₂, A₃, B₁, B₂ e B₃) do queijo Reino, nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação para realizar a análise sensorial. Esta foi realizada em três repetições.

A análise sensorial empregada no experimento foi a Análise Descritiva Quantitativa Modificada - ADQM (STONE; SIDEL, 1998), a fim de definir o perfil sensorial de cada tratamento empregado no projeto. Foi elaborada uma ficha de avaliação sensorial específica para o queijo Reino. As etapas que antecederam a ADQM estão descritas a seguir, nos itens 4.3.2.1, 4.3.2.2 e 4.3.2.3.

4.3.2.1 Pré-seleção dos provadores

Nove pesquisadores do ILCT-EPAMIG treinados em análise sensorial foram selecionados para participar da análise sensorial do queijo Reino. Os critérios de seleção se basearam no hábito de consumo de queijo Reino, na frequência de participação neste tipo de análise sensorial e na disponibilidade de participação de cada um.

4.3.2.2 Desenvolvimento da terminologia descritiva

Para a determinação dos atributos foram realizadas três reuniões nas quais foram apresentadas aos provadores duas amostras de queijo Reino em diferentes etapas de maturação, ambos produzidos pela indústria selecionada para a execução experimental, o Laticínios MB. Empregou-se o método de Rede (Moskowitz, 1983), no qual as duas amostras foram apresentadas simultaneamente. Aos provadores foi solicitado que descrevessem as similaridades e as diferenças entre elas. Para auxiliar na descrição dos atributos, foram lembradas aos mesmos as características do queijo Reino tradicional fabricado segundo as tecnologias de Furtado (2007) e Furtado (2008).

Após avaliação individual, realizou-se uma ampla discussão em grupo, sob a supervisão de um líder, com comprovada experiência em análise sensorial e com o objetivo de agrupar termos semelhantes e eliminar os termos sinônimos e ou pouco citados, de forma consensual. Em seguida foram conduzidas três sessões de discussões em grupo com o objetivo de ajudá-los na percepção de todas as características sensoriais do produto e para ancorar os extremos da escala de intensidade. Outras sessões de avaliação das amostras foram realizadas para discussão em grupo, com um líder, para resultar na ficha final de avaliação do perfil sensorial das amostras.

4.3.2.3 Seleção final da equipe de ADQM

Foram realizados três treinamentos nos quais foram apresentadas aos provadores duas amostras de queijo Reino em diferentes etapas de maturação, ambos produzidos pela indústria parceira do projeto. Os provadores utilizaram a própria Ficha de Avaliação desenvolvida na etapa anterior para analisar as amostras apresentadas. Nesta etapa os provadores puderam consultar as referências existentes para o queijo Reino, durante sua análise.

A equipe de provadores foi selecionada segundo metodologia proposta por Damasio e Costell (1991), de acordo com a concordância entre os provadores e repetibilidade de resultados. Para tanto, foi realizada análise de variância (ANAVA) com duas fontes de variação (amostra e repetição) para cada atributo, para cada provador.

4.3.2.4 Análise sensorial das amostras de queijo Reino

As análises sensoriais foram realizadas com as amostras de queijos Reino subdivididas nos tratamentos A₁, A₂, A₃, B₁, B₂ e B₃, nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação, em três repetições. Cada uma das seis amostras de queijo Reino foi identificada por um número de três dígitos aleatórios e apresentadas de forma monádica aos provadores.

As análises sensoriais foram conduzidas individualmente, sob luz branca e em duas etapas. Na primeira etapa os provadores avaliaram as amostras íntegras quanto aos atributos sensoriais: aspecto global (apresentação do queijo Reino por meio da percepção da casca), cor interna, consistência e textura. Na segunda etapa, as amostras foram fatiadas por cada provador para a avaliação de outros atributos sensoriais como: massa, odor típico, gosto salgado, sabor típico e sabor residual. A espessura da fatia da amostra foi definida em $0,4 \pm 0,1$ cm, nos treinamentos realizados anteriormente com os provadores.

Foi solicitado aos provadores que enxaguassem o palato com água (temperatura ambiente) ao término da análise sensorial de cada amostra, para retirar as interferências possíveis dos atributos das amostras anteriores.

O traço vertical na ficha de resposta, referente à nota de cada julgador, foi transformado em escore, medida em centímetro (cm), correspondente ao comprimento da linha assinalada na ficha de resposta (escala de 15 cm ou 15 pontos).

4.3.3 Análise estatística dos dados

Empregou-se o delineamento em parcelas subdivididas no experimento. As definições de parcelas e subparcelas em cada etapa experimental estão descritas na Tabela 04.

TABELA 04. Definições de parcelas e subparcelas em cada etapa experimental.

		Parcelas (Fator A)	Subparcelas 1 (Fator B)	Subparcelas 2 (Fator C)
FASE 01	Análises físicas, químicas e físico-químicas do queijo Reino nos tempos 2, 11, 16 e 36 dias após a fabricação	Tratamento A	Tempo 2	
		Tratamento B	Tempo 11 Tempo 16 Tempo 36	
FASE 02	Análises físicas, químicas e físico-químicas do queijo Reino nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação	Tratamento A	Tratamento A ₁	Tempo 66
		Tratamento B	Tratamento A ₂ Tratamento A ₃ Tratamento B ₁ Tratamento B ₂ Tratamento B ₃	Tempo 96 Tempo 126 Tempo 156
FASE 02	Análise sensorial, do queijo Reino nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação	Tratamento A	Tratamento A ₁	Tempo 66
		Tratamento B	Tratamento A ₂ Tratamento A ₃ Tratamento B ₁ Tratamento B ₂ Tratamento B ₃	Tempo 96 Tempo 126 Tempo 156
DISTRIBUIÇÃO DE SAL NO QUEIJO REINO		Tratamento A	Superficial A	Tempo 2
		Tratamento B	Intermediária A Central A Superficial B Intermediária B Central B	Tempo 11 Tempo 16 Tempo 26 Tempo 36

De acordo com a Tabela 05, o fator A foi representado pelos tratamentos A e B, o fator B pelas suas subdivisões nas condições 1, 2 e 3, e, o fator C pelos tempos em que os queijos Reino foram analisados durante a estocagem.

Os dados referentes aos resultados das análises físicas, químicas, físico-químicas e sensoriais dos queijos Reino foram tabulados em planilha eletrônica e posteriormente analisados estatisticamente por meio do programa SISVAR (FERREIRA, 2011). Os resultados do experimento foram submetidos ao Teste de Shapiro-Wilk, para verificar a normalidade dos resíduos, como pressuposto à análise de variância paramétrica.

Fez-se a análise de variância (ANAVA) e, empregou-se o teste de Student Newman-Keuls (SNK) para comparar as médias entre os tratamentos A e B, em cada tempo, e, para comparar as médias entre os tempos de cada tratamento; e, para comparar as médias entre as

subdivisões do tratamento A e do B, em cada tempo, e, para comparar as médias entre os tempos de cada tratamento.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 FASE 1

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

Os requisitos físicos e químicos da IN nº 62 e a composição centesimal média do leite cru refrigerado empregado na fabricação dos três lotes de queijo Reino estão listados na Tabela 05.

TABELA 05. Resultado médio das análises físicas, químicas e físico-químicas encontrados para o leite cru empregado na fabricação do queijo Reino. Média das três repetições.

Análises	Resultados	Valores mínimo e máximo	Especificações IN nº 62 (BRASIL, 2011)
Densidade a 15° C (g/cm ³)	1,0289	1,0287 e 1,0298	1,0280 a 1,0340
Temperatura (°C)	4	3,9 e 4,1	máximo 4 °C
Teste do Alizarol (78% m/m)	estável	-	estável à [] mínima de 72% v/v
Triagem da CCS	5,1x10 ⁵ CS/mL	3,8 e 7,3x10 ⁵ CS/mL	máximo 6,0x10 ⁵ CS/mL
Pesquisa de RA	ausente	-	ausência
Redutase (TRAM)	93 minutos	90 e 100 minutos	-
ESD % (m/m)	8,27	8,07 e 8,42	mínimo 8,4
Lactose % (m/v)	4,54	4,43 e 4,63	-
Acidez titulável (*)	0,16	0,16 e 0,17	0,14 a 0,18
Índice crioscópico (°H)	-0,540	-0,534 e -0,547	- 0,550 a -0,530°H
Gordura % (m/m)	3,4	3,1 e 3,9	mínimo de 3,0
Proteína bruta % (m/m)	3,03	2,96 e 3,09	mínimo 2,9

[]=concentração, CCS=contagem de células somáticas, RA=resíduo de antibiótico, TRAM=redução do azul de metileno, ESD=extrato seco desengordurado, (*)=% (m/v) de compostos de caráter ácido expressos como ácido láctico.

A composição centesimal média do leite cru atendeu às especificações exigidas pela IN nº 62 no que concerne aos parâmetros de densidade a 15 °C, temperatura, acidez titulável, índice crioscópico, gordura e proteína bruta. Apenas o extrato seco desengordurado apresentou-se abaixo do índice exigido. Esta alteração pode ser explicada por meio de alterações naturais decorrentes do tipo de alimentação, das doenças, do estágio de lactação e da fisiologia da glândula mamária do animal, e, da estação do ano (FOX e Mc SWEENEY, 1998).

Considerando que o queijo é constituído principalmente por proteínas e gordura (PERRY, 2004), cabe salientar que, a determinação da composição centesimal do leite cru empregado em sua fabricação, por meio das análises físico-químicas, visa, sobretudo, avaliar o rendimento industrial e detectar possíveis alterações de composição, e, desta maneira, assegurar a qualidade do produto final.

O teste do alizarol é realizado rotineiramente na unidade produtora antes do descarregamento do leite cru no tanque de expansão, como um dos critérios de aceitação ou não do mesmo. Este teste é usualmente empregado para estimar a estabilidade do leite quando submetido ao tratamento térmico (p.ex. pasteurização rápida), por meio da avaliação da estabilidade das proteínas lácteas frente à desidratação provocada pelo alizarol (MARQUES et al, 2007). O resultado do teste deve apresentar “coloração vermelho tijolo, aspecto das paredes do tubo de ensaio sem grumos ou com uma ligeira precipitação, com poucos grumos muito finos” (BRASIL, 2006), o que foi verificado no leite empregado na fabricação das três repetições de queijo Reino do experimento.

Segundo a Instrução Normativa nº 62, não há limite para a concentração máxima de álcool que pode ser utilizada no Teste do Alizarol (BRASIL, 2011), devendo essa ser proporcional à intensidade do tratamento térmico ao qual o leite será submetido. Assim, a concentração de 78%(v/v) utilizada na indústria é adequada, especialmente, para avaliar a aptidão do leite em suportar o processo de pasteurização rápida.

A triagem de CCS é realizada rotineiramente na indústria para estimar a quantidade de células somáticas presente no leite cru refrigerado. A contagem de células somáticas (CCS) configura-se um parâmetro de qualidade recentemente oficializado como requisito para aceitação do leite pela indústria, uma vez que as alterações das composições químicas e microbiológicas resultantes de altas contagens de células somáticas promovem a diminuição do rendimento industrial e a queda da qualidade final dos produtos (SILVA et al, 2011). De acordo com Brito et al (2010) existe uma correlação negativa significativa entre a CCS e o conteúdo de extrato seco do leite, pois quando aquela está presente em altos níveis no leite, há uma redução de 5 a 10% neste. E, apesar da concentração de proteínas permanecer relativamente estável, há também a redução no teor percentual de caseínas.

Apesar do resultado da triagem da CCS médio ($5,1 \times 10^5$ CCS/mL) encontrado para o leite cru refrigerado encontrar-se dentro da especificação da IN nº 62, há uma estimativa média de perda de rendimento industrial de 8,5% (Cap-Lab, 2012), o que reforça a importância de se buscar a redução deste parâmetro.

O teste de redutase se trata de uma prova química que estima indiretamente a contaminação microbiana do leite. Este se baseia na redução do corante azul de metileno (que funciona como receptor de íons de hidrogênio) por ação da desidrogenase (redutase) do metabolismo microbiano. O tempo de redução do azul de metileno é inversamente proporcional ao número de bactérias redutoras presente na amostra, ou seja, quanto maior a contaminação do leite mais rapidamente a solução irá descolorir (PEREIRA et al, 2012). Dessa forma, o teste se apresenta como uma alternativa rápida para a indústria estimar o perfil microbiológico do leite, uma vez que este é um importante indicador da qualidade do mesmo (NERO et al, 2009).

A IN n° 62 não contempla o teste de redutase, por isso, pode-se utilizar as especificações contidas na IN n° 51, de 2002, como referência para a análise do resultado do mesmo. Nesta, tem-se que o tempo mínimo de redução do azul de metileno deve ser 90 minutos (BRASIL, 2002). O teste de redutase realizado apresentou resultado em conformidade com a referência citada.

A pesquisa de resíduo de antibióticos no leite cru refrigerado está contemplada na IN n° 62, uma vez que, se o mesmo estiver contaminado por resíduos de antibióticos, será considerado adulterado e impróprio para o consumo. No caso dos testes realizados com o leite cru refrigerado, 100% foram negativos, indicando ausência de resíduos de antibióticos.

Sendo assim, o leite cru refrigerado de cada repetição estava apto a ser empregado na fabricação dos queijos Reino, já que estava de acordo com as exigências da IN n° 62 e também, da indústria.

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

O Laticínios MB padroniza o teor percentual de gordura (% m/m) do leite em função do teor percentual de proteína (% m/m) com o objetivo de evitar variações drásticas no conteúdo de % (m/m) de gordura no extrato seco (GES) do queijo, o que é importante para manter as características típicas do produto. Tal relação é convertida na relação % caseínas/gordura, multiplicando o % (m/m) de proteína bruta por 0,80. As caseínas representam cerca de 80% da proteína bruta presente no leite (FURTADO, 1991).

Considerando que as caseínas são os componentes do leite que mais afetam a retenção dos outros constituintes, a relação caseínas/gordura oferece resultados exatos e é muito utilizada em vários países na padronização do % (m/m) de GES (FOX et al, 2000;

FURTADO, 1991). A relação caseínas/gordura do queijo Reino fabricado nesse laticínio é padronizada em 0,88.

A média dos resultados das análises físicas, químicas e físico-químicas realizadas com o leite pasteurizado e padronizado empregado na fabricação dos três lotes de queijo Reino está listada na Tabela 06.

TABELA 06. Resultado médio das análises físicas, químicas e físico-químicas encontrados para o leite pasteurizado e padronizado empregado na fabricação do queijo Reino. Média das três repetições.

Análises	Resultados	Valores mínimo e máximo
Acidez titulável (*)	0,16	0,16 e 0,17
Gordura % (m/v)	3,1	3,0 e 3,1%
pH	6,65	6,63 e 6,68

*(m/v) de compostos de caráter ácido expressos como ácido láctico.

Segundo Furtado (2007) e Furtado (2008), o teor de gordura no leite empregado na fabricação do queijo Reino pode variar de 3,0 a 3,4% (m/v), podendo também ser utilizado para tal finalidade o leite integral. O leite empregado na fabricação dos queijos Reino do experimento foi padronizado em 3,1% (m/v) de teor de gordura.

Furtado (2008) verificou que, atualmente, as indústrias que fabricam queijo Reino têm optado pela redução do teor de gordura do leite. Isso pode ser decorrente da tentativa de minimizar a separação da mesma durante o processo de maturação e *shelf life* do queijo, causada pelo alto teor desse componente no extrato seco do queijo (FURTADO, 1998).

5.1.3 Análises físicas, químicas e físico-químicas do soro

O resultado das análises física, química e físico-química do primeiro soro do queijo Reino, encontra-se na Tabela 07.

TABELA 07. Resultado médio das análises físicas, químicas e físico-químicas encontrados para o soro do queijo Reino. Média das três repetições.

Análises	Resultados	Valores mínimo e máximo
Acidez titulável (*)	0,11	0,11 – 0,12
Gordura % (m/v)	0,4	0,4 – 0,5
pH	6,4	6,23 – 6,6

*(m/v) de compostos de caráter ácido expressos como ácido láctico.

A análise do soro de queijo é utilizada para estimar a perda de gordura e a atividade do fermento láctico. Segundo Munck (2006) o soro de queijo deve apresentar valores médios entre 0,3 e 0,5 % (m/v) de gordura. A perda em excesso desse componente para o soro é um indicativo de que a relação caseína/gordura não está padronizada adequadamente.

A acidez deve ser em média 2/3 da encontrada no leite que deu origem ao queijo (MUNK, 2006). Dessa maneira, tem-se que os valores médios encontrados estão de acordo com o valor sugerido pelo autor.

5.1.4 Análises físicas, químicas e físico-químicas dos queijos Reino nos tempos 2, 11, 16 e 36 dias após a fabricação

Nesta fase, objetivou-se verificar o comportamento dos queijos Reino submetidos à duas condições de maturação: tratamentos A e B.

A normalidade dos dados referentes aos resultados das análises físicas, químicas e físico-químicas realizadas com os queijos Reino divididos nos tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação, não foi rejeitada pelo Teste de Shapiro Wilk ($p > 0,01$).

A comparação das médias dos resultados das análises físicas, químicas e físico-químicas realizadas com as três repetições do queijo Reino nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação foi discutida de forma individualizada, a seguir.

5.1.4.1 pH

O pH do queijo é de grande importância para sua qualidade final, uma vez que influencia a textura, a aparência e o sabor do mesmo (UPRETI; METZGER, 2007).

O coeficiente de variação (CV) referente ao pH foi igual a 0,80%, o que indicou que este se comportou como uma variável estável ao longo do tempo, por ter variado muito pouco no período estudado (FONSECA & MARTINS, 1996). O pH dos queijos não é estático e sofre alterações durante o período de maturação dos queijos (UPRETI; METZGER, 2007), ainda que estas não sejam drásticas (exceto as ocorridas em queijos de alta umidade e proteólise mais intensa, como nos queijos maturados por mofos) (FOX et al, 2000).

A análise de variância (ANAVA) demonstrou que não houve diferença estatisticamente significativa quanto ao pH entre os tratamentos A e B, em cada tempo ($p=0,050$). Houve diferença estatisticamente significativa quanto ao pH entre os tempos do mesmo tratamento ($p=0,000$). A comparação de médias referente ao pH dos queijos submetidos aos tratamentos A e B está apresentada na Tabela 08.

TABELA 08. Resultado médio dos valores de pH encontrados para os queijos Reino submetidos aos tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação. Média das três repetições.

Tratamentos	Tempos (em dias após a fabricação)			
	2	11	16	36
A	5,30 ^{bA}	5,33 ^{bA}	5,42 ^{aA}	5,49 ^{aA}
B	5,30 ^{bA}	5,33 ^{bA}	5,42 ^{aA}	5,44 ^{aA}

Letras iguais indicam valores semelhantes pelo Teste de *Student Newman-Keuls (SNK)* em nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas devem ser consideradas entre os Tratamentos A e B, em cada tempo e, minúsculas entre os tempos de cada tratamento.

A partir da análise da Tabela 08, verificou-se que os queijos submetidos aos tratamentos A e B não diferenciaram estatisticamente entre si, o que pôde ser justificado pelo fato de que a variação do pH também é dependente da capacidade tamponante do queijo, devido à quantidade de proteínas e sais minerais presentes (NARIMATSU et al, 2003).

Houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos do tratamento A e do B. A elevação do pH dos queijos submetidos a ambos os tratamentos ocorreu no tempo 16 dias após a fabricação devido à temperatura de maturação (18-22° C) e, não sofreu mais variação estatisticamente significativa com o decorrer do tempo, no período analisado. O ligeiro aumento do pH é decorrente do processo de proteólise, no qual as caseínas (frações β e α) são sucessivamente degradadas à polipeptídeos e depois à peptídeos de menor massa molar, o que leva à formação de aminoácidos. Estes passam então por um intenso processo metabólico, como descarboxilação e transaminação, que resulta na formação de compostos neutros e básicos que colaboram para a elevação gradual do pH à medida que a maturação avança (FURTADO, 2011; FOX et al, 2000).

Independentemente dos dias de fabricação, o comportamento da variação do pH dos queijos foi o mesmo. Logo, não houve interação entre tempo e tratamento, uma vez que apenas o fator tempo teve influência sobre o comportamento do pH do queijo, modificando-o.

A partir da análise de regressão do pH *versus* tempo dos valores de pH observados ao longo do tempo (dois a trinta e seis dias após a fabricação), obteve-se a equação ajustada para os tratamentos A e B. A curva ajustada do pH *versus* tempo mostrou o comportamento linear

crecente do pH dos queijos Reino em função do período estudado, considerando valores de pH obtidos para os tratamentos A e B, conforme apresentado na Figura 12.

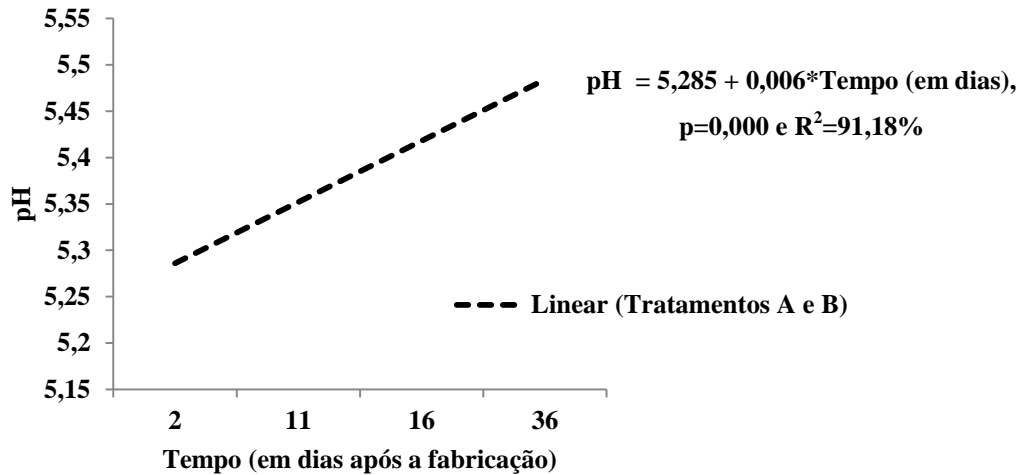


FIGURA 12. Curva ajustada do pH *versus* tempo dos queijos Reino, considerando valores de pH obtidos para os tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação.

A regressão linear também indicou que não houve diferença estatisticamente significativa entre o impacto provocado pelo tratamento A e pelo B sobre o comportamento do pH dos queijos, ao longo dos tempos analisados.

5.1.4.2 Atividade de água (A_w)

A A_w é a razão da pressão parcial do vapor de água no alimento (p) e da água pura (p_0), à mesma temperatura e pressão total (BERESFORD et al, 2001; McSWEENEY, 2007). Seu valor depende do teor de umidade e da concentração de solutos de baixa massa molecular nos alimentos (FOX et al., 2000).

A A_w do queijo é influenciada principalmente, pelas condições em que se dá o processo de maturação e pelo teor de sal na umidade do queijo. A diminuição da atividade de água durante a maturação do queijo ocorre devido a perda de água por evaporação, a concentração do sal e a hidrólise de proteínas a peptídeos e aminoácidos, e, de triacilgliceróis em glicerol e ácidos graxos; a hidrólise de cada ligação peptídica e éster requer uma molécula de água (COGAN, 2000). Assim, à medida que ocorre a hidrólise dos peptídeos e os compostos formados se ligam à “água livre”, ocorre redução na A_w do queijo. Essa redução

também é devida à capacidade do NaCl interagir com as moléculas de água presente no mesmo (McSWEENEY, 2007).

A A_w se trata de um parâmetro importante por influenciar no crescimento microbiano, nas reações bioquímicas e nas propriedades físicas do queijo (FOX et al, 2000; McSWEENEY, 2007).

O coeficiente de variação (CV) referente à A_w foi igual a 0,46%, o que indicou que esta se comportou como uma variável estável ao longo do tempo, por variar muito pouco no período estudado (FONSECA & MARTINS, 1996).

A análise de variância (ANAVA) indicou que houve diferença estatisticamente significativa quanto à A_w entre os tratamentos A e B ($p=0,000$). Houve, também, diferença estatisticamente significativa quanto à A_w entre os tempos do tratamento A ($p=0,001$).

A comparação de médias referente à A_w dos queijos submetidos aos tratamentos A e B está apresentada na Tabela 09.

TABELA 09. Resultado médio dos valores de A_w encontrados para os queijos Reino submetidos aos tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação. Média das três repetições.

Tratamentos	Tempos (em dias após a fabricação)			
	2	11	16	36
A	0,97 ^{aA}	0,97 ^{aA}	0,96 ^{aA}	0,95 ^{bB}
B	0,97 ^{aA}	0,97 ^{aA}	0,96 ^{aA}	0,96 ^{aA}

Letras iguais indicam valores semelhantes pelo Teste de *Student Newman-Keuls (SNK)* em nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas devem ser consideradas entre os Tratamentos A e B, em cada tempo e, minúsculas entre os tempos de cada tratamento.

A partir da análise da Tabela 09, verificou-se que os queijos submetidos ao tratamento B não apresentaram variação na A_w ao longo do tempo. Tal fato se explicou devido à baixa temperatura de maturação que, associada à embalagem em película de plástico termoencolhível, reduziu a velocidade das reações bioquímicas típicas e a intensidade da perda de água, e dessa maneira, não alterou estatisticamente a A_w desses queijos.

Nos queijos submetidos ao tratamento A percebeu-se que a A_w diminuiu, de maneira estatisticamente significativa, com o passar do tempo, assim como descrito por Fox et al (2000) e McSweeney (2007). Isso pôde ser justificado pelo fato de que a temperatura de maturação mais elevada acelerou as reações bioquímicas típicas (o que pôde ser evidenciado pelos valores maiores das relações % $NS_{pH\ 4,6}/NT$ e % $NS_{TCA12\%}/NT$ desses queijos) e, a URA mais baixa e o fato de não ter sido embalado intensificaram a perda % (m/m) de umidade do mesmo.

Segundo Beresford et al (2001), a A_w é diretamente proporcional ao % (m/m) de umidade do queijo e inversamente proporcional à concentração de NaCl e outros compostos de baixa massa molecular. Assim, o fato de que os queijos submetidos ao tratamento A apresentaram menor % (m/m) de umidade (Tabela 10), justificou a menor A_w desses queijos em relação àqueles submetidos ao B.

O controle da perda de umidade dos queijos pode ser efetuado pelo aumento ou diminuição da URA da câmara de maturação e/ou pela embalagem em películas plásticas.

Logo, os tratamentos A e B tiveram efeitos diferentes sobre a variação da A_w , dos queijos ao longo do tempo, o que caracterizou a interação entre tempo e tratamento, uma vez que ambos os fatores tiveram efeito sobre o comportamento da A_w dos queijos.

A partir da análise de regressão da A_w versus tempo dos valores de A_w observados ao longo do tempo (dois a trinta e seis dias após a fabricação), obtiveram-se as equações ajustadas para os tratamentos A e B.

As curvas ajustadas da A_w versus tempo mostraram o comportamento linear decrescente da A_w dos queijos Reino em função do período estudado, considerando valores de A_w obtidos para os tratamentos A e B, conforme apresentado na Figura 13.

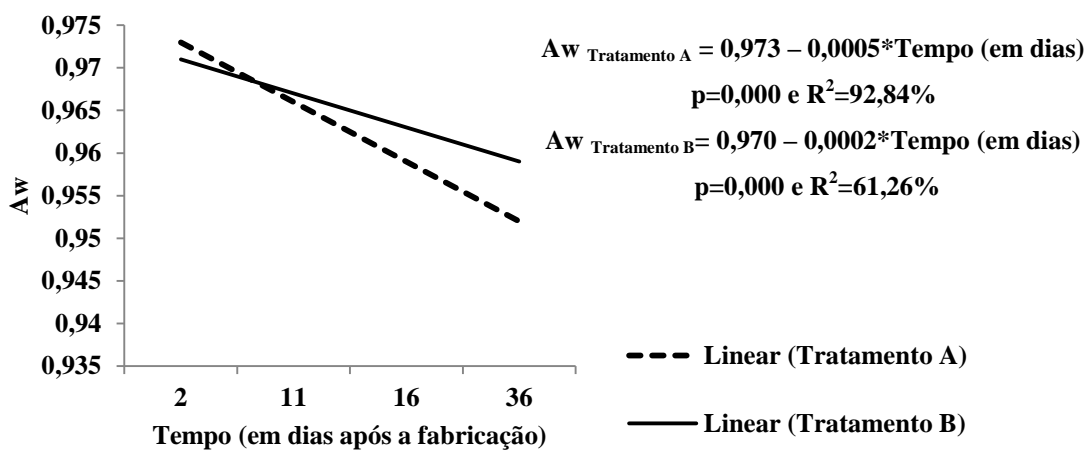


FIGURA 13. Curvas ajustadas da A_w versus tempo dos queijos Reino, considerando valores de A_w obtidos para os tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação.

As equações, bem como a Figura 13, confirmaram que a queda observada ao longo do tempo nos valores de A_w do queijo submetido ao tratamento A foi maior, em função dos fatores anteriormente mencionados. Por meio da análise de regressão, o parâmetro (**b**) da equação ajustada ao tratamento A foi maior que o do tratamento B, logo, o fator tempo teve mais impacto na redução da A_w dos queijos submetidos ao A.

5.1.4.3 Umidade

O teor de umidade do queijo influencia na qualidade, na textura e no sabor (FOX; McSWEENEY, 2004; McSWEENEY, 2007), sendo, portanto, uma variável de grande importância para o desenvolvimento das características típicas do mesmo.

O coeficiente de variação (CV) referente ao % (m/m) de umidade foi igual a 3,57%, o que indicou que esta se comportou como uma variável estável ao longo do tempo, por variar muito pouco no período estudado (FONSECA & MARTINS, 1996).

A análise de variância (ANAVA) indicou que houve diferença estatisticamente significativa quanto ao % (m/m) de umidade entre os tratamentos A e B ($p=0,004$), no tempo trinta e seis dias após a fabricação. Houve, também, diferença estatisticamente significativa entre os tempos do tratamento A e do B ($p=0,000$).

A comparação de médias referente ao % (m/m) de umidade dos queijos submetidos aos tratamentos A e B está apresentada na Tabela 10.

TABELA 10. Resultado médio dos valores de % (m/m) de umidade encontrados para os queijos Reino submetidos aos tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação. Média das três repetições.

Tratamentos	Tempos (em dias após a fabricação)			
	2	11	16	36
A	40,53 ^{aA}	38,42 ^{abA}	37,23 ^{bA}	33,60 ^{cB}
B	40,53 ^{aA}	38,42 ^{abA}	37,23 ^{bA}	35,82 ^{bA}

Letras iguais indicam valores semelhantes pelo Teste de *Student Newman-Keuls* (SNK) em nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas devem ser consideradas entre os Tratamentos A e B, em cada tempo e, minúsculas entre os tempos de cada tratamento.

A partir da análise da Tabela 10, verificou-se que independentemente do tratamento, o % (m/m) de umidade dos queijos diminuiu com o passar do tempo. Porém, os tratamentos A e B tiveram efeitos diferentes sobre a variação do % (m/m) de umidade dos queijos ao longo do tempo, o que caracterizou a interação entre tempo e tratamento.

Percebeu-se que o % (m/m) de umidade dos queijos submetidos ao tratamento A tiveram maior redução desta variável que a observada naqueles submetidos ao tratamento B, no período analisado. A variação no teor de umidade do queijo é dependente das condições de maturação, tais como a temperatura em que ocorre, %URA e se está embalado ou não. A perda de umidade durante a maturação pode ser controlada pelo aumento da umidade relativa do ar da câmara de maturação ou pela embalagem do queijo (BERESFORD et al, 2001). Dessa maneira, como a maturação dos queijos submetidos ao tratamento A foi realizada em

temperatura mais alta (18-22°C), URA mais baixa (55-65%) e sem embalagem, eles tiveram uma maior redução do % (m/m) de umidade em função da maior desidratação.

A partir da análise de regressão do % (m/m) de umidade *versus* tempo dos valores de % (m/m) de umidade observados ao longo do tempo (dois a trinta e seis dias após a fabricação), obtiveram-se as equações ajustadas para os tratamentos A e B. As curvas ajustadas do % (m/m) de umidade *versus* tempo mostraram o comportamento linear decrescente do teor % (m/m) de umidade dos queijos Reino em função do período estudado, considerando valores de umidade obtidos para os tratamentos A e B, conforme apresentado na Figura 14.

As equações e a Figura 14 também demonstraram que tratamento A teve maior efeito sobre o comportamento do % (m/m) de umidade dos queijos Reino devido aos fatores anteriormente mencionados. Por meio da análise do coeficiente de regressão (**b**) da equação ajustada ao tratamento A e ao B verificou-se que o referente ao A foi maior, logo, o fator tempo teve mais impacto na redução da % (m/m) de umidade dos queijos submetidos ao tratamento A.

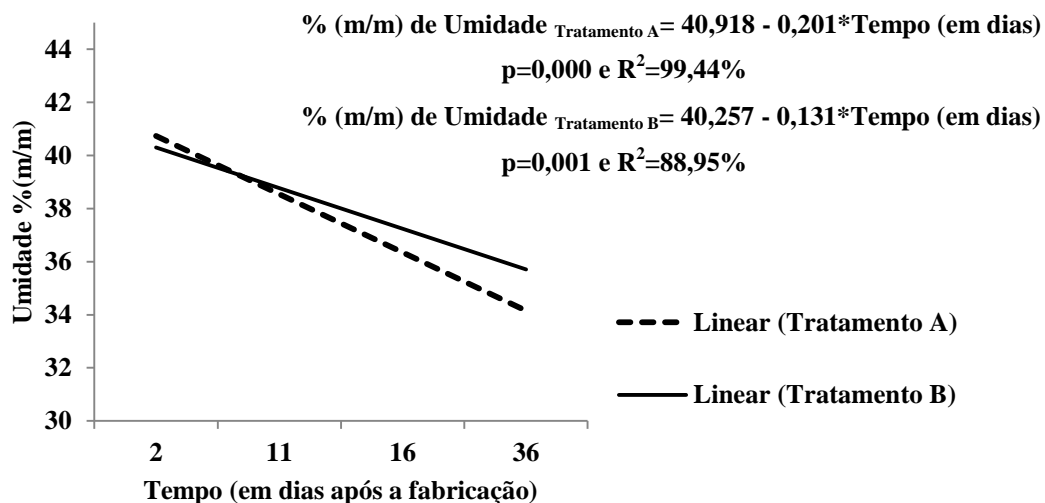


FIGURA 14. Curvas ajustadas do % (m/m) de umidade *versus* tempo dos queijos Reino, considerando valores de teor % (m/m) de umidade obtidos para os tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação.

5.1.4.4 Resíduo mineral fixo (RMF) (Cinzas)

O coeficiente de variação (CV) referente ao % (m/m) de RMF foi igual a 4,20%, o que indicou que este se comportou como uma variável estável ao longo do tempo, por variar

muito pouco no período estudado (FONSECA & MARTINS, 1996).

A análise de variância (ANAVA) indicou que não houve diferença estatisticamente significativa quanto ao % (m/m) de RMF entre os tratamentos A e B ($p=0,057$). Houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos dos tratamentos A e B ($p=0,000$).

A comparação de médias referente ao % (m/m) de RMF dos queijos submetidos aos tratamentos A e B está apresentada na Tabela 11.

TABELA 11. Resultado médio dos valores de % (m/m) de RMF encontrados para os queijos Reino submetidos aos tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação. Média das três repetições.

Tratamentos	Tempos (em dias após a fabricação)			
	2	11	16	36
A	3,53 ^{ca}	3,73 ^{bcA}	3,88 ^{ba}	4,17 ^{aa}
B	3,53 ^{ba}	3,73 ^{abA}	3,88 ^{aa}	4,03 ^{aa}

Letras iguais indicam valores semelhantes pelo Teste de *Student Newman-Keuls (SNK)* em nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas devem ser consideradas entre os Tratamentos A e B, em cada tempo e, minúsculas entre os tempos de cada tratamento.

Verificou-se que independentemente do tratamento, o % (m/m) RMF dos queijos aumentou com o passar do tempo. Este comportamento demonstrou que, com o passar do tempo, os constituinte do RMF foram se concentrando no queijo em função da desidratação decorrente do processo de secagem e de maturação do mesmo.

Os tratamentos A e B tiveram efeitos diferentes sobre a variação do % (m/m) de RMF dos queijos ao longo do tempo, o que caracterizou a interação entre tempo e tratamento. Os queijos submetidos ao tratamento A tiveram maior redução desta variável que a observada naqueles submetidos ao tratamento B, no período analisado. Como a maturação dos queijos submetidos ao tratamento A foi realizada em temperatura mais alta, URA mais baixa e sem embalagem, eles tiveram uma maior concentração do % (m/m) de RMF em função da maior desidratação sofrida.

A partir da análise de regressão do % (m/m) de RMF *versus* tempo dos valores de % (m/m) de RMF observados ao longo do tempo (dois a trinta e seis dias após a fabricação), obteve-se a equação ajustada aos tratamentos A e B. A curva ajustada do % (m/m) de RMF *versus* tempo mostrou o comportamento linear crescente do % (m/m) de RMF dos queijos Reino em função do período estudado, considerando valores de % (m/m) de RMF obtidos para os tratamentos A e B, conforme apresentado na Figura 15.

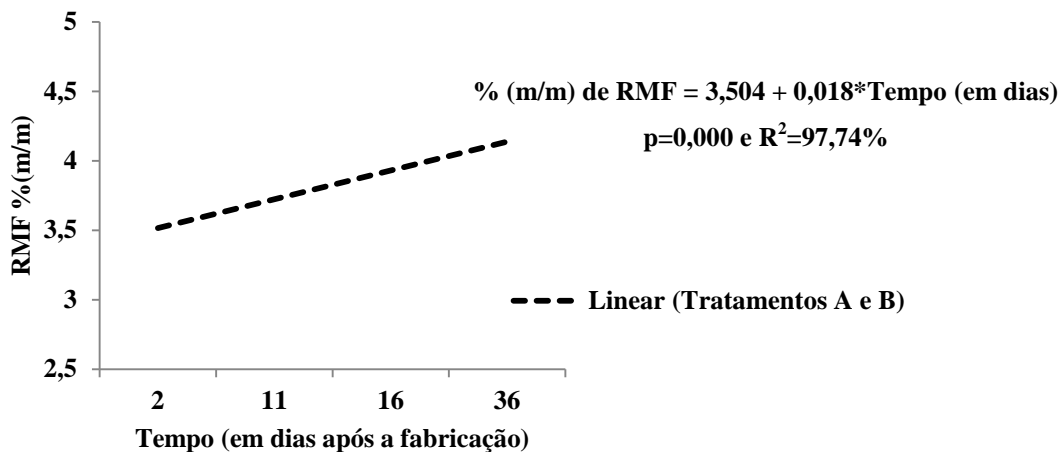


FIGURA 15. Curva ajustada do % (m/m) RMF *versus* tempo dos queijos Reino, considerando valores de % (m/m) de RMF obtidos para os tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação.

5.1.4.5 Gordura

O coeficiente de variação (CV) referente ao % (m/m) de gordura foi igual a 5,68%, o que indicou que esta se comportou como uma variável estável ao longo do tempo, por variar pouco no período estudado (FONSECA & MARTINS, 1996).

A análise de variância (ANAVA) indicou que houve diferença estatisticamente significativa quanto ao teor de gordura entre os tratamentos A e B ($p=0,086$). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos de cada tratamento ($p=0,169$).

A comparação de médias referente ao % (m/m) de gordura dos queijos submetidos aos tratamentos A e B está apresentada na Tabela 12.

TABELA 12. Resultado médio dos valores de % (m/m) de gordura encontrados para os queijos Reino submetidos aos tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação. Média das três repetições.

Tratamentos	Tempos (em dias após a fabricação)			
	2	11	16	36
A	30,00 ^{aA}	31,50 ^{aA}	32,00 ^{aA}	31,25 ^{aB}
B	30,00 ^{aA}	31,50 ^{aA}	32,00 ^{aA}	33,42 ^{aA}

Letras iguais indicam valores semelhantes pelo Teste de *Student Newman-Keuls* (SNK) em nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas devem ser consideradas entre os Tratamentos A e B, em cada tempo e, minúsculas entre os tempos de cada tratamento.

Foi verificado que os queijos do tratamento B não apresentaram variação no % (m/m) de gordura ao longo do tempo (Tabela 12). Esse fato se explicou devido à baixa temperatura de maturação que, associada à embalagem em película de plástico termo-encolhível, reduziu a

velocidade das reações bioquímicas típicas e com isso, houve menor liberação de gordura das micelas de caseínas e, conseqüentemente, menor a exudação (FOX et al, 2000).

Nos queijos submetidos ao tratamento A percebeu-se que o % (m/m) de gordura foi menor que o daqueles submetidos ao tratamento B, no tempo 36 dias após a fabricação. Isso pôde ser justificado pelo fato de que a temperatura de maturação mais elevada acelerou as reações bioquímicas típicas (FOX et al, 2000) e, a URA mais baixa e o fato de não ter sido embalado intensificaram a exsudação de gordura dos mesmos.

Logo, os tratamentos A e B tiveram efeitos diferentes sobre a variação do % (m/m) de gordura dos queijos ao longo do tempo, o que caracterizou a interação entre tempo e tratamento, uma vez que ambos os fatores tiveram efeito sobre o comportamento do % (m/m) de gordura.

Não houve tendência estatisticamente significativa do comportamento do % (m/m) de gordura ao longo do tempo, por isso, o modelo de regressão linear não foi adequado para explicar o comportamento do mesmo.

5.1.4.6 Gordura no Extrato Seco Total (GES)

O coeficiente de variação (CV) referente ao % (m/m) de GES foi igual a 4,69%, o que indicou que este se comportou como uma variável estável ao longo do tempo, por ter variado pouco no período estudado (FONSECA & MARTINS, 1996). A pequena variação observada no % (m/m) de GES é devida o mesmo se tratar de uma variável estável ao longo do tempo (FURTADO, 1991).

A análise de variância (ANAVA) indicou que houve diferença estatisticamente significativa quanto ao teor % (m/m) de GES entre os tratamentos A e B ($p=0,039$) e que não houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos de cada tratamento ($p=0,660$).

A comparação de médias referente ao % (m/m) de GES dos queijos submetidos aos tratamentos A e B está apresentada na Tabela 13.

A partir da análise da Tabela 13, verificou-se que o % (m/m) de GES dos queijos variou em função do tratamento ao qual foram submetidos. Logo, houve interação entre tempo e tratamento, uma vez que os tratamentos A e B tiveram efeitos diferentes sobre a variação do % (m/m) de GES dos queijos ao longo do tempo.

TABELA 13. Resultado médio dos valores de % (m/m) de GES encontrados para os queijos Reino submetidos aos tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação. Média das três repetições.

Tratamentos	Tempos (em dias após a fabricação)			
	2	11	16	36
A	50,38 ^{aA}	51,15 ^{aA}	50,98 ^{aA}	47,07 ^{aB}
B	50,38 ^{aA}	51,15 ^{aA}	50,98 ^{aA}	52,07 ^{aA}

Letras iguais indicam valores semelhantes pelo Teste de *Student Newman-Keuls (SNK)* em nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas devem ser consideradas entre os Tratamentos A e B, em cada tempo e, minúsculas entre os tempos de cada tratamento.

Percebeu-se que o queijo submetido ao tratamento A apresentou menor % (m/m) de GES, no tempo trinta e seis dias após a fabricação, devido ao fato de ter sido maturado a uma temperatura mais elevada, URA mais baixa e sem embalagem. Isso contribuiu para que fosse mais proteolizado e exsudasse mais gordura, e, dessa maneira os % (m/m) de gordura e EST fossem reduzidos, refletindo nesse resultado (FURTADO, 2011; FURTADO, 1991).

Não houve tendência estatisticamente significativa do comportamento do % (m/m) de GES ao longo do tempo, logo, o modelo de regressão linear não foi adequado para explicar o comportamento do mesmo.

5.1.4.7 Cloreto de sódio (NaCl)

O % (m/m) de NaCl adicionado ao queijo é importante por atuar em sua conservação, contribuir para a melhoria do *flavor* e da qualidade (FOX et al, 2000; FURTADO, 1991; McSWEENEY, 2007; MORRIS et al, 1985; PAYNE; MORISON, 1999).

O coeficiente de variação (CV) referente ao teor % (m/m) de NaCl foi igual a 14,01%, o que indicou que este se tratou de uma variável de estabilidade média ao longo do tempo, por variar moderadamente no período estudado (FONSECA & MARTINS, 1996). Essa variação é devida à desidratação dos queijos durante os processos de secagem e maturação, nos quais há perda de umidade e concentração de NaCl no EST do queijo (FURTADO, 2011).

A análise de variância (ANAVA) indicou que não houve diferença estatisticamente significativa quanto ao teor % (m/m) de NaCl entre os tratamentos A e B ($p=0,742$). Houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos de cada tratamento ($p=0,000$).

A comparação de médias referente ao % (m/m) de NaCl dos queijos submetidos aos tratamentos A e B está apresentada na Tabela 14.

TABELA 14. Resultado médio dos valores de % (m/m) de NaCl encontrados para os queijos Reino submetidos aos tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação. Média das três repetições.

Tratamentos	Tempos (em dias após a fabricação)			
	2	11	16	36
A	0,64 ^{bA}	0,90 ^{bA}	1,19 ^{aA}	1,42 ^{aA}
B	0,64 ^{bA}	0,90 ^{bA}	1,19 ^{aA}	1,41 ^{aA}

Letras iguais indicam valores semelhantes pelo Teste de *Student Newman-Keuls (SNK)* em nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas devem ser consideradas entre os Tratamentos A e B, em cada tempo e, minúsculas entre os tempos de cada tratamento.

A partir da análise da Tabela 14, verificou-se que, independentemente dos dias de fabricação, os tratamentos A e B tiveram o mesmo efeito sobre a variação do % (m/m) de NaCl dos queijos. Logo, não houve interação entre tempo e tratamento, uma vez que apenas o fator tempo teve influência sobre o comportamento do % (m/m) de NaCl dos queijos, modificando-o.

Ambos os tratamentos apresentaram aumento no teor % (m/m) de NaCl com o passar do tempo. Esse aumento tornou-se estatisticamente significativo no tempo 16 dias após a fabricação, demonstrando que a temperatura em que os queijos foram maturados nos cinco primeiros dias foi significativa para provocar essa variação. Entretanto, as condições diferenciadas de maturação dos tratamentos A (temperatura de 18 a 22° C, com 55- 65% de URA durante 25 dias) e B (após 5 dias nas condições do tratamento A, os queijos foram embalados em película termo-encolhível e se mantiveram por mais 20 dias em câmara a 5-10° C, com 70-80% de URA,) a partir do 16° dia após a fabricação, não alterou estatisticamente o % (m/m) de NaCl, no período estudado.

A partir da análise de regressão do % (m/m) de NaCl *versus* Tempo dos valores de % (m/m) de NaCl observados ao longo do tempo (dois a trinta e seis dias após a fabricação), obteve-se a equação ajustada aos tratamentos A e B. A curva ajustada do % (m/m) de NaCl *versus* tempo mostrou o comportamento linear crescente do % (m/m) de NaCl dos queijos Reino em função do período estudado, considerando valores de % (m/m) de NaCl obtidos para os tratamentos A e B, conforme apresentado na Figura 16.

A regressão linear também indicou que não houve diferença estatisticamente significativa entre o impacto provocado pelo tratamento A e pelo B sobre o comportamento % (m/m) de NaCl dos queijos, ao longo dos tempos analisados.

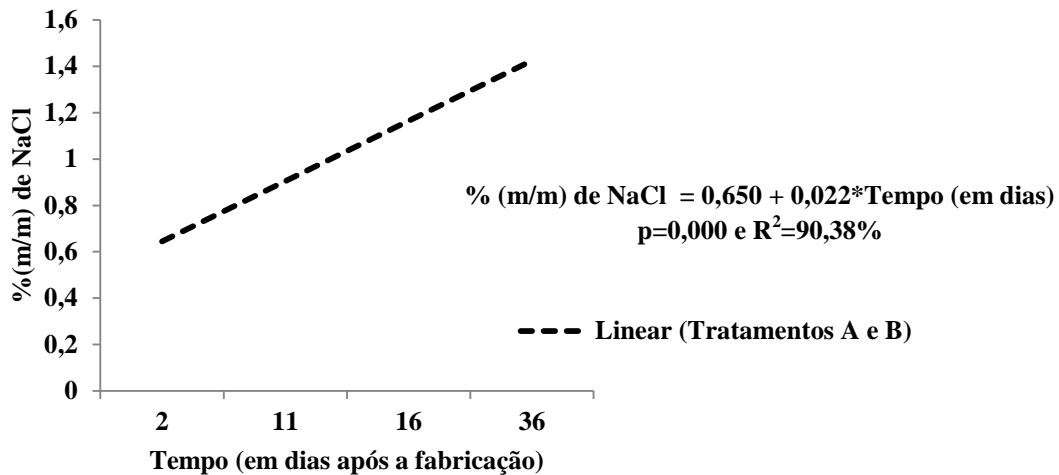


FIGURA 16. Curva ajustada do % (m/m) de NaCl *versus* tempo dos queijos Reino, considerando valores de teor % (m/m) de NaCl obtidos para os tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação.

5.1.4.8 Sal na umidade do queijo (NaCl/U)

O teor % (m/m) de NaCl/U do queijo também tem fundamental importância para a qualidade e o desenvolvimento das características típicas de sabor e textura do mesmo (FOX et al, 2000).

O coeficiente de variação (CV) referente ao % (m/m) de NaCl/U foi igual a 16,01%, o que indicou que este se comportou como uma variável de estabilidade média ao longo do tempo, por variar moderadamente no período estudado (FONSECA & MARTINS, 1996).

A análise de variância (ANAVA) indicou que não houve diferença estatisticamente significativa quanto ao % (m/m) de NaCl/U entre os tratamentos A e B ($p=0,086$). Houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos de cada tratamento ($p=0,000$).

A comparação de médias referente ao % (m/m) de NaCl/U dos queijos submetidos aos tratamentos A e B está apresentada na Tabela 15.

TABELA 15. Resultado médio dos valores de % (m/m) de NaCl/U encontrados para os queijos Reino submetidos aos tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação. Média das três repetições.

Tratamentos	Tempos (em dias após a fabricação)			
	2	11	16	36
A	1,55 ^{cA}	2,29 ^{cA}	3,09 ^{bA}	4,08 ^{aA}
B	1,55 ^{bA}	2,29 ^{bA}	3,09 ^{aA}	3,81 ^{aA}

Letras iguais indicam valores semelhantes pelo Teste de *Student Newman-Keuls* (SNK) em nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas devem ser consideradas entre os Tratamentos A e B, em cada tempo e, minúsculas entre os tempos de cada tratamento.

A partir da análise da Tabela 15, verificou-se que os queijos submetidos aos tratamentos A e B não diferenciaram estatisticamente entre si.

Verificou-se que independentemente do tratamento, o % (m/m) NaCl/U dos queijos aumentou com o passar do tempo. Este comportamento demonstrou que o NaCl se concentrou no queijo em função da desidratação decorrente do processo de maturação do mesmo.

Porém, a aplicação dos tratamentos A e B nos queijos provocaram efeitos diferentes sobre a variação do % (m/m) de NaCl/U dos queijos ao longo do tempo, o que caracterizou a interação entre tempo e tratamento.

Os queijos submetidos ao tratamento A tiveram maior variação desta variável que a observada naqueles submetidos ao tratamento B, no período analisado. Como a maturação dos queijos submetidos ao tratamento A foi realizada em temperatura mais alta, URA mais baixa e sem embalagem, eles tiveram uma maior perda de umidade e, conseqüentemente, maior concentração do % (m/m) de NaCl, o que aumentou o % (m/m) de NaCl/U.

A partir da análise de regressão do %m/m de NaCl/U *versus* tempo dos valores de % (m/m) de NaCl/U observados ao longo do tempo (dois a trinta e seis dias após a fabricação), obteve-se a equação ajustada aos tratamentos A e B. A curva ajustada do % (m/m) de NaCl/U *versus* tempo mostrou o comportamento linear crescente do % (m/m) de NaCl/U dos queijos Reino em função do período estudado, considerando valores de % (m/m) de NaCl/U obtidos para os tratamentos A e B, conforme apresentado na Figura 17.

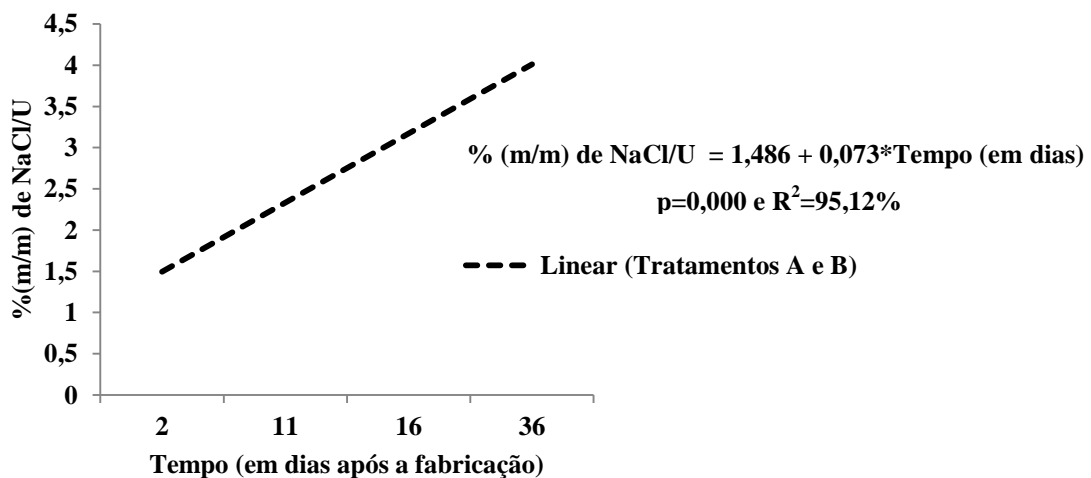


Figura 17. Curva ajustada do % (m/m) de NaCl/U *versus* tempo dos queijos Reino, considerando valores de % (m/m) de NaCl/U obtidos para os tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação.

5.1.4.9 Proteína

O coeficiente de variação (CV) referente ao % (m/m) de proteína foi igual a 1,93%, o que indicou que esta se comportou como variável estável ao longo do tempo, por variar muito pouco no período estudado (FONSECA & MARTINS, 1996).

A análise de variância (ANAVA) indicou que houve diferença estatisticamente significativa quanto ao % (m/m) de proteína entre os tratamentos A e B ($p=0,002$). Houve também diferença estatisticamente significativa entre os tempos dos tratamentos A e do B ($p=0,000$).

A comparação de médias referente ao % (m/m) de proteína dos queijos submetidos aos tratamentos A e B está apresentada na Tabela 16.

TABELA 16. Resultado médio dos valores de % (m/m) de proteína encontrados para os queijos Reino submetidos aos tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação. Média das três repetições.

Tratamentos	Tempos (em dias após a fabricação)			
	2	11	16	36
A	23,42 ^{cA}	24,73 ^{bA}	25,31 ^{bA}	26,30 ^{aA}
B	23,42 ^{bA}	24,73 ^{aA}	25,31 ^{aA}	25,37 ^{aB}

Letras iguais indicam valores semelhantes pelo Teste de *Student Newman-Keuls (SNK)* em nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas devem ser consideradas entre os Tratamentos A e B, em cada tempo e, minúsculas entre os tempos de cada tratamento.

Na análise da Tabela 16, verificou-se que, os tratamentos A e B tiveram efeitos diferentes sobre a variação do % (m/m) de proteína dos queijos ao longo do tempo. Logo, houve interação entre tempo e tratamento, uma vez que ambos os fatores tiveram efeito sobre o comportamento do % (m/m) de proteína dos queijos, modificando-o.

Ambos os tratamentos apresentaram aumento aparente no teor % (m/m) de proteína com o passar do tempo. Esse aumento tornou-se estatisticamente significativo a partir do 11º dia após a fabricação, demonstrando que o processo de secagem foi significativo para provocar essa variação em função da desidratação dos queijos durante o mesmo. A secagem dos queijos foi realizada à temperatura média de 14,3° C e 95% URA.

A partir do 16º dia após a fabricação, apenas o tratamento A provocou alteração estatisticamente significativa no teor % (m/m) de proteína, o que indicou que as condições diferenciadas de maturação dos tratamentos A e B, fizeram com que os queijos submetidos aquele tratamento tivessem maior concentração de proteína por terem sofrido maior

desidratação, devido ao fato de terem sido maturados a uma temperatura mais elevada, URA mais baixa e sem embalagem.

A partir da análise de regressão % (m/m) de proteína *versus* tempo dos valores de % (m/m) de proteína observados ao longo do tempo (dois a trinta e seis dias após a fabricação), obtiveram-se as equações ajustadas aos tratamentos A e B. As curvas ajustadas do % (m/m) de proteína *versus* tempo mostraram o comportamento linear crescente do % (m/m) de proteína dos queijos Reino em função do período estudado, considerando valores de % (m/m) de proteína obtidos para os tratamentos A e B, conforme apresentado na Figura 18.

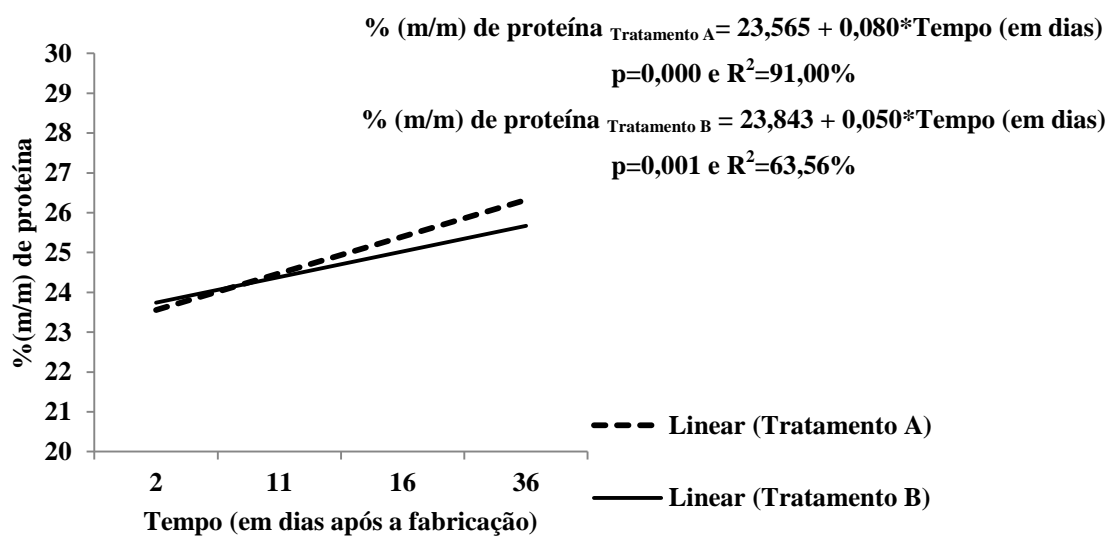


FIGURA 18. Curvas ajustadas do % (m/m) de proteína *versus* tempo dos queijos Reino, considerando valores de % (m/m) de proteína obtidos para os tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação.

5.1.4.10 Relação % $NS_{pH4,6}/NT$

A extensão da proteólise nos queijos, isto é, o grau em que as caseínas e peptídeos são hidrolisados e quantificados pelo teor de $NS_{pH4,6}$, varia de muito limitado (Mussarela) a muito extensivo (*Blue cheese*). As diferenças no teor de nitrogênio solúvel são devido a diferenças no teor de umidade, temperatura e pH de drenagem e principalmente devido a ação da quimosina e em menor extensão da plasmina (FOX; McSWEENEY, 1996).

O coeficiente de variação (CV) referente à relação % $NS_{pH4,6}/NT$ foi igual a 8,39%, o que indicou que apesar de se tratar de uma variável pouco estável ao longo do tempo, a técnica experimental conseguiu reduzir a variabilidade dos dados por meio do delineamento adequado ao experimento em questão.

A análise de variância (ANAVA) indicou que houve diferença estatisticamente significativa quanto à relação % $NS_{pH4,6}/NT$ entre os tratamentos A e B ($p=0,002$), no tempo trinta e seis dias após a fabricação. Houve também diferença estatisticamente significativa entre os tempos dos tratamentos A e B ($p=0,000$).

A comparação de médias referente à relação % $NS_{pH4,6}/NT$ dos queijos submetidos aos tratamentos A e B está apresentada na Tabela 17.

TABELA 17. Resultado médio dos valores da relação % $NS_{pH4,6}/NT$ encontrados para os queijos Reino submetidos aos tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação. Média das três repetições.

Tratamentos	Tempos (em dias após a fabricação)			
	2	11	16	36
A	4,48 ^{dA}	5,97 ^{cA}	7,81 ^{bA}	15,78 ^{aA}
B	4,48 ^{dA}	5,97 ^{cA}	7,81 ^{bA}	10,03 ^{aB}

Letras iguais indicam valores semelhantes pelo Teste de *Student Newman-Keuls (SNK)* em nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas devem ser consideradas entre os Tratamentos A e B, em cada tempo e, minúsculas entre os tempos de cada tratamento.

Os tratamentos A e B tiveram efeitos diferentes sobre a variação da relação % $NS_{pH4,6}/NT$ dos queijos ao longo do tempo. Logo, houve interação entre tempo e tratamento, uma vez que ambos os fatores tiveram efeito sobre o comportamento dessa relação, modificando-a (Tabela 17).

Ambos os tratamentos apresentaram aumento na relação % $NS_{pH4,6}/NT$ com o passar do tempo. Esse aumento tornou-se estatisticamente significativo a partir do 11º dia após a fabricação, demonstrando que o processo de secagem e de maturação foram significativos para provocar essa variação.

No tempo 36 dias após a fabricação, a relação % $NS_{pH4,6}/NT$ dos queijos submetidos aos tratamentos A e B diferiram estatisticamente entre si. Verificou-se que aqueles submetidos ao A apresentaram valores maiores para essa variável (57,3% maior). Tal fato pôde ser justificado porque a maturação dos queijos submetidos a esse tratamento foi realizada em temperatura mais elevada e sem embalagem, o que favoreceu o processo de proteólise, tornando-o mais rápido (FOX et al, 2000).

A partir da análise de regressão relação % $NS_{pH4,6}/NT$ versus tempo dos valores da relação % $NS_{pH4,6}/NT$ observados ao longo do tempo, obtiveram-se as equações ajustadas aos tratamentos A e B. As curvas ajustadas da relação % $NS_{pH4,6}/NT$ versus tempo mostraram o comportamento linear crescente da mesma em função do período estudado, considerando valores da relação % $NS_{pH4,6}/NT$ obtidos para os tratamentos A e B (Figura 19).

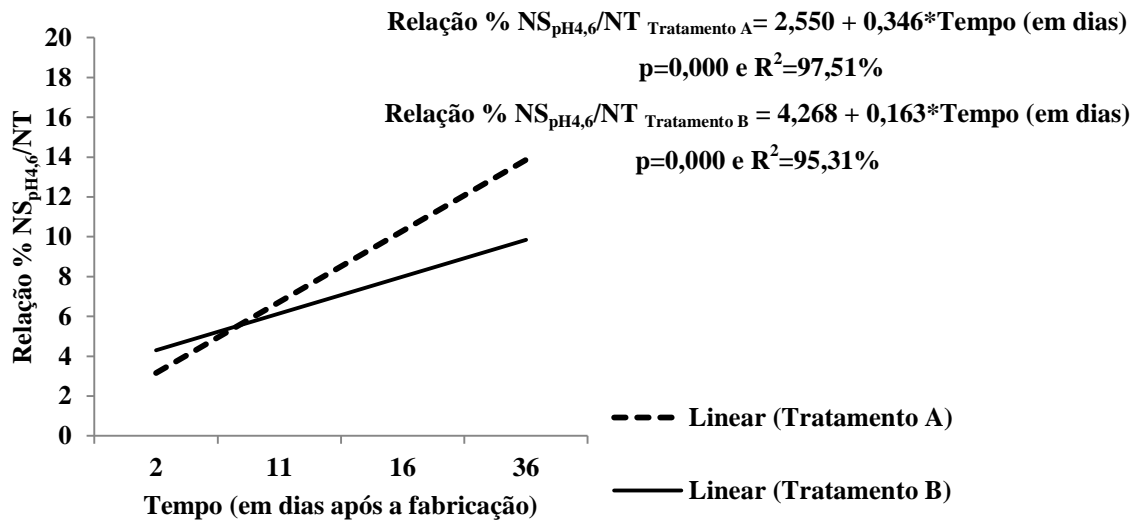


FIGURA 19. Curvas ajustadas da relação % $NS_{pH4,6}/NT$ versus tempo dos queijos Reino, considerando valores de relação % $NS_{pH4,6}/NT$ obtidos para os tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação.

O tratamento A teve maior efeito sobre o comportamento da relação % $NS_{pH4,6}/NT$ dos queijos Reino devido aos fatores anteriormente mencionados. Por meio da análise do coeficiente de regressão (**b**) da equação ajustada ao tratamento A e ao B verificou-se que o referente ao A foi maior, logo, o fator tempo teve mais impacto no aumento da relação % $NS_{pH4,6}/NT$ desse tratamento.

5.1.4.11 Relação % $NS_{TCA12\%}/NT$

O coeficiente de variação (CV) referente à relação % $NS_{TCA12\%}/NT$ foi igual a 12,52%, o que indicou que esta se trata de uma variável pouco estável ao longo do tempo, a técnica experimental conseguiu reduzir a variabilidade dos dados por meio do delineamento adequado ao experimento em questão.

A análise de variância (ANAVA) indicou que houve diferença estatisticamente significativa quanto à relação % $NS_{TCA12\%}/NT$ entre os tratamentos A e B ($p=0,001$) e também entre os tempos de cada tratamento ($p=0,000$).

Os queijos dos tratamentos A e B tiveram efeitos diferentes sobre a variação da relação % $NS_{TCA12\%}/NT$ ao longo do tempo (Tabela 18). Logo, houve interação entre tratamento e tempo, uma vez que ambos os fatores tiveram efeito sobre o comportamento da relação % $NS_{TCA12\%}/NT$ dos queijos, modificando-a.

TABELA 18. Resultado médio dos valores da relação % $NS_{TCA12\%}/NT$ (% m/m) encontrados para os queijos Reino submetidos aos tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação. Média das três repetições.

Tratamentos	Tempos (em dias após a fabricação)			
	2	11	16	36
A	1,89 ^{cA}	2,73 ^{cA}	4,24 ^{bA}	9,50 ^{aA}
B	1,89 ^{cA}	2,73 ^{cA}	4,24 ^{bA}	5,61 ^{aB}

Letras iguais indicam valores semelhantes pelo Teste de *Student Newman-Keuls (SNK)* em nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas devem ser consideradas entre os Tratamentos A e B, em cada tempo e, minúsculas entre os tempos de cada tratamento.

Como esperado, os tratamentos apresentaram aumento na relação % $NS_{TCA12\%}/NT$ com o passar do tempo. Esse aumento tornou-se estatisticamente significativo a partir do 11º dia após a fabricação, demonstrando que o processo de secagem foi homogêneo e não alterou essa relação dos queijos, diferentemente da maturação, que provocou essa variação.

No tempo 36 dias após a fabricação, a relação % $NS_{TCA12\%}/NT$ dos queijos diferiu estatisticamente. Verificou-se que a superioridade do valor da relação % em A (69,3%) pôde ser justificado porque a maturação dos queijos aconteceu em temperatura mais elevada e sem embalagem, o que favoreceu o processo de profundidade da proteólise, tornando-o mais rápido (FOX et al, 2000). Embora nos tratamentos, foram empregados o mesmo fermento lácteo, a exposição dos queijos à temperaturas de maturação elevadas, proporcionou maior degradação dos peptídeos de massa moleculares menores, o que neste caso foi evidenciado pelo efeito da relação % $NS_{TCA12\%}/NT$ dos queijos.

A partir das curvas da relação % $NS_{TCA12\%}/NT$ *versus* tempo ao longo do tempo, obtiveram-se as equações ajustadas aos tratamentos A e B. As curvas ajustadas da relação % $NS_{TCA12\%}/NT$ *versus* tempo mostraram o comportamento linear crescente em função do período estudado (Figura 20).

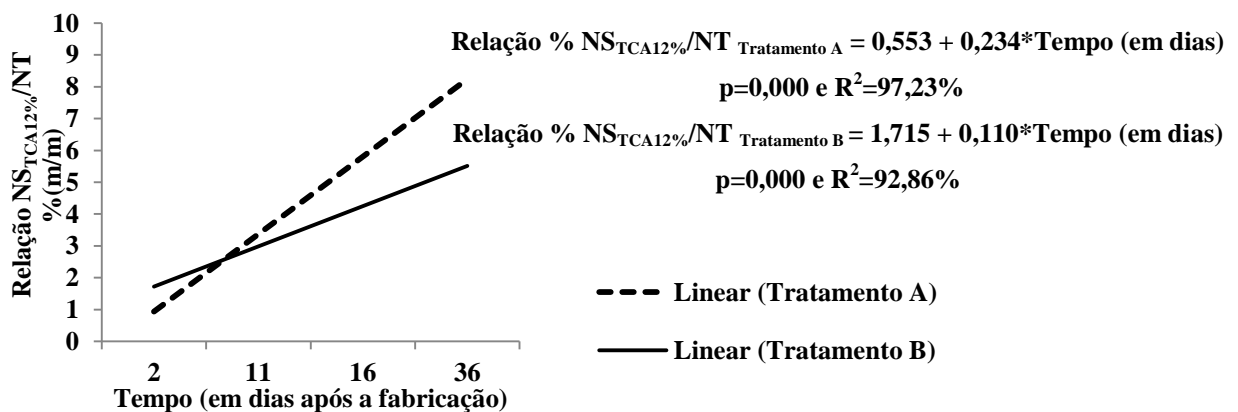


FIGURA 20. Curvas ajustadas da relação % $NS_{TCA12\%}/NT$ *versus* tempo dos queijos Reino, considerando valores de relação % $NS_{TCA12\%}/NT$ obtidos para os tratamentos A e B, nos tempos dois, onze, dezesseis e trinta e seis dias após a fabricação.

5.2 FASE 2

5.2.1 Análises físicas, químicas e físico-químicas do queijo Reino nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação

Nesta fase, objetivou-se continuar a verificação do comportamento do queijo Reino submetido a seis condições de maturação derivadas dos tratamentos A e B da fase 1. Sendo: tratamentos A₁, A₂, A₃, B₁, B₂ e B₃.

A normalidade dos dados referentes aos resultados das análises não foi rejeitada pelo teste de Shapiro Wilk ($p > 0,01$).

5.2.1.1 pH

O coeficiente de variação (CV) referente ao pH foi igual a 0,97%, o que indicou que o mesmo se apresentou como uma variável estável ao longo do tempo, por ter variado muito pouco no período estudado (FONSECA & MARTINS, 1996).

A análise de variância (ANAVA) indicou que o fator A não foi estatisticamente significativo ($p = 0,212$). Isso demonstrou que a aplicação nos tratamentos A e B não alterou o pH, independentemente dos outros fatores. O fator B foi estatisticamente significativo ($p = 0,003$), indicando que as subdivisões dos tratamentos provocou alteração no pH, independentemente dos outros fatores. Finalmente, o fator C foi estatisticamente significativo ($p = 0,003$). Isso demonstrou que o tempo de estocagem dos queijos Reino provocou variação estatisticamente significativa do pH, independentemente dos outros fatores.

A comparação das médias entre as subdivisões do tratamento A e do B e, entre os tempos de cada subdivisão está apresentada na Tabela 19.

Percebeu-se que entre os queijos submetidos às subdivisões dos tratamentos A apenas o pH do queijo submetido ao tratamento A₂ sofreu variação estatisticamente significativa ao longo do tempo. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os queijos submetidos às subdivisões dos tratamentos A.

Em relação aos queijos submetidos às subdivisões do tratamento B percebeu-se que até o tempo 126 dias após a fabricação, o pH do B₁ e do B₂ foram iguais estatisticamente. No tempo 156 dias após a fabricação, o pH do B₂ se igualou ao do B₃ e o do B₁ foi menor que o de ambos.

TABELA 19. Resultados médios de pH para os queijos Reino subdivididos nos tratamentos A₁, A₂, A₃, B₁, B₂ e B₃, nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação. Média das três repetições.

Tempos (em dias após a fabricação)	Tratamento A		
	A ₁	A ₂	A ₃
66	5,52 ^{aA}	5,53 ^{aB}	5,61 ^{aA}
96	5,54 ^{aA}	5,58 ^{aB}	5,59 ^{aA}
126	5,59 ^{aA}	5,69 ^{aA}	5,69 ^{aA}
156	5,64 ^{aA}	5,62 ^{aAB}	5,65 ^{aA}
	Tratamento B		
	B ₁	B ₂	B ₃
66	5,48 ^{aB}	5,51 ^{aB}	5,60 ^{aB}
96	5,52 ^{bAB}	5,58 ^{bAB}	5,69 ^{aA}
126	5,60 ^{bA}	5,67 ^{abA}	5,76 ^{aA}
156	5,56 ^{bAB}	5,67 ^{aA}	5,73 ^{aA}

Letras iguais indicam valores semelhantes pelo Teste de *Student Newman-Keuls (SNK)* em nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas devem ser consideradas entre as linhas de um mesmo tratamento e, minúsculas entre as colunas de cada tempo.

Nos queijos submetidos às subdivisões dos tratamentos A e B existiu interação entre os fatores B e C sobre a variação do pH, uma vez que houve variação do mesmo ao longo do tempo de estocagem e, elas ocorreram de forma distinta entre os tratamentos. No entanto, apesar da ANAVA ter indicado que o fator A isoladamente não teve efeito estatisticamente significativo sobre o comportamento do pH dos queijos, os resultados para os tratamentos A e B foram distintos no que diz respeito à interação fator B x fator C (Tabela 19). Existiu uma tríplice interação entre fator A x fator B x fator C, pois o comportamento do pH dos queijos foi dependente dos três.

Foram detectadas mais diferenças estatisticamente significativas entre o pH dos queijos submetidos às subdivisões do tratamento B, o que indicou que sofreram maior efeito de tratamento e de tempo que aqueles submetidos às subdivisões do tratamento A. Isso pôde ser justificado pelo fato de que as subdivisões do tratamento B apresentaram maiores % (m/m) de umidade, o que favoreceu a ocorrência das reações bioquímicas e, conseqüentemente a elevação gradual do pH com o passar do tempo (FOX et al, 2000; Upreti; Metzger, 2007).

Os tratamentos A₂ e B₂ sofreram a maior variação do pH ao longo do tempo em função de seu % (m/m) de umidade e das condições de estocagem (embalados e mantidos à temperatura de 18-22° C/55-65%URA, por 120 dias). Os tratamentos A₁ e B₁, e, A₃ e B₃

sofreram menores variações do pH em função, respectivamente, da baixa temperatura de estocagem (5-10° C), que desfavoreceu o processo de proteólise, e, da elevada temperatura de estocagem (28-33° C), que motivou tal variação no início do período de estocagem, entre a fase 1 e 2 do experimento.

Os resultados encontrados para o pH dos queijos submetidos aos seis tratamentos no tempo 66 dias após a fabricação foram semelhantes aos encontradas por Furtado (2007) e Furtado (2008), entre 5,10 e 5,78. Os autores demonstraram que o queijo Reino é comercializado sob condições diferenciadas de estocagem, sobretudo, de temperaturas que variam entre baixa ($\pm 12^\circ$ C) e ambiente. Dessa forma, o processo de maturação é afetado e o pH do queijo é modificado à medida em que esse avança (FOX et al, 2000; FURTADO, 2007).

A elevação do pH ao longo da maturação é devido a neutralização esperada durante a maturação de queijos pela degradação parcial do ácido láctico e à formação de compostos nitrogenados alcalinos (SALAÜN et al, 2005).

As mudanças ocorridas no pH dos queijos Reino se assemelhou àquelas verificadas por Del Prato (2001). Em sua pesquisa, o pH do queijo *Parmigiano Reggiano* durante o processo de maturação (20 meses) variou de 5,35 a 5,41. Ou seja, houve uma elevação gradual do pH, sem alterações drásticas, como as ocorridas em queijos de alta umidade e proteólise mais extensa (por exemplo, queijos maturados por mofos) (FOX et al, 2000).

5.2.1.2 Aw

O coeficiente de variação (CV) referente à Aw foi igual a 0,51%, o que indicou que a mesma se apresentou como uma variável estável ao longo do tempo, por ter variado muito pouco no período estudado (FONSECA & MARTINS, 1996).

A análise de variância (ANAVA) indicou que os fatores A, B e C foram estatisticamente significativos ($p=0,002$, $p=0,000$ e $p=0,0000$, respectivamente). Isso demonstrou que a aplicação dos tratamentos A e B, suas subdivisões nas condições de maturação dos queijos Reino e o tempo de estocagem, provocaram variação da Aw, independentemente dos outros fatores.

A tabela de comparação de médias referente à Aw dos queijos submetidos aos seis tratamentos está apresentada abaixo (Tabela 20).

TABELA 20. Resultado médio de A_w encontrados para os queijos Reino subdivididos nos tratamentos A_1 , A_2 , A_3 , B_1 , B_2 e B_3 , nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação. Média das três repetições.

Tempos (em dias após a fabricação)	Tratamento A		
	A ₁	A ₂	A ₃
66	0,94 ^{aA}	0,94 ^{aA}	0,93 ^{bA}
96	0,94 ^{aA}	0,94 ^{aA}	0,92 ^{bB}
126	0,95 ^{aA}	0,93 ^{bB}	0,91 ^{cB}
156	0,94 ^{aA}	0,92 ^{bB}	0,91 ^{cB}
	Tratamento B		
	B ₁	B ₂	B ₃
66	0,95 ^{aA}	0,95 ^{aA}	0,94 ^{bA}
96	0,96 ^{aA}	0,95 ^{aA}	0,93 ^{bA}
126	0,96 ^{aA}	0,94 ^{bA}	0,92 ^{cB}
156	0,95 ^{aA}	0,93 ^{bB}	0,92 ^{cB}

Letras iguais indicam valores semelhantes pelo Teste de *Student Newman-Keuls (SNK)* em nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas devem ser consideradas entre as linhas de um mesmo tratamento e, minúsculas entre as colunas de cada tempo.

A partir da análise da Tabela 20 percebeu-se que apenas os tratamentos A_1 e B_1 não tiveram variação da A_w ao longo do tempo.

Não houve diferença na A_w dos queijos submetidos aos tratamentos A_1 e A_2 , e, B_1 e B_2 , até 96 dias após a fabricação, e, ambos se diferiram estatisticamente da A_w dos queijos submetidos ao tratamento A_3 e B_3 , respectivamente. A partir do tempo 126 dias, houve diferença entre a A_w dos queijos submetidos às subdivisões do tratamento A e do B.

Nos queijos submetidos às subdivisões dos tratamentos A e B houve interação entre os fatores B e C, devido a variação da A_w ao longo do tempo de estocagem e, elas ocorrerem de forma distinta entre os tratamentos. Porém, para os tratamentos A e B, existiu uma tríplice interação fator A x fator B x fator C (comportamento da A_w dependente dos três fatores). Sempre as diferenças entre os tratamentos subdivididos em 1, 2 e 3 se exacerbaram com o aumento do tempo de estocagem e sob o efeito do fator A.

De maneira geral, os queijos submetidos às subdivisões do tratamento A apresentaram menores valores de A_w ao longo do tempo, dentro de um mesmo nível do fator B (A_1 versus B_1 , A_2 versus B_2 e A_3 versus B_3). Isso pôde ser resultante da aplicação dos tratamentos A e B na fase 1 do experimento, uma vez que os queijos submetidos ao tratamento A sofreram maior redução da A_w naquela fase devido à proteólise e desidratação mais intensas. O processo de proteólise leva à diminuição da A_w por meio da formação de novos ácidos carboxílicos e

grupos aminos, liberados a partir da hidrólise das ligações peptídicas. Esses grupos então, são ionizados no pH do queijo e se ligam a água livre (UPADHYAY et al, 2004). E, a A_w é diretamente proporcional ao teor de umidade do queijo (BERESFORD et al, 2001). Dessa maneira, na fase 2 do experimento, os valores da A_w dos queijos submetidos às subdivisões do tratamento A permaneceram menores.

Percebeu-se, também, que a ação do tempo não exerceu influência sobre os tratamentos A_1 e B_1 , devido à baixa temperatura de estocagem (5-10° C). Os queijos submetidos ao tratamento A_2 apresentaram redução da A_w mais rápida que aquela observada nos queijos submetidos ao B_2 , e, o mesmo foi percebido entre os queijos submetidos aos tratamentos A_3 e B_3 , provavelmente devido ao menor teor de umidade dos queijos submetidos aos tratamentos A_2 e A_3 quando comparados a B_2 e B_3 , respectivamente.

A diminuição da atividade de água durante a maturação do queijo ocorre devido à redução do teor de umidade decorrente da desidratação do queijo, ao teor de sal no queijo e, à hidrólise de proteínas (em peptídeos e aminoácidos) e triacilgliceróis (em glicerol e ácidos graxos). A hidrólise de cada ligação peptídica e éster requer uma molécula de água, reduzindo dessa maneira, o teor de água livre (A_w) no queijo (COGAN, 2000).

Os valores encontrados para a A_w dos queijos submetidos às subdivisões dos tratamentos A e B foram menores que aos encontrados por Furtado (2008), que variaram de 0,981 a 0,984. Isso pôde ser decorrente do fato de que o fermento empregado na fabricação dos queijos Reino desse experimento possui alta dose de *L. helveticus*, que é altamente proteolítico (FOX et al, 2000; FURTADO, 2011) e, conseqüentemente, reduziu mais a A_w .

5.2.1.3 Umidade

O coeficiente de variação (CV) referente ao % (m/m) de umidade foi igual a 0,91%, o que indicou que o mesmo se apresentou como uma variável estável ao longo do tempo, por ter variado muito pouco no período estudado (FONSECA & MARTINS, 1996).

A análise de variância (ANAVA) indicou que os fatores A, B e C foram estatisticamente significativos ($p=0,014$, $p=0,000$ e $p=0,000$, respectivamente) demonstrando que a aplicação dos tratamentos A e B, suas subdivisões e o tempo de estocagem dos queijos Reino, provocaram alterações no teor de umidade, independentemente dos outros fatores.

A tabela de comparação de médias referente ao % (m/m) de umidade dos queijos submetidos aos seis tratamentos está apresentada na Tabela 21.

TABELA 21. Resultados médios de teor % de umidade (m/m) dos queijos Reino subdivididos nos tratamentos A₁, A₂, A₃, B₁, B₂ e B₃, nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação. Médias das três repetições.

Tempos (em dias após a fabricação)	Tratamento A		
	A ₁	A ₂	A ₃
66	33,17 ^{aA}	33,01 ^{aA}	32,41 ^{aA}
96	32,93 ^{aA}	32,87 ^{aA}	32,77 ^{aA}
126	32,92 ^{aA}	32,51 ^{aA}	31,84 ^{aA}
156	33,01 ^{aA}	32,21 ^{aA}	31,40 ^{aA}
	Tratamento B		
	B ₁	B ₂	B ₃
66	35,60 ^{aA}	36,11 ^{aA}	36,55 ^{aA}
96	36,22 ^{aA}	35,96 ^{aA}	35,47 ^{aA}
126	36,35 ^{aA}	35,69 ^{aA}	33,06 ^{bB}
156	36,40 ^{aA}	34,63 ^{bA}	31,17 ^{cC}

Letras iguais indicam valores semelhantes pelo Teste de *Student Newman-Keuls (SNK)* em nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas devem ser consideradas entre as linhas de um mesmo tratamento e, minúsculas entre as colunas de cada tempo.

Percebeu-se que o teor de umidade dos queijos submetidos às subdivisões do tratamento B variou ao longo do tempo. Essa diferença em B₃ deveu-se à intensa desidratação.

Nos queijos submetidos às subdivisões dos tratamentos A e B houve interação entre os fatores B e C sobre a variação do % (m/m) de umidade, uma vez que houve variação do mesmo ao longo do tempo de estocagem e, elas ocorreram de forma distinta entre os tratamentos. Com base nos resultados encontrados para os tratamentos A e B, concluiu-se que existiu uma tríplice interação fator A x fator B x fator C, pois o comportamento do % (m/m) de umidade dos queijos foi dependente dos três fatores.

O nível de umidade diminui durante maturação, uma vez que, ocorreu proteólise significativa no queijo (COGAN, 2000). Os queijos submetidos às subdivisões do tratamento A apresentaram menores valores de teor de umidade ao longo do tempo, quando comparados com aqueles submetidos às do tratamento B, dentro de um mesmo nível do fator B (A₁ versus B₁, A₂ versus B₂ e A₃ versus B₃). Isso pôde ser resultante da aplicação dos tratamentos A e B na fase 1 do experimento, uma vez que os queijos submetidos ao tratamento A sofreram maior perda de umidade naquela fase devido à proteólise mais intensa e, dessa maneira, os teores de umidade continuaram menores na fase 2.

De maneira geral, os teores de umidade dos queijos Reino submetidos a todas as seis condições em questão estavam de acordo com Furtado (2007) e Furtado (2008), que variaram entre 33,72 e 40% (m/m). Esses resultados corroboraram para classificar o queijo Reino como sendo de baixa umidade segundo o RTIQQ (BRASIL, 1996). Esse último ainda observou que os queijos Reino tradicionais apresentaram menores valores de teor de umidade (32,12 a 33,67 % m/m).

5.2.1.4 Relação % $NS_{pH4,6}/NT$

As variações no teor de $NS_{pH4,6}$ são devidos às diferenças do teor de umidade, temperatura e pH, extensão da maturação, temperatura de cozimento e pH de drenagem; peptídeos são produzidos principalmente pela ação da quimosina e em menor extensão pela plasmina (FOX; McSWEENEY, 1996).

A determinação das relações % $NS_{pH4,6}/NT$ e % $NS_{TCA\ 12\%}/NT$, são de grande importância, pois permitem conhecer a atividade proteolítica do coagulante e do fermento, e, o momento mais adequado para comercializar o queijo (FURTADO, 2008). Estas constituem os denominados índices de proteólise, extensão e profundidade respectivamente, elementos de grande importância para o desenvolvimento das características sensoriais de queijos (FURTADO, 2008; UPADHYAY et al, 2004).

O coeficiente de variação (CV) referente à relação % $NS_{pH4,6}/NT$ foi igual a 4,47%, o que indicou que apesar da mesma se tratar de uma variável pouco estável ao longo do tempo, a técnica experimental conseguiu reduzir a variabilidade dos dados por meio do delineamento adequado.

A análise de variância (ANAVA) indicou que o fator A não foi estatisticamente significativo ($p=0,370$) para provocar variação dessa relação nos queijos submetidos aos tratamentos A e B, independentemente dos outros fatores. Os fatores B e C foram estatisticamente significativos ($p=0,000$ e $p=0,000$). Isso demonstrou que a aplicação das subdivisões dos tratamentos A e B aos queijos Reino e o tempo de estocagem provocaram variação estatisticamente significativa da relação % $NS_{pH4,6}/NT$, independentemente dos outros fatores.

A tabela de comparação de médias e as médias referentes à relação % $NS_{pH4,6}/NT$ dos queijos submetidos aos seis tratamentos está apresentada na Tabela 22 e na Figura 21.

TABELA 22. Resultados médios da relação % $NS_{pH4,6}/NT$ dos queijos Reino subdivididos nos tratamentos A₁, A₂, A₃, B₁, B₂ e B₃, nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação. Média das três repetições.

Tempos (em dias após a fabricação)	Tratamento A		
	A ₁	A ₂	A ₃
66	17,47 ^{cB}	21,21 ^{bD}	27,42 ^{aC}
96	20,16 ^{cA}	24,25 ^{bC}	32,05 ^{aB}
126	21,23 ^{cA}	31,20 ^{bB}	34,76 ^{aA}
156	19,97 ^{bA}	33,78 ^{aA}	34,92 ^{aA}
	Tratamento B		
	B ₁	B ₂	B ₃
66	14,04 ^{cB}	19,96 ^{bC}	30,18 ^{aB}
96	17,64 ^{cA}	26,88 ^{bB}	36,08 ^{aA}
126	19,09 ^{cA}	33,45 ^{bA}	37,33 ^{aA}
156	19,21 ^{bA}	35,06 ^{aA}	35,85 ^{aA}

Letras iguais indicam valores semelhantes pelo Teste de *Student Newman-Keuls (SNK)* em nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas devem ser consideradas entre as linhas de um mesmo tratamento e, minúsculas entre as colunas de cada tempo.

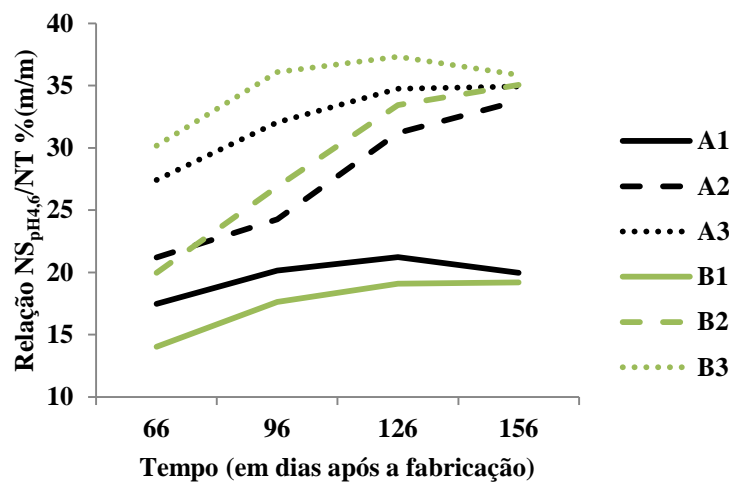


FIGURA 21. Comportamento das médias da relação % $NS_{pH4,6}/NT$ dos queijos Reino ao longo da estocagem.

Percebeu-se que às subdivisões dos tratamentos influenciou a relação % $NS_{pH4,6}/NT$ dos queijos ao longo do tempo. Esta diferença se deu até 126 dias, não sendo verificada aos 156 dias após a fabricação entre os tratamentos A₂ e A₃, e, B₂ e B₃, e, ambos se diferiram daqueles submetidos aos tratamentos A₁ e B₁, respectivamente.

Esses resultados demonstraram que a temperatura de estocagem influenciou diretamente o processo de maturação dos queijos, sendo que quanto maior, mais acelerado este se tornou, e consequentemente maior a relação % $NS_{pH4,6}/NT$. A temperatura de

estocagem dos queijos dos tratamentos A_1 e B_1 refletiu em menor proteólise, enquanto a de A_3 e B_3 , em maior. Observou-se que nos tratamentos A_2 e B_2 a extensão aumentou de forma gradual com o passar do tempo, até se igualar à observada naqueles submetidos aos A_3 e B_3 , respectivamente.

A temperatura é um fator importante durante a modificação dos processos bioquímicos e físicos que ocorrem no processo de maturação. Temperaturas elevadas aceleram a proteólise, reduzem o tempo de maturação, alteram a atividade proteolítica das enzimas e o perfil de peptídeos formados. Em condições de refrigeração, a velocidade das reações é menor e, portanto, o processo de maturação é mais lento (FOX et al, 2000; LABORDA; RUBIOLO, 1999; McSWEENEY, 2004a e 2004b; VERDINI; RUBIOLO, 2002).

Nos queijos submetidos às subdivisões dos tratamentos A e B houve interação entre os fatores B e C, variando a extensão ao longo da estocagem e, elas correram de forma distinta entre os tratamentos. Existiu uma tríplice interação fator A x fator B x fator C, pois o comportamento da relação $\% NS_{pH4,6}/NT$ dos queijos foi dependente dos três fatores.

Os valores encontrados por Furtado (2008) para a relação $\% NS_{pH4,6}/NT$ de queijos Reino com 60 dias de maturação variaram entre 21,76% e 23,99%. Aos 66 dias após a fabricação, os queijos dos tratamentos A_2 e B_2 apresentaram valores semelhantes aos encontrados por esse autor, enquanto aqueles dos tratamentos A_1 e B_1 , foram inferiores, e, A_3 e B_3 , superiores. Esta variação observada se deve à temperatura de estocagem pelas quais cada tratamento passou.

Os queijos dos tratamentos A_2 e B_2 , estocados entre 18-22° C, se assemelharam aos de Furtado (2008), cuja temperatura registrada foi 19° C. Os queijos dos tratamentos A_1 e B_1 , estocados à temperatura de 5-10° C, tiveram o processo de proteólise retardado, entretanto, os de A_3 e B_3 , submetidos entre 28° C e 33° C, tiveram a extensão acelerada.

5.2.1.5 Relação $\% NS_{TCA12\%}/NT$

A relação $\% NS_{TCA12\%}/NT$ é influenciada principalmente pela atividade das endo e exoenzimas da cultura láctica empregada na fabricação de um queijo, e de possíveis contaminantes, que degradam os peptídeos de alta massa molecular a peptídeos de baixa massa molecular; ou seja, está relacionada com as fases posteriores da proteólise denominada profundidade (WOLFSCHOON-POMBO; LIMA, 1989).

No queijo Reino, o *Lactobacillus helveticus* se apresenta ativo desde a primeira fase da maturação, e gera aminoácidos de forma persistente no queijo, em função do seu eficiente sistema proteolítico e peptidolítico. Com o decorrer da maturação exo e endoenzimas de outros micro-organismos também prosseguem com a degradação de peptídeos de baixa massa molecular, liberando aminoácidos que pouco a pouco sofrem outras transformações, o que resulta no *flavour* tradicional do queijo (FURTADO, 2011).

O coeficiente de variação (CV) referente à relação % $NS_{TCA12\%}/NT$ foi igual a 6,86%, o que indicou que apesar da mesma se tratar de uma variável pouco estável ao longo do tempo, a técnica experimental conseguiu reduzir a variabilidade dos dados por meio do delineamento adequado ao experimento em questão.

A análise de variância (ANAVA) indicou que o fator A não foi estatisticamente significativo ($p=1,000$), independentemente dos outros fatores. O fator B foi estatisticamente significativo ($p=0,000$) o que indicou que a aplicação das subdivisões dos tratamentos A e B provocou variação na relação % $NS_{TCA12\%}/NT$, independentemente dos outros fatores. O fator C também foi estatisticamente significativo ($p=0,000$), o que indicou que o tempo de estocagem provocou variação na profundidade, independentemente dos outros fatores.

A tabela de comparação de médias e as médias referentes à relação % $NS_{TCA12\%}/NT$ dos queijos submetidos aos seis tratamentos está apresentada na Tabela 23 e na Figura 22.

TABELA 23. Resultado médio da relação % $NS_{TCA12\%}/NT$ nos queijos Reino subdivididos nos tratamentos A₁, A₂, A₃, B₁, B₂ e B₃, nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação. Média das três repetições.

Tempos (em dias após a fabricação)	Tratamento A		
	A ₁	A ₂	A ₃
66	11,68 ^{cA}	15,10 ^{bC}	21,58 ^{aC}
96	12,86 ^{cA}	17,00 ^{bC}	25,99 ^{aB}
126	14,41 ^{cA}	24,46 ^{bB}	28,99 ^{aA}
156	14,37 ^{bA}	27,55 ^{aA}	29,65 ^{aA}
	Tratamento B		
	B ₁	B ₂	B ₃
66	8,22 ^{cB}	12,47 ^{bD}	22,36 ^{aC}
96	10,61 ^{cA}	18,15 ^{bC}	28,71 ^{aB}
126	12,29 ^{cA}	25,53 ^{bB}	32,15 ^{aA}
156	12,77 ^{cA}	28,43 ^{bA}	31,95 ^{aA}

Letras iguais indicam valores semelhantes pelo Teste de *Student Newman-Keuls (SNK)* em nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas devem ser consideradas entre as linhas de um mesmo tratamento e, minúsculas entre as colunas de cada tempo.

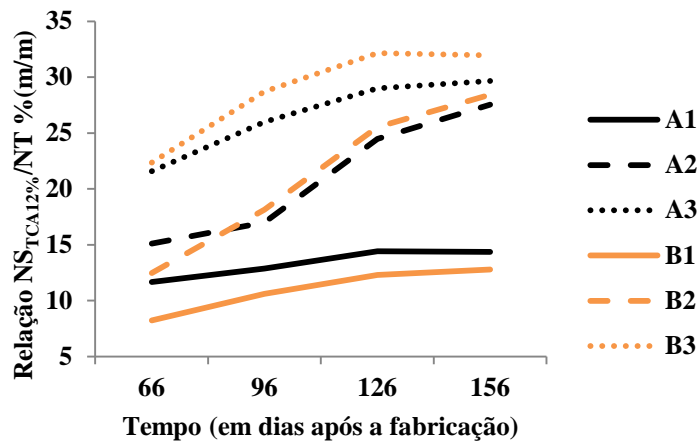


FIGURA 22. Comportamento médio de cada tratamento quanto à % $NS_{TCA12\%}/NT$ dos queijos Reino durante estocagem.

A partir da análise da Tabela 23 percebeu-se que a relação % $NS_{TCA12\%}/NT$ dos queijos submetidos às subdivisões do tratamento A e do B sofreu variação estatisticamente significativa ao longo do tempo, exceto a do tratamento A_1 . Houve diferença estatisticamente significativa entre a relação % $NS_{TCA12\%}/NT$ dos queijos submetidos às subdivisões do tratamento A, até o tempo 126 dias após a fabricação. No tempo 156 dias após a fabricação, não houve diferença estatisticamente significativa entre a relação % $NS_{TCA12\%}/NT$ dos queijos submetidos aos tratamentos A_2 e A_3 e, ambos se diferiram estatisticamente daqueles submetidos ao tratamento A_1 . Houve diferença estatisticamente significativa entre a relação % $NS_{TCA12\%}/NT$ dos queijos submetidos às subdivisões do tratamento B, em todos os tempos analisados.

Nos queijos submetidos às subdivisões dos tratamentos A e B houve interação entre os fatores B e C sobre a variação relação % $NS_{TCA12\%}/NT$, uma vez que houve variação da mesma ao longo do tempo de estocagem e, elas ocorreram de forma distinta entre os tratamentos. Com base nos resultados encontrados para os tratamentos A e B, concluiu-se que existiu uma tríplice interação fator A x fator B x fator C, pois o comportamento da relação % $NS_{TCA12\%}/NT$ dos queijos foi dependente dos três fatores.

Os valores encontrados por Furtado (2008) para a relação % $NS_{TCA12\%}/NT$ dos queijos Reino com 60 dias de maturação variaram entre 11,38 e 12,21 % (m/m). No tempo 66 dias após a fabricação, os queijos submetidos aos tratamentos A_1 e B_1 apresentaram valores semelhantes aos encontrados por esse autor, enquanto aqueles submetidos aos tratamentos A_2 , B_2 , A_3 e B_3 , apresentaram-se superiores. Isso pôde ser decorrente do fato de que o fermento empregado na fabricação dos queijos Reino desse experimento possui alta dose de *L. helveticus*, que é altamente proteolítico (FOX et al, 2000; FURTADO, 2011) e,

consequentemente levou ao aumento da profundidade de proteólise.

A variação observada entre a relação % $NS_{TCA12\%}/NT$ dos queijos Reino analisados, se deveu à temperatura de estocagem de cada tratamento. Os queijos submetidos aos Tratamentos A₂, B₂, A₃ e B₃, foram estocados às temperaturas de 18-22 e 28-33° C, o que acelerou o processo de proteólise desses queijos (FOX et al, 2000; LABORDA; RUBIOLO, 1999; McSWEENEY, 2004a e 2004b; VERDINI; RUBIOLO, 2002).

5.2.1.6 Composição centesimal do queijo Reino no tempo 156 dias após a fabricação

A composição centesimal dos queijos Reino analisados no tempo 156 dias após a fabricação está apresentada na Tabela 24:

TABELA 24. Composição centesimal do queijo Reino no tempo 156 dias após a fabricação. Média das três repetições.

		NaCl	Gordura	Umidade	Ptn Total*	RMF*	GES*	NaCl/U*
		% m/m	% m/m	% m/m	% m/m	% m/m	% m/m	% m/m
Tratamento A	A ₁	1,67 ^A	35,37 ^A	33,01 ^A	26,47 ^A	4,36 ^A	49,81 ^A	4,81 ^A
	A ₂	1,48 ^A	35,25 ^A	32,21 ^A	27,16 ^A	4,19 ^A	52,00 ^A	4,43 ^A
	A ₃	1,51 ^A	31,88 ^B	31,40 ^A	28,91 ^A	4,45 ^A	46,47 ^B	4,59 ^A
Tratamento B	B ₁	1,51 ^A	34,75 ^A	36,40 ^A	25,15 ^A	4,01 ^A	54,64 ^A	3,98 ^A
	B ₂	1,42 ^A	33,50 ^A	34,63 ^B	25,89 ^A	4,12 ^A	51,25 ^B	3,94 ^A
	B ₃	1,26 ^A	36,75 ^A	31,17 ^C	26,78 ^A	3,98 ^A	53,40 ^A	3,89 ^A

*Ptn= proteína, RMF = resíduo mineral fixo, GES = gordura no extrato seco, NaCl/U=sal na umidade do queijo. Letras maiúsculas iguais correspondem a médias semelhantes entre as linhas de uma mesma análise conforme *Teste de SNK*, em nível de 5% de probabilidade.

A partir da análise da Tabela 24 pôde-se verificar que não houve efeito de tratamento sobre os teores % (m/m) de NaCl, proteína total, RMF e NaCl/U dos queijos submetidos às subdivisões dos tratamentos A e B.

O teor de sal na umidade em queijo é determinado como a relação percentual dos teores de NaCl e de NaCl mais a água (umidade da amostra). Serve para padronizar o teor de NaCl em queijos, uma vez que este se encontra solúvel na água do mesmo, afetando diretamente a proteólise (MINUSSI, 1994). O teor % (m/m) de NaCl/U tem importante

influência sobre o índice de maturação dos queijos, sendo que quanto maior, menos intenso esse se torna (UPADHYA et al, 2004).

O tratamento A₃ apresentou menor teor % (m/m) de gordura e de GES que os A₁ e A₂ em função da intensa exsudação desse componente associada à manutenção do % (m/m) de umidade, ao longo do tempo. O tratamento B₂ apresentou menor teor % (m/m) de GES em relação aos B₁ e B₃.

O tratamento B₃, apesar de ter sofrido exsudação de gordura, teve uma redução estatisticamente significativa do teor % (m/m) de umidade ao longo do tempo analisado, o que pôde justificar a concentração daquele componente no queijo e o teor % (m/m) de GES maior que o do A₃.

Os teores % (m/m) de GES e umidade influenciam diretamente a textura do queijo, sendo que quanto maiores, mais macia será (FOX et al, 2000). Os valores encontrados por Furtado (2008) demonstraram que esses teores variaram respectivamente entre 49,43 e 51,05%, e, 32,12 e 33,67% para os queijos Reinos analisados 60 dias após a fabricação. Os resultados desse experimento apresentaram valores semelhantes, confirmando a classificação desse queijo como gordo e de baixa umidade, segundo as especificações do RTIQQ (BRASIL,1996).

5.2.2 Análise sensorial do queijo Reino nos tempos 66, 96, 126 e 156 após a fabricação

Todos os provadores que participaram do treinamento para a análise sensorial do queijo Reino mostraram-se aptos a participar da mesma. Desta forma, a equipe foi constituída de nove provadores treinados, todos do ILCT EPAMIG.

Quanto ao desenvolvimento da terminologia descritiva, percebeu-se a similaridade entre nove termos mencionados pelos provadores: aspecto global (casca), cor interna, consistência, textura, massa, odor típico, gosto salgado, sabor típico, sabor residual. Estes termos descritivos compuseram a ficha empregada na Análise Descritiva Quantitativa Modificada (ADQM) do queijo Reino. A ficha de ADQM e as definições dos termos descritivos estão apresentadas na Figura 23 e na Tabela 25, respectivamente.

PERFIL SENSORIAL POR ADQM (ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA MODIFICADA)

Código da amostra: _____

Nome: _____ Data: _____

Analise cada amostra e preencha as repostas na seqüência em que aparecerem na sua ficha, fazendo um traço vertical na posição (ponto) que melhor reflita seu julgamento. Prove quantidade suficiente de amostra e disponha do tempo necessário para avaliar as características. Por favor, enxágüe a boca entre as avaliações de cada amostra.

CARACTERÍSTICAS

ASPECTO GLOBAL (casca)

_____/_____
 Atípico Típico

COR INTERNA

_____/_____
 Amarelo claro (Mimas Padrão) Alaranjado (Cheddar)

CONSISTÊNCIA (apertar o queijo)

_____/_____
 Macia (Saint- Paulin) Dura (Parmesão)

TEXTURA

_____/_____
 Aberta Fechada

MASSA

_____/_____
 Flexível (Prato) Quebradiça (Parmesão)

ODOR TÍPICO

_____/_____
 Ausente Muito pronunciado

GOSTO SALGADO

_____/_____
 Ausente Muito pronunciado (Gorgomola)

SABOR TÍPICO

_____/_____
 Suave (Prato) Picante (Parmesão)

SABOR RESIDUAL (característico de queijo maturado)

_____/_____
 Ausente Muito pronunciado

FIGURA 23. Ficha de ADQM desenvolvida pelos provadores que compuseram a equipe de análise de ADQM para o queijo Reino.

TABELA 25. Lista dos termos descritivos definidos pelos provadores e respectivas referências para o queijo Reino.

Atributo	Definição	Referências (extremos da escala de intensidade)
Aspecto global(casca)	Aparência externa do produto intacto.	Típico: coloração da casca uniforme, sem manchas e sem depressões (“rugas”). Atípico: coloração da casca desuniforme, com manchas e depressões (“rugas”).
Cor interna	Cor alaranjada, tendendo à coloração do queijo <i>Cheddar</i>.	Amarelo palha: queijo Minas Padrão. Amaranjado: queijo <i>Cheddar</i>.
Consistência	Deformação percebida ao apertar o queijo com a mão, segurando-o nas extremidades do seu raio.	Macia: queijo <i>Saint Paulin</i>. Dura: queijo Parmesão.
Massa	Presença de olhaduras e/ou trincas na massa do queijo.	Aberta: Presença de olhaduras numerosas e/ou grandes; trincas internas. Fechada: ausência de olhaduras.
Textura	Relativo à flexibilidade da massa.	Flexível: queijo Prato. Quebradiça: queijo Parmesão.
Odor típico	Odor característico de queijos contendo fermento propiônico e aromático.	Ausente: ausência de odor. Muito pronunciado: excesso de odor.
Gosto salgado	Sensação do gosto provocado pelo sal.	Ausente: queijo Frescal (1,2% sal). Muito pronunciado: queijo gorgonzola (3,5% de sal).
Sabor típico	Sabor característico de queijo Reino.	Suave: queijo Prato. Picante: queijo Parmesão.
Sabor residual	Sabor característico de queijo maturado.	Ausente: nenhum. Muito pronunciado: excesso de sabor residual.

5.2.2.1 Aspecto Global (casca)

O aspecto global foi o primeiro termo descritivo avaliado pelos provadores antes de partir os queijos Reino.

O coeficiente de variação (CV) referente ao aspecto global foi igual a 19,11%, o que indicou que o mesmo se apresentou como uma variável instável ao longo do tempo, por ter variado no período estudado (FONSECA & MARTINS, 1996).

A análise de variância (ANAVA) indicou que o fator A não foi estatisticamente significativo ($p=0,541$), independentemente dos outros fatores. Os fatores B e C foram estatisticamente significativos ($p=0,000$ e $p=0,000$, respectivamente). Isso demonstrou que

tanto a aplicação das subdivisões dos tratamentos, quanto o tempo de estocagem dos queijos Reino provocaram variações estatisticamente significativas do aspecto global, independentemente dos outros fatores.

A tabela de comparação de médias referente ao aspecto global dos queijos submetidos aos seis tratamentos está apresentada na Tabela 26.

TABELA 26. Resultado médio para aspecto global dos queijos Reino subdivididos nos tratamentos A₁, A₂, A₃, B₁, B₂ e B₃, nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação, na ADQM. Média das três repetições.

Tempos (em dias após a fabricação)	Tratamento A		
	A ₁	A ₂	A ₃
66	11,94 ^{aA}	12,72 ^{aA}	11,80 ^{aA}
96	13,02 ^{aA}	11,92 ^{aA}	9,85 ^{bB}
126	12,72 ^{aA}	12,34 ^{aA}	7,71 ^{bC}
156	13,35 ^{aA}	10,60 ^{bB}	6,44 ^{cD}
	Tratamento B		
	B ₁	B ₂	B ₃
66	12,01 ^{aAB}	10,81 ^{aAB}	8,95 ^{bA}
96	11,44 ^{aB}	11,52 ^{aA}	6,73 ^{bB}
126	12,87 ^{aA}	10,61 ^{bAB}	7,31 ^{bC}
156	13,28 ^{aA}	9,95 ^{bB}	6,09 ^{bC}

Letras iguais indicam valores semelhantes pelo Teste de *Student Newman-Keuls (SNK)* em nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas devem ser consideradas entre as linhas de um mesmo tratamento e, minúsculas entre as colunas de cada tempo.

Por meio da análise da Tabela 26 foi possível inferir que, entre os tempos de cada subdivisão do tratamento A, os A₃ e A₂ apresentaram redução das notas atribuídas ao aspecto global dos queijos com o passar do tempo. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos A₁, A₂ e A₃, no tempo 66 dias após a fabricação. Nos tempos 96 e 126 dias após a fabricação, os tratamentos A₁ e A₂ se diferenciaram estatisticamente do A₃. E, no tempo 156 dias após a fabricação, houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos A₁, A₂ e A₃.

Entre os tempos de cada subdivisão do tratamento B, os B₂ e B₃ apresentaram redução das notas atribuídas ao aspecto global dos queijos com o passar do tempo. Nos tempos 66 e 96 dias após a fabricação, os tratamentos B₁ e B₂ se diferenciaram estatisticamente do B₃. E, nos tempos 126 e 156 dias após a fabricação, houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos B₁, B₂ e B₃.

Nos queijos submetidos às subdivisões dos tratamentos A e B existiu interação entre os fatores B e C sobre a variação do aspecto global, uma vez que houve variação do mesmo ao longo do tempo de estocagem e, elas ocorreram de forma distinta entre os tratamentos. No entanto, apesar da ANAVA ter demonstrado que o fator A isoladamente não teve efeito estatisticamente significativo sobre o comportamento do aspecto global dos queijos, os resultados para os tratamentos A e B foram distintos no que diz respeito à interação fator B x fator C. Existiu uma tríplice interação fator A x fator B x fator C, pois o comportamento do aspecto global dos queijos foi dependente dos três fatores. As diferenças entre os tratamentos 1, 2 e 3 se exacerbam com o aumento do tempo de estocagem e sob o efeito do fator A.

Os tratamentos A₁, A₂ e B₁ apresentaram as maiores notas, o que os caracterizou como os mais típicos, uma vez que ficaram mais próximos do extremo direito da escala do atributo aspecto global.

Os tratamentos A₃ e B₃ foram inferiores aos demais. A presença de cristais de lactato de cálcio (CLC), associada à forte exsudação de gordura e à separação do soro do queijo, contribuiu para estes resultados.

A presença de CLC também justifica a redução das notas dos tratamentos A₂ e B₂, no tempo 156 dias após a fabricação, uma vez que nesse tempo foi verificada a presença dos mesmos.

Os tratamentos A₂ e B₂, e, A₃ e B₃ foram maturados à temperaturas de 18-22 e 28-33°C, respectivamente, o que favoreceu o aparecimento dos CLC. É comum a formação de cristais de lactato de cálcio neste tipo de queijo, quando maturado à temperatura ambiente. Apesar de não se tratar de uma contaminação, é um defeito que descaracteriza o produto e acaba tornando-o impróprio para a comercialização (AGARWAL et al, 2006a, 2006b, 2008; RAJBHANDARI, KINDSTEDT, 2008).

5.2.2.2 *Cor interna*

Segundo Furtado (2007) e Furtado (2008) é considerado ideal para esses tipos de queijo valores próximos ao extremo direito da escala (alaranjado – Cheddar), visto que tradicionalmente emprega-se o corante de urucum na fabricação desse produto.

O coeficiente de variação (CV) referente à cor interna foi igual a 16,62%, o que demonstrou que o mesmo se apresentou como uma variável instável ao longo do tempo, por ter variado no período estudado (FONSECA & MARTINS, 1996).

A análise de variância (ANAVA) indicou que o fator A não foi estatisticamente significativo ($p=0,266$) e não provocou variação estatisticamente significativa da cor interna, independentemente dos outros fatores. Já os fator B e C foram estatisticamente significativos ($p=0,000$ e $p=0,000$), demonstrando que a aplicação das subdivisões dos tratamentos e o tempo de estocagem dos queijos Reino provocaram alteração da cor interna, independentemente dos outros fatores.

A tabela de comparação de médias referente à cor interna dos queijos submetidos aos seis tratamentos está apresentada na Tabela 27.

TABELA 27. Resultado médio para cor interna dos queijos Reino subdivididos nos tratamentos A₁, A₂, A₃, B₁, B₂ e B₃, nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação, na ADQM. Média das três repetições.

Tempos (em dias após a fabricação)	Tratamento A		
	A ₁	A ₂	A ₃
66	11,65 ^{aA}	10,56 ^{bA}	9,65 ^{cA}
96	11,91 ^{aA}	10,41 ^{bA}	9,01 ^{cA}
126	12,06 ^{aA}	9,96 ^{bA}	9,39 ^{bA}
156	12,65 ^{aA}	10,79 ^{bA}	9,87 ^{cA}
	Tratamento B		
	B ₁	B ₂	B ₃
66	10,61 ^{aB}	10,84 ^{aA}	8,95 ^{bAB}
96	11,48 ^{aAB}	10,66 ^{aA}	8,26 ^{bB}
126	12,02 ^{aA}	9,53 ^{bAB}	8,09 ^{cB}
156	12,56 ^{aA}	9,98 ^{bB}	9,83 ^{bA}

Letras iguais indicam valores semelhantes pelo Teste de *Student Newman-Keuls (SNK)* em nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas devem ser consideradas entre as linhas de um mesmo tratamento e, minúsculas entre as colunas de cada tempo.

Por meio da análise da Tabela 27 foi possível inferir que, não houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos de cada subdivisão do tratamento A. Houve diferença estatisticamente significativa entre as subdivisões do tratamento A, nos tempos 66, 96 e 156 dias após a fabricação.

As cores internas dos queijos submetidos às subdivisões do tratamento B diferiram com o passar do tempo. Nos tempos 66 e 96 dias após a fabricação, os tratamentos B₁ e B₂ se diferenciaram estatisticamente do B₃. No tempo 126 dias após a fabricação, houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos B₁, B₂ e B₃. E, no tempo 156 dias após a fabricação, os tratamentos B₂ e B₃ se diferenciaram estatisticamente do B₁.

Nos queijos submetidos às subdivisões dos tratamentos A e B existiu interação entre os fatores B e C sobre a variação da cor interna, uma vez que houve variação da mesma ao longo do tempo de estocagem e, elas ocorreram de forma distinta entre as subdivisões desses tratamentos. No entanto, apesar da ANAVA ter demonstrado que o fator A isoladamente não teve efeito estatisticamente significativo sobre o comportamento da cor interna dos queijos, os resultados para os tratamentos A e B foram distintos no que diz respeito à interação fator B x fator C. Assim, percebeu-se que existiu uma tríplice interação fator A x fator B x fator C, pois o comportamento da cor interna dos queijos foi dependente dos três fatores.

Os tratamentos A₁ e B₁ apresentaram as maiores notas, caracterizando-os como os mais típicos queijos Reino. Os tratamentos A₂ e B₂ apresentaram coloração intermediária A₁ e B₁, e, A₃ e B₃. E, finalmente, os tratamentos A₃ e B₃ apresentaram a coloração menos intensa.

A diminuição das notas atribuídas a essa variável observada pôde ser justificada em função da perda de umidade e gordura ocorrida nos tratamentos A₂, A₃, B₂ e B₃ ao longo do tempo, que levou ao ressecamento e à redução do brilho da massa, e assim, à redução aparente da cor interna dos queijos.

5.2.2.3 *Consistência*

Considera-se ideal para o queijo Reino valores próximos ao extremo direito da escala (dura – Parmesão), visto que tradicionalmente apresenta consistência semi-dura (FURTADO; 2007 e FURTADO; 2008).

O coeficiente de variação (CV) referente à nota atribuída à consistência do queijo Reino a foi igual a 18,04%, o que indicou que a mesma se apresentou como uma variável instável ao longo do tempo, por ter variado no período estudado (FONSECA & MARTINS, 1996).

A análise de variância (ANAVA) indicou que o fator A foi estatisticamente significativo ($p=0,006$). Isso demonstrou que a aplicação dos tratamentos A e B nos queijos Reino provocou variação estatisticamente significativa da consistência, independentemente dos outros fatores.

Os fatores B e C também foram estatisticamente significativos ($p=0,000$ e $p=0,000$). Isso demonstrou que as subdivisões dos tratamentos e o tempo de estocagem provocaram variação na consistência dos queijos Reino, independentemente dos outros fatores.

A tabela de comparação das médias de consistência atribuídas aos queijos dos seis tratamentos está apresentada na Tabela 28.

TABELA 28. Resultado médio para consistência dos queijos Reino subdivididos nos tratamentos A₁, A₂, A₃, B₁, B₂ e B₃, nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação, na ADQM. Média das três repetições.

Tempos (em dias após a fabricação)	Tratamento A		
	A ₁	A ₂	A ₃
66	10,22 ^{aA}	10,71 ^{aA}	11,07 ^{aA}
96	9,50 ^{bAB}	10,36 ^{bA}	12,19 ^{aA}
126	8,89 ^{cBC}	11,29 ^{bA}	12,26 ^{aA}
156	8,09 ^{bC}	10,86 ^{bA}	12,19 ^{aA}
	Tratamento B		
	B ₁	B ₂	B ₃
66	7,60 ^{bA}	7,62 ^{bB}	9,36 ^{aB}
96	6,61 ^{bA}	7,34 ^{bB}	11,26 ^{aA}
126	6,76 ^{cA}	9,62 ^{bA}	12,00 ^{aA}
156	7,52 ^{cA}	10,43 ^{bA}	12,25 ^{aA}

Letras iguais indicam valores semelhantes pelo Teste de *Student Newman-Keuls (SNK)* em nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas devem ser consideradas entre as linhas de um mesmo tratamento e, minúsculas entre as colunas de cada tempo.

Por meio da análise da Tabela 28 foi possível inferir que, entre os tempos de cada subdivisão do tratamento A, apenas o A₁ apresentou redução das notas atribuídas à consistência dos queijos com o passar do tempo. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as subdivisões do tratamento A, no tempo 66 dias após a fabricação. Nos tempos 96 e 156 dias após a fabricação, A₁ e A₂ tiveram consistências diferentes de A₃. Aos 126 dias, as consistências diferiram nas subdivisões do tratamento A.

Entre os tempos de cada subdivisão do tratamento B, B₂ e B₃, apresentaram aumento das notas atribuídas à consistência dos queijos com o passar do tempo. Nos tempos 66 e 96 dias após a fabricação, os tratamentos B₁ e B₂ se diferenciaram de B₃. Nos tempos 126 e 156 dias as consistências diferiram nas subdivisões do tratamento B.

Nos queijos submetidos às subdivisões dos tratamentos A e B existiu interação entre os fatores B e C sobre a variação da consistência dos queijos, uma vez que houve variação da mesma ao longo do tempo de estocagem e, elas ocorreram de forma distinta entre as subdivisões desses tratamentos. No entanto, os resultados encontrados para os tratamentos A e B foram distintos no que diz respeito à interação fator B x fator C. Assim, existiu uma tríplice

interação fator A x fator B x fator C, pois o comportamento da consistência dos queijos foi dependente dos três fatores.

Os tratamentos A₂, A₃ e B₃ apresentaram-se com consistência mais dura, o que os caracterizou como os mais típicos. O tratamento B₁ foi o de consistência menos típica entre todos.

Os tratamentos A₃ e B₃ foram maturados à temperaturas entre 28-33°C, enquanto A₂, entre 18-22°C. A variação na consistência do queijo Reino ocorreu em função da temperatura de estocagem ao qual foram submetidos. A elevação da temperatura de maturação acelera as reações bioquímicas e aumenta a perda de umidade, influenciando diretamente na consistência, tornando-a mais dura à medida que a proteólise avança (FOX et al, 2000).

5.2.2.4 Massa

Furtado (2007) e Furtado (2008) consideram ideal para o queijo Reino, valores mais próximos ao extremo direito da escala, visto que tradicionalmente este queijo apresenta massa fechada, sem olhaduras.

O coeficiente de variação (CV) referente às notas atribuídas à massa do queijo Reino foi igual a 29,70%, o que indicou que a mesma se apresentou como uma variável instável ao longo do tempo, por ter variado no período estudado (FONSECA & MARTINS, 1996).

A análise de variância (ANAVA) indicou que o fator A não foi estatisticamente significativo ($p=0,162$), ou seja, a aplicação dos tratamentos A e B não provocaram variação na massa do queijo, independentemente dos outros fatores.

Os fatores B e C foram estatisticamente significativos ($p=0,000$ e $p=0,009$). Isso demonstrou que as subdivisões dos tratamentos provocaram variação na massa, assim como o tempo de estocagem, independentemente dos outros fatores.

A tabela de comparação de médias referente à massa dos queijos submetidos aos seis tratamentos está apresentada na Tabela 29.

Por meio da análise da Tabela 29 foi possível inferir que, entre os tempos de cada subdivisão do tratamento A, apenas o A₂ apresentou redução das notas atribuídas à massa dos queijos com o passar do tempo. Nos tempos 66 e 96 dias após a fabricação, os tratamentos A₁ e A₂ se diferenciaram estatisticamente do A₃. E, nos tempos 126 e 156 dias após a fabricação, houve diferença entre as subdivisões do tratamento A.

TABELA 29. Resultado médio para massa dos queijos Reino subdivididos nos tratamentos A₁, A₂, A₃, B₁, B₂ e B₃, nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação, na ADQM. Média das três repetições.

Tempos (em dias após a fabricação)	Tratamento A		
	A ₁	A ₂	A ₃
66	9,39 ^{aA}	9,22 ^{aA}	4,21 ^{bA}
96	7,85 ^{aB}	7,52 ^{aB}	4,94 ^{bA}
126	9,40 ^{aA}	7,78 ^{bB}	3,97 ^{cA}
156	9,53 ^{aA}	7,30 ^{bB}	3,57 ^{cA}
	Tratamento B		
	B ₁	B ₂	B ₃
66	9,12 ^{aB}	8,13 ^{aA}	4,08 ^{bA}
96	8,88 ^{aB}	8,43 ^{aA}	3,83 ^{bA}
126	11,02 ^{aA}	8,67 ^{bA}	3,85 ^{cA}
156	11,30 ^{aA}	8,07 ^{bA}	4,68 ^{cA}

Letras iguais indicam valores semelhantes pelo Teste de *Student Newman-Keuls (SNK)* em nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas devem ser consideradas entre as linhas de um mesmo tratamento e, minúsculas entre as colunas de cada tempo.

Entre os tempos de cada subdivisão do tratamento B, o B₁ apresentou aumento das notas atribuídas à massa dos queijos com o passar do tempo. Nos tempos 66 e 96 dias após a fabricação, B₁ e B₂ se diferenciaram de B₃. Nos tempos 126 e 156 dias após a fabricação, houve diferença estatisticamente significativa entre as subdivisões do tratamento B.

Nos queijos submetidos às subdivisões dos tratamentos A e B existiu interação entre os fatores B e C sobre a variação da massa dos queijos, uma vez que houve variação da mesma ao longo do tempo de estocagem e, elas ocorreram de forma distinta entre as subdivisões desses tratamentos. No entanto, os resultados encontrados para os tratamentos A e B foram distintos no que diz respeito à interação fator B x fator C. Assim, percebeu-se-se que existiu uma tríplice interação fator A x fator B x fator C, pois o comportamento da massa dos queijos foi dependente dos três fatores.

De maneira geral, as massas dos tratamentos A₁ e B₁ apresentaram as maiores notas, o que as caracterizou como mais típicas. Os tratamentos A₂ e B₁ sofreram respectivamente, a maior redução e o maior aumento nas notas atribuídas ao atributo em questão, enquanto, A₃ e B₃ foram os menos típicos entre todos.

Os resultados encontrados demonstraram que, com a elevação da temperatura de estocagem, os queijos submetidos aos tratamentos A₃ e B₃ sofreram intensa desidratação, o que levou à formação de trincas internas, abrindo a massa. Além disso, a elevação da

temperatura acelerou o processo de proteólise nesses queijos, o que pôde ter levado ao excesso de formação de olhaduras aromáticas e propiônicas devido à ação peptidolítica do fermento “LD” empregado na fabricação e das bactérias propiônicas, que apesar de não serem adicionadas como fermento láctico, podem atuar no processo de maturação desses queijos por fazerem parte da microbiota autóctone da região onde é fabricado (FURTADO, 2008 e 2011).

5.2.2.5 *Textura*

A textura de um queijo é composta pelos parâmetros de coesividade, fraturabilidade, dureza, mastigabilidade, dentre outros do ponto de vista reológico (FOX et al, 2000).

No caso da avaliação sensorial, é considerada textura ideal de queijo Reino, valores próximos ao extremo direito da escala, por se tratar de queijo semi-duro (FURTADO, 2007; FURTADO, 2008).

O coeficiente de variação (CV) referente às notas atribuídas à textura do queijo Reino foi igual a 19,08%, o que indicou que a mesma se apresentou como uma variável instável ao longo do tempo, por ter variado no período estudado (FONSECA & MARTINS, 1996).

A análise de variância (ANAVA) indicou que o fator A não foi estatisticamente significativo ($p=0,214$). Isso demonstrou que a aplicação dos tratamentos A e B nos queijos Reino não provocou variação na textura, independentemente dos outros fatores.

Os fatores B e C foram estatisticamente significativos ($p=0,000$ e $p=0,000$). Isso demonstrou que as subdivisões dos tratamentos A e B e o tempo de estocagem provocaram variações na textura, independentemente dos outros fatores.

A tabela das médias das texturas dos seis tratamentos está apresentada na Tabela 30.

Ao analisar a Tabela 30, foi possível inferir que houve diferença entre os tempos das subdivisões dos tratamentos A e do B, exceto para o A₃. E, também, houve diferença entre as subdivisões do tratamento A e do B.

Nos queijos submetidos às subdivisões do tratamento A e do B existiu interação entre os fatores B e C sobre a variação da textura dos queijos, uma vez que houve variação da mesma ao longo do tempo de estocagem e, elas ocorreram de forma distinta entre as subdivisões desses tratamentos. No entanto, os resultados encontrados para os tratamentos A e B foram distintos no que diz respeito à interação fator B x fator C. Assim, percebeu-se que existiu uma tríplice interação fator A x fator B x fator C, pois o comportamento da textura dos queijos foi dependente dos três fatores.

TABELA 30. Resultado médio para textura dos queijos Reino subdivididos nos tratamentos A₁, A₂, A₃, B₁, B₂ e B₃, nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação, na ADQM. Média das três repetições.

Tempos (em dias após a fabricação)	Tratamento A		
	A ₁	A ₂	A ₃
66	7,66 ^{cA}	9,13 ^{bB}	11,96 ^{aA}
96	7,35 ^{cA}	9,50 ^{bB}	12,49 ^{aA}
126	6,90 ^{cA}	10,63 ^{bA}	12,75 ^{aA}
156	5,41 ^{cB}	10,78 ^{bA}	12,37 ^{aA}
	Tratamento B		
	B ₁	B ₂	B ₃
66	5,93 ^{bA}	6,37 ^{bC}	10,19 ^{aC}
96	4,78 ^{cB}	6,36 ^{bC}	11,64 ^{aB}
126	4,35 ^{cB}	8,81 ^{bB}	12,91 ^{aA}
156	4,25 ^{cB}	10,07 ^{bA}	11,88 ^{aB}

Letras iguais indicam valores semelhantes pelo Teste de *Student Newman-Keuls (SNK)* em nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas devem ser consideradas entre as linhas de um mesmo tratamento e, minúsculas entre as colunas de cada tempo.

De maneira geral, a variação na textura dos queijos pôde ser atribuída ao fato de que à medida que o tempo avançou, esta se tornou mais quebradiça, devido às reações bioquímicas e à desidratação ocorridas. A textura do queijo é influenciada diretamente pelos teores % (m/m) de umidade e de gordura, e, pela temperatura de maturação (FOX et al, 2000). Quanto menores os teores de umidade e de gordura, e maior a temperatura de maturação, mais quebradiços serão os queijos (McSweenwy, 2007). Dessa maneira, os tratamentos A₃ e B₃ apresentaram-se mais quebradiços entre os tratamentos, e, os A₁ e B₁ os menos.

Queijos Reino fabricados com tecnologia tradicional apresentaram maiores valores de dureza, coesividade, fraturabilidade e mastigabilidade devido ao processo de maturação ser realizado à temperaturas mais elevadas, diminuindo os teores de gordura, proteína e umidade (FURTADO, 2008).

5.2.2.6 Odor típico

Tradicionalmente, o queijo Reino apresenta odor acentuado devido à proteólise e lipólise intensas (FURTADO, 2007 e FURTADO, 2008).

O coeficiente de variação (CV) referente às notas atribuídas ao odor típico do queijo Reino foi igual a 25,30%, o que indicou que o mesmo se apresentou como uma variável instável ao longo do tempo, por ter variado no período estudado (FONSECA & MARTINS, 1996).

A análise de variância (ANAVA) indicou que o fator A não foi estatisticamente significativo ($p=0,077$), ou seja, os tratamentos A e B nos queijos Reino não provocou alteração no odor típico destes, independentemente dos outros fatores.

Os fatores B e C foram estatisticamente significativos ($p=0,000$ e $p=0,006$). Isso demonstrou que as subdivisões dos tratamentos A e B e o tempo de estocagem provocaram variações no odor típico, independentemente dos outros fatores.

A tabela das médias referentes às notas atribuídas ao odor típico dos queijos submetidos aos seis tratamentos está apresentada na Tabela 31.

TABELA 31. Resultado médio para odor típico dos queijos Reino subdivididos nos tratamentos A₁, A₂, A₃, B₁, B₂ e B₃, nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação, na ADQM. Média das três repetições.

Tempos (em dias após a fabricação)	Tratamento A		
	A ₁	A ₂	A ₃
66	7,16 ^{cA}	8,49 ^{bB}	10,32 ^{aA}
96	7,21 ^{cA}	8,65 ^{bB}	10,30 ^{aA}
126	7,30 ^{cA}	9,53 ^{bAB}	10,77 ^{aA}
156	7,08 ^{bA}	10,07 ^{aA}	10,28 ^{aA}
Tratamento B			
	B ₁	B ₂	B ₃
66	6,61 ^{bA}	6,91 ^{bB}	10,15 ^{aA}
96	6,92 ^{bA}	7,15 ^{bB}	9,56 ^{aA}
126	6,03 ^{cA}	8,75 ^{bA}	10,71 ^{aA}
156	6,71 ^{bA}	9,23 ^{aA}	10,14 ^{aA}

Letras iguais indicam valores semelhantes pelo Teste de *Student Newman-Keuls* (SNK) em nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas devem ser consideradas entre as linhas de um mesmo tratamento e, minúsculas entre as colunas de cada tempo.

Houve diferença no odor dos queijos entre os tempos dos tratamentos A₂ e B₂. Nas subdivisões dos tratamentos A e B existiu interação entre os fatores B e C sobre a variação do odor típico dos queijos, uma vez que houve variação no mesmo ao longo do tempo de estocagem e, elas ocorreram de forma distinta entre as subdivisões desses tratamentos. No entanto, os resultados encontrados para os tratamentos A e B foram distintos no que diz

respeito à interação fator B x fator C. Existiu uma tríplice interação fator A x fator B x fator C, pois o comportamento do odor típico dos queijos foi dependente dos três fatores.

De maneira geral, a variação das notas referentes ao odor típico dos queijos, pôde ser atribuída ao fato de que à medida que o tempo avançou, este se tornou mais pronunciado, em função das reações bioquímicas de proteólise e lipólise ocorridas (FOX et al, 2000; McSWEENEY, 2004; UPADHYAY et al, 2004). Dessa maneira, os tratamentos A₃ e B₃ apresentaram odores mais intensos dentre os tratamentos e, aos 156 dias após a fabricação os tratamentos A₂ e B₂ se igualaram àqueles nesse atributo.

Em contrapartida, os tratamentos A₁ e B₁ não sofreram variação com o passar do tempo devido ao fato de terem sido estocados em baixa temperatura, o que reduziu a formação de compostos aromáticos e justificou as notas menores para o atributo odor típico desses queijos (FOX et al, 2000).

5.2.2.7 Gosto salgado

O queijo Reino apresenta teor de cloreto de sódio entre 1,08 e 1,80 % (m/m) (FURTADO, 2007 e FURTADO, 2008).

O coeficiente de variação (CV) referente às notas atribuídas ao gosto salgado do queijo Reino foi igual a 24,36%, o que indicou que o mesmo se apresentou como uma variável instável ao longo do tempo, por ter variado no período estudado (FONSECA & MARTINS, 1996).

A análise de variância (ANAVA) indicou que os fatores A, B e C foram estatisticamente significativos ($p=0,034$, $p=0,000$ e $p=0,044$). Isso demonstrou que a aplicação dos tratamentos A e B, suas subdivisões e o tempo de estocagem dos queijos Reino, provocaram variações no gosto salgado, independentemente dos outros fatores.

A tabela das médias referentes às notas atribuídas ao gosto salgado dos queijos submetidos aos seis tratamentos está apresentada na Tabela 32.

Houve diferença entre os tempos dos tratamentos A₁ e A₂ e também, entre as subdivisões dos tratamentos A e do B.

Nos queijos submetidos às subdivisões dos tratamentos A e B existiu interação entre os fatores B e C sobre a variação do gosto salgado dos queijos, uma vez que houve variação no mesmo ao longo do tempo de estocagem e, elas ocorreram de forma distinta entre as subdivisões desses tratamentos. No entanto, os resultados encontrados para os tratamentos A e

B foram distintos no que diz respeito à interação fator B x fator C. Assim, verificou-se que existiu uma tríplice interação fator A x fator B x fator C, pois o comportamento do gosto salgado dos queijos foi dependente dos três fatores.

TABELA 32. Resultado médio para gosto salgado dos queijos Reino subdivididos nos tratamentos A₁, A₂, A₃, B₁, B₂ e B₃, nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação, na ADQM. Média das três repetições.

Tempos (em dias após a fabricação)	Tratamento A		
	A ₁	A ₂	A ₃
66	7,50 ^{aA}	7,78 ^{aB}	8,77 ^{aA}
96	7,26 ^{bA}	7,81 ^{bB}	9,16 ^{aA}
126	7,65 ^{bA}	8,64 ^{abAB}	9,59 ^{aA}
156	6,21 ^{bB}	9,46 ^{aA}	8,81 ^{aA}
Tratamento B			
	B ₁	B ₂	B ₃
66	6,79 ^{bA}	7,06 ^{bA}	8,30 ^{aA}
96	6,23 ^{bA}	7,04 ^{bA}	9,08 ^{aA}
126	6,02 ^{bA}	8,30 ^{aA}	9,23 ^{aA}
156	6,85 ^{bA}	8,28 ^{aA}	8,59 ^{aA}

Letras iguais indicam valores semelhantes pelo Teste de *Student Newman-Keuls (SNK)* em nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas devem ser consideradas entre as linhas de um mesmo tratamento e, minúsculas entre as colunas de cada tempo.

O gosto salgado é dependente do teor de sal na umidade do queijo, uma vez que quanto maior essa relação, mais salgado será o queijo (MINUSSI, 1994). Dessa forma, a variação das notas referentes a esse atributo pôde ser atribuída ao fato de que os queijos submetidos aos tratamentos A₁ e B₁ sofreram menor desidratação e, conseqüentemente, apresentaram maiores teores % (m/m) de NaCl/U. Por isso houve uma tendência estatisticamente significativa das notas atribuídas ao gosto salgado dos queijos submetidos a esses tratamentos serem menores, e as dos submetidos aos A₃ e B₃ serem maiores.

5.2.2.8 Sabor típico

O sabor intenso é tradicionalmente considerado ideal para o queijo Reino (FURTADO, 2007 e FURTADO, 2008).

O coeficiente de variação (CV) referente às notas atribuídas ao sabor típico do queijo Reino foi igual a 21,63%, o que indicou que o mesmo se apresentou como uma variável instável ao longo do tempo, por ter variado no período estudado (FONSECA & MARTINS, 1996).

A análise de variância (ANAVA) indicou que os fatores A, B e C foram estatisticamente significativos ($p=0,032$, $p=0,000$ e $p=0,000$). Isso demonstrou que a aplicação dos tratamentos A e B, suas subdivisões e o tempo de estocagem dos queijos Reino provocaram variações no sabor típico, independentemente dos outros fatores.

A tabela das médias referentes às notas atribuídas ao sabor típico dos queijos submetidos aos seis tratamentos está apresentada na Tabela 33.

TABELA 33. Resultado médio para sabor típico dos queijos Reino subdivididos nos tratamentos A₁, A₂, A₃, B₁, B₂ e B₃, nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação, na ADQM. Média das três repetições.

Tempos (em dias após a fabricação)	Tratamento A		
	A ₁	A ₂	A ₃
66	8,11 ^{bB}	8,93 ^{bB}	10,64 ^{aA}
96	8,01 ^{cB}	9,81 ^{bAB}	11,16 ^{aA}
126	7,37 ^{bB}	10,67 ^{aA}	11,46 ^{aA}
156	9,47 ^{bA}	10,01 ^{abAB}	10,74 ^{aA}
	Tratamento B		
	B ₁	B ₂	B ₃
66	6,65 ^{bA}	6,96 ^{bB}	10,36 ^{aA}
96	5,72 ^{cA}	7,73 ^{bB}	10,30 ^{aA}
126	5,98 ^{cA}	9,48 ^{bA}	11,09 ^{aA}
156	5,60 ^{bA}	10,30 ^{aA}	10,71 ^{aA}

Letras iguais indicam valores semelhantes pelo Teste de *Student Newman-Keuls (SNK)* em nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas devem ser consideradas entre as linhas de um mesmo tratamento e, minúsculas entre as colunas de cada tempo.

Por meio da análise da Tabela 33 foi possível inferir que houve diferença entre os tempos dos tratamentos A₁, A₂, B₁ e B₂ e também, entre as subdivisões do tratamento A e do B.

Nos queijos submetidos às subdivisões dos tratamentos A e B existiu interação entre os fatores B e C sobre a variação do sabor típico dos queijos, uma vez que houve variação no mesmo ao longo do tempo de estocagem e, elas ocorreram de forma distinta entre as subdivisões desses tratamentos. No entanto, os resultados encontrados para os tratamentos A e

B foram distintos no que diz respeito à interação fator B x fator C. Assim, verificou-se que existiu uma tríplice interação fator A x fator B x fator C, pois o comportamento do sabor típico dos queijos foi dependente dos três fatores.

De maneira geral, percebeu-se que com o passar do tempo que o sabor típico dos queijos dos tratamentos A₂ e B₂ se diferenciaram daqueles dos tratamentos A₁ e B₁ e tenderam a se igualar aos dos A₃ e B₃, respectivamente.

Houve uma tendência das notas atribuídas ao sabor típico dos queijos submetidos aos tratamentos A₁ e B₁ serem menores. No entanto, aos 156 dias após a fabricação o tratamento A₁ não se diferenciou de A₂ e, isso não ocorreu entre os tratamentos B₁ e B₂, o que também demonstrou o efeito do fator A.

A variação das notas referentes ao sabor típico dos queijos pôde ser atribuída ao fato de que com o decorrer do tempo de estocagem, os processos de proteólise e lipólise avançaram, liberando compostos aromáticos que conferiram o sabor típico desses queijos. Esse avanço é dependente da temperatura de estocagem, dos teores % (m/m) de umidade, gordura, proteína e NaCl/U (FOX et al, 2000; FURTADO, 2008; McSWEENEY, 2004). A temperatura de estocagem foi o fator condicionante para a aceleração daqueles processos nos queijos analisados no experimento em questão, pois verificou-se que quanto maior, mais pronunciado o sabor típico.

5.2.2.9 Sabor residual

O coeficiente de variação (CV) referente às notas atribuídas ao sabor residual do queijo Reino foi igual a 29,11%, o que indicou que o mesmo se apresentou como uma variável instável ao longo do tempo, por ter variado no período estudado (FONSECA & MARTINS, 1996).

A análise de variância (ANAVA) indicou que o fator A não foi estatisticamente significativo ($p=0,319$). Isso demonstrou que a aplicação dos tratamentos A e B nos queijos Reino não provocou variação no sabor residual, independentemente dos outros fatores.

Já os fatores B e C foram estatisticamente significativos ($p=0,000$ e $p=0,000$). Isso demonstrou que as subdivisões dos tratamentos A e B e o tempo de estocagem dos queijos Reino provocaram variações no sabor residual, independentemente dos outros fatores.

A tabela das médias referentes às notas atribuídas ao sabor residual dos queijos submetidos aos seis tratamentos está apresentada na Tabela 34.

TABELA 34. Resultado médio para sabor residual dos queijos Reino subdivididos nos tratamentos A₁, A₂, A₃, B₁, B₂ e B₃, nos tempos 66, 96, 126 e 156 dias após a fabricação, na ADQM. Média das três repetições.

Tempos (em dias após a fabricação)	Tratamento A		
	A ₁	A ₂	A ₃
66	6,65 ^{bA}	7,44 ^{bB}	9,70 ^{aA}
96	7,18 ^{bA}	7,80 ^{bB}	9,36 ^{aA}
126	6,84 ^{bA}	8,24 ^{bB}	10,31 ^{aA}
156	7,26 ^{bA}	9,93 ^{aA}	10,67 ^{aA}
	Tratamento B		
	B ₁	B ₂	B ₃
66	5,74 ^{cA}	7,58 ^{bB}	9,08 ^{aB}
96	4,19 ^{cB}	6,77 ^{bB}	9,30 ^{aB}
126	7,07 ^{bA}	8,21 ^{bB}	10,17 ^{aAB}
156	5,59 ^{cA}	9,48 ^{bA}	10,89 ^{aA}

Letras iguais indicam valores semelhantes pelo Teste de *Student Newman-Keuls (SNK)* em nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas devem ser consideradas entre as linhas de um mesmo tratamento e, minúsculas entre as colunas de cada tempo.

Por meio da análise da Tabela 35 foi possível inferir que houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos das subdivisões do tratamento A e do B, exceto para o A₁ e o A₃. Houve diferença estatisticamente significativa entre as subdivisões dos tratamentos A e B.

Nos queijos submetidos às subdivisões dos tratamentos A e B existiu interação entre os fatores B e C sobre a variação do sabor residual dos queijos, uma vez que houve variação no mesmo ao longo do tempo de estocagem e, elas ocorreram de forma distinta entre as subdivisões desses tratamentos. No entanto, os resultados encontrados para os tratamentos A e B foram distintos no que diz respeito à interação fator B x fator C. Assim, concluiu-se que existiu uma tríplice interação fator A x fator B x fator C, pois o comportamento do sabor residual dos queijos foi dependente dos três fatores.

Verificou-se que com o passar do tempo o sabor residual dos queijos submetidos aos tratamentos A₂, B₂ e B₃ tenderam a aumentar. Isso pôde ser atribuído ao fato de que com o decorrer do tempo de estocagem, os processos de proteólise e lipólise avançaram, liberando compostos aromáticos que conferiram o sabor residual desses queijos. Contudo, esse avanço é dependente da temperatura de estocagem, dos teores % (m/m) de umidade, gordura, proteína e NaCl/U (FOX et al, 2000; FURTADO, 2008; McSWEENEY, 2004). A temperatura de estocagem foi o fator condicionante para a aceleração daqueles processos nos queijos

analisados nesse experimento, pois verificou-se que quanto maior, mais pronunciado o sabor residual.

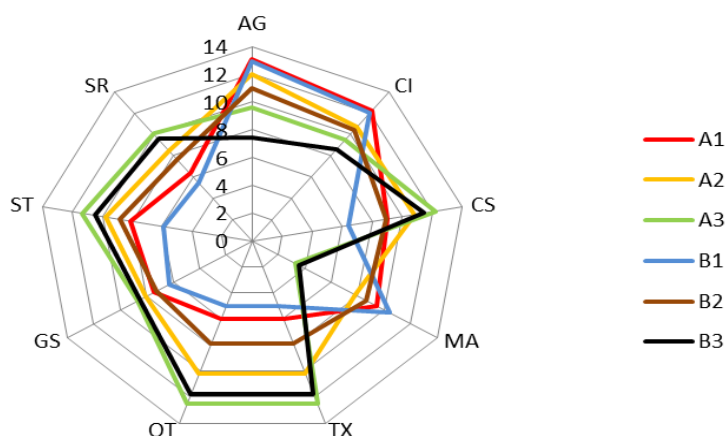
Cabe salientar que, nos tempos 126 e 156 dias após a fabricação, o sabor residual dos queijos estocados às temperaturas mais elevadas foi descaracterizado, apresentando “gosto de queimado e de sabão”, de acordo com opiniões dos provadores. A elevação excessiva da temperatura de estocagem dos queijos submetidos aos tratamentos A₃ e B₃ pode ter levado ao desenvolvimento das NSLAB, que podem oxidar os ácidos graxos dando origem a compostos de sabor e aroma desagradáveis ao paladar (FOX et al, 2000).

5.2.2.10 Considerações gerais

A partir dos resultados médios das notas de cada atributo avaliado na análise sensorial por ADQM pôde-se perceber que os queijos submetidos aos tratamentos A₁ e B₁ apresentaram o aspecto global mais típico para o queijo Reino. No entanto, a baixa temperatura de estocagem comprometeu o desenvolvimento das outras características sensoriais típicas.

Os queijos submetidos aos tratamentos A₂, B₂, A₃ e B₃ foram caracterizados como os mais típicos. Porém, houve queda na qualidade do produto ao longo do tempo, com prejuízo de suas características sensoriais típicas.

Os resultados médios das notas de cada atributo avaliado na análise sensorial estão apresentados na Figura 24.



AG=aspecto global, CI=cor interna, CS=consistência, MA=massa, TX=textura, OT=odor típico, GS=gosto salgado, ST=sabor típico, SR=sabor residual.

FIGURA 24. Representação gráfica dos resultados médios das notas de cada atributo avaliado na análise sensorial.

A Figura 24 demonstrou que os queijos submetidos aos tratamentos A₁ e B₁, A₂ e B₂, A₃ e B₃, tenderam a apresentar comportamentos semelhantes durante o período analisado.

5.3 DISTRIBUIÇÃO DE SAL NO QUEIJO REINO

A caracterização do perfil de distribuição de sal foi realizada com os queijos Reino de formato esférico (15,8cm de circunferência e 13,0cm de raio, em média), salgado em salmoura (23 % m/v de NaCl) por 20h. A ANAVA realizada com os resultados obtidos para o teor % (m/m) de NaCl nas respectivas porções do queijo Reino, nos tempos dois, seis, onze, dezesseis, vinte e seis, e, trinta e seis dias após a fabricação está apresentada na Tabela 35.

Tabela 35. Tabela de ANAVA.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Lote	2	0,663	0,332	19,04	0,050
Tratamento (T)	1	0,018	0,018	1,027	0,418
<i>Erro 1</i>	2	0,035	0,017		
Porção (P)	2	12,966	6,483	453,790	0,000
T*P	2	0,017	0,008	0,592	0,576
<i>Erro 2</i>	8	0,114	0,014		
Tempo (t)	5	10,859	2,172	80,880	0,000
T*t	5	0,076	0,0153	0,569	0,723
P*t	10	11,630	1,163	43,313	0,000
T*P*t	10	0,0420	0,004	0,156	0,998
<i>Erro 3</i>	60	1,611	0,027		
Total corrigido	107	38,032			

A tabela de ANAVA (Tabela 35) indicou que não houve diferença estatisticamente significativa quanto ao teor % (m/m) de NaCl entre os tratamentos A e B ($p=0,418$), e, que houve diferença estatisticamente significativa entre as porções amostradas do queijo Reino ($p=0,000$) e entre os tempos dos tratamentos A e B ($p=0,000$). Dessa forma, não houve efeito de tratamento na distribuição de sal no queijo Reino, porém, houve interação estatisticamente significativa entre porção e tempo ($p=0,000$), o que demonstra a dependência da distribuição do sal em função do tempo.

Os teores % (m/m) médios de NaCl encontrados nas três porções do queijo Reino, nos tempos dois, seis, onze, dezesseis, vinte e seis, e, trinta e seis dias após a fabricação estão apresentados na Tabela 36 e na Figura 25.

De acordo com a Tabela 36 e com a Figura 25 pôde-se inferir que logo após o processo de salga (dois dias após a fabricação) o sal se encontrou concentrado na porção

superficial do queijo, e, com o decorrer do tempo, se difundiu para o interior do mesmo, o que é típico do mecanismo de salga em salmoura (FURTADO, 2011; GUINEE; FOX, 1987).

Tabela 36. Resultados do teor percentual (m/m) médio de NaCl encontrado em cada porção do queijo Reino, em cada tempo analisado. Média das três repetições.

		% (m/m) de NaCl no queijo Reino		
		Porções amostradas		
Tempos (em dias após a fabricação)		Superficial	Intermediária	Central
Tratamento A	2	1,79 ^{aA}	0,06 ^{bE}	0,07 ^{bC}
	6	1,65 ^{aA}	0,54 ^{bD}	0,10 ^{cC}
	11	1,42 ^{aAB}	0,88 ^{bC}	0,39 ^{cC}
	16	1,56 ^{aAB}	1,16 ^{bB}	0,85 ^{cB}
	26	1,47 ^{aAB}	1,68 ^{aA}	1,48 ^{aA}
	36	1,27 ^{aB}	1,52 ^{aA}	1,48 ^{aA}
Tratamento B	2	1,79 ^{aA}	0,06 ^{bE}	0,07 ^{bC}
	6	1,65 ^{aA}	0,54 ^{bD}	0,10 ^{cC}
	11	1,42 ^{aAB}	0,88 ^{bC}	0,39 ^{cC}
	16	1,56 ^{aAB}	1,16 ^{bB}	0,85 ^{cB}
	26	1,47 ^{aAB}	1,68 ^{aA}	1,48 ^{aA}
	36	1,33 ^{aB}	1,47 ^{aA}	1,45 ^{aA}

Letras iguais indicam valores semelhantes pelo Teste de *Student Newman-Keuls (SNK)* em nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas devem ser consideradas entre os tempos de uma mesma porção (linhas) e minúsculas entre as porções amostradas, num mesmo tempo (colunas).

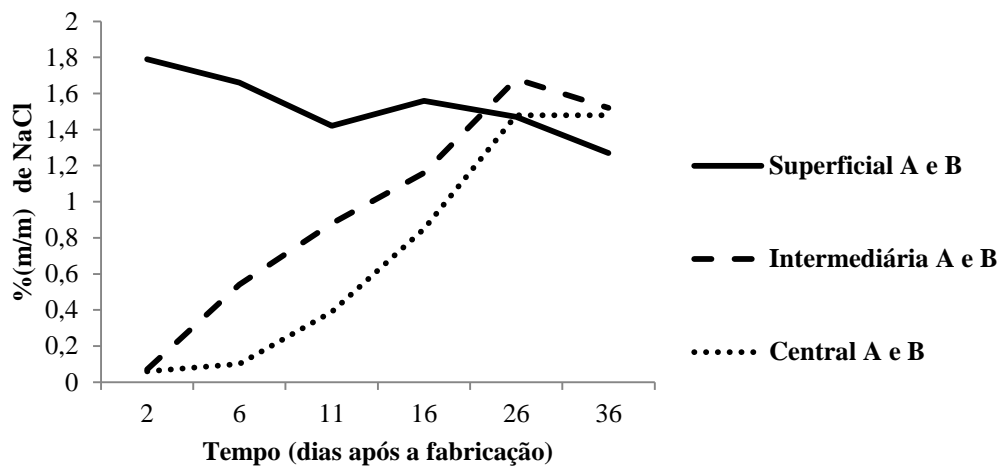


FIGURA 25. Representação gráfica da Tabela 37.

A partir do 26º dia após a fabricação não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias dos tratamentos A e B ($p=0,192$); isso indicou que no tempo 26º dia após o queijo ter sido fabricado o sal estava distribuído homogeneamente no mesmo, em ambos os tratamentos.

Queijos com maior teor de GES absorvem sal mais devagar. Isto se deve a modificações estruturais provocadas pela gordura, como resistência à alteração no volume do

queijo, diminuição da capacidade de difusão do sal e interferência na porosidade do queijo (GUINEE; FOX, 1987).

A análise de regressão dos teores % (m/m) de NaCl observados em cada tratamento, ao longo do tempo, apresentou as equações ajustadas da Tabela 37.

Tabela 37. Equações ajustadas encontradas para cada porção amostrada dos tratamentos A e B.

Porção amostrada	Tratamentos A e B	
Superficial	% (m/m) de NaCl= $1,740 - 0,012 \cdot \text{Tempo (em dias)}$ $p=0,000$ e $R^2= 74,32\%$	(2)
Intermediária	% (m/m) de NaCl= $0,229 + 0,043 \cdot \text{Tempo (em dias)}$ $p=0,000$ e $R^2= 82,87\%$	(3)
Central	% (m/m) de NaCl= $0,048 \cdot \text{Tempo (em dias)} - 0,101$ $p=0,000$ e $R^2= 92,11\%$	(4)

Por meio da análise das equações apresentadas na Tabela 37 pôde-se inferir que o sal presente na porção superficial do queijo foi se difundindo para o interior do mesmo à medida que o tempo avançou, uma vez que a equação 2 demonstrou o comportamento linear decrescente da concentração de sal na porção superficial e, as equações 3 e 4 o comportamento linear crescente da mesma, nas porções intermediária e central do queijo. Isto, novamente, comprovou o mecanismo típico do processo de salga em salmoura (FURTADO, 2011; GUINEE; FOX, 1987).

5.4 PRESENÇA DE CRISTAIS DE LACTATO DE CÁLCIO (CLC)

A presença de CLC foi percebida nos queijos submetidos aos tratamentos A₂, A₃, B₂ e B₃, nos tempos 126 e 156 dias após a fabricação. A presença desses cristais pode ser visualizada na Figura 26.

A elevação da temperatura de maturação possui forte associação com o aparecimento dos CLC, por permitir o crescimento das *NSLAB*, as quais promovem a conversão do L(+)-Lactato em D(-)-Lactato (AGARWAL et al, 2006a, 2006b, 2008).

As perdas financeiras provocadas pela presença dos CLC têm aumentado o investimento em pesquisas por partes das indústrias internacionais, a fim de reduzir essa

ocorrência em queijos duros e semiduros, sobretudo, no queijo *Cheddar* (AGARWAL et al, 2006a, 2006b, 2008; RAJBHANDARI; KINDSTEDT, 2008).



FIGURA 26. CLC presente na trinca interna do queijo submetido ao *Tratamento A₃*.

Conforme ocorreu nos queijos Reino dos tratamentos A_2 , A_3 , B_2 e B_3 , a presença de CLC é verificada nos queijos Grana, sobretudo na superfície e em trincas internas (FURTADO, 2011).

6 CONCLUSÕES

- Os queijos submetidos aos tratamentos A e B foram diferentes quanto à (ao) Aw, teores % (m/m) de umidade, proteína, relação $NS_{pH4,6}/NT$, relação $NS_{TCA12\%}/NT$ e GES;
- A maturação ocorrida durante simulação de transporte refrigerado do queijo Reino (tratamento B) se diferenciou da maturação tradicional (simulada pelo Tratamento A). Ou seja, a redução do período de maturação, a embalagem e a antecipação da comercialização do queijo comprometeu o desenvolvimento das suas características típicas de sabor e textura, e, da formação da casca (que também o caracteriza). Dessa maneira, a maturação ocorrida durante simulação de transporte refrigerado do queijo Reino não substitui a maturação tradicional realizada em câmaras.
- A fase 2, a elevada temperatura de estocagem dos queijos submetidos aos tratamentos A₂, B₂, A₃ e B₃ acelerou o desenvolvimento das características típicas de sabor e aroma dos queijos, porém, reduziu a *shelf life*. Em contrapartida, a baixa temperatura de estocagem dos queijos submetidos aos tratamentos A₁ e B₁ comprometeu o desenvolvimento de características sensoriais típicas. Logo, as diferentes condições de estocagem às quais os queijos Reino são submetidos no mercado são estatisticamente significativas para provocar variações sensoriais e físico-químicas nos queijos. Por isso as indústrias devem atentar para o monitoramento da temperatura de estocagem adequada, a fim de assegurar a qualidade do queijo Reino e evitar possíveis prejuízos industriais.
- O aumento da temperatura de maturação dos queijos submetidos aos tratamentos A₃ e B₃ até 66 dias após a fabricação resultou nos queijos considerados mais típicos pelos provadores e com maior potencial de exportação. Dessa maneira, a elevação da temperatura de maturação até 66 dias após a fabricação, seguida da embalagem e estocagem refrigerada (5-10° C) dos queijos Reino pode ser uma alternativa tecnológica viável à comercialização de um queijo Reino tradicional, e, com maior *shelf life*, uma vez verificado que a refrigeração (5-10° C) não provocou variações significativas nas relações % $NS_{pH4,6}/NT$ e $NS_{TCA12\%}/NT$ dos queijos.
- A aceleração da maturação por meio do aumento controlado da temperatura pode ser utilizada para atingir as características ideais desse queijo, desde que monitorado o tempo de maturação sob essa condição.
- O tempo e a temperatura de maturação são fundamentais para a obtenção de um produto de qualidade. Logo, o queijo Reino deverá ser comercializado após decorrido, aproximadamente, 60 dias de sua fabricação.

- O sal se distribuiu homogeneamente no queijo Reino 26 dias após a fabricação independentemente das condições de temperatura e umidades na secagem / maturação.
- Do ponto de vista tecnológico, o queijo Reino tradicional apresenta potencial de exportação em função de suas características peculiares de sabor e textura, e, de sua embalagem tradicional em latas. Para isso, deve-se investir na qualidade do leite e na rastreabilidade do produto de forma a atender às exigências internacionais.

REFERÊNCIAS

- ABREU, L. R. **Processamento do leite e tecnologia dos produtos lácteos**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2005. 194p.
- AGARWAL, S. et al. Nonstarter Lactic Acid Bacteria Biofilmes an Calcium Lactato Crystals in *Cheedar* cheese. **Journal of Dairy Science**. v. 88, p. 1452-1466. 2006a.
- AGARWAL, S. et al. Cheese pH, protein concentration, and formation of Calcium Lactato Crystals. **Journal of Dairy Science**. v. 89, p. 4144-4155. 2006b.
- AGARWAL, S. et al. Influence of salt-to-moisture ratio on Satarter Culture and Calcium Lactato Crystal formation. **Journal of Dairy Science**. v. 91, p. 2967-2980. 2008.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJOS – ABIQ. **Queijos: Mercado total brasileiro**. São Paulo: 2010.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJOS – ABIQ. **Queijos: Mercado total brasileiro**. São Paulo: 20 de jan. 2011.
- BERESFORD et al. Recents advances in cheese microbiology. **International Dairy Journal**, v. 11, p. 259-274, 2001.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146 de 07 de março de 1996. Aprovar os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 11 mar. 1996. Seção 1, p.3977.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 14 dez. 2006. Seção 1, p.8.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 62, de 29 de dezembro de 2011. Aprovar o Regulamento Técnico de produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel, em conformidade com os Anexos desta Instrução Normativa. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 30 dez. 2011.
- BRITO, J.R.F.; BRITO, M.A.V.P.; ARCURI, E.F. **Controle da mastite ou como reduzir a contagem de células somáticas do rebanho bovino leiteiro**. Embrapa Gado de Leite. Disponível em <www.cnpqgl.embrapa.br/lab/controlarmastite.doc>. 2009.

Cap-Lab. **Reagente para Somatic Test**. 2012.

CHALITA, M.A.N. et al. Algumas considerações sobre a fragilidade das concepções de qualidade no mercado de queijos no Brasil. **Informações Econômicas**, São Paulo, v.39, n.6, jun. 2009.

COGAN, T. M. **Cheese microbiology**. In: Fundamentals of cheese science. Gaithersburg: Aspen Publishers, 2000.

COLLINS, Y. F.; McSweeney, P. L. H; WILKINSON, M. G. In: Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. **Lipolysis and Catabolism of Fatty Acids in Cheese**. London: Elsevier, 2004, v.1: *General Aspects*, (3 ed). p. 373-385.

DAMASIO, M. H.; COSTELL, E. Análisis sensorial descriptivo: generación de descriptores y selección de catadores. **Revista Agroquímica de Tecnología de Alimentos**, v. 31, n. 2, p. 165-78, 1991.

DEL PRATO. **Trattato di Tecnologia Casearia**. Calderini Edagricole. Bolonha, Itália, 2001.

EL SODA, M. **Acceleration of flavour formation during cheese ripening**. G. Charalambous, Food Flavors: Generation, Analysis and Process Influence. p.721-746, 1995.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. GADO DE LEITE. **Industrialização do leite (SIF) no Brasil, 2007**. In: Estatísticas do leite. Juiz de Fora, 2007. Disponível em: < <http://www.cnpgl.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/industria/grafico0406.php>>. Acesso em: 18 de out. 2012.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. GADO DE LEITE. **Consumo per capita mundial de queijos 2000/2008***. In: Estatísticas do Leite – Consumo. Juiz de Fora, 2009. Disponível em: <<http://www.cnpgl.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/consumo/tabela0705.php>>. Acesso em 16 out. 2012.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. GADO DE LEITE. **Conjuntura do mercado lácteo**. Ano 5, n.43, ago. 2012. Disponível em: < <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/948947/1/201208ComercioInternacionalLeiteFinal0.pdf>>. Acesso em: 28 set. 2012.

FONSECA, Jairo Simon da; MARTINS, Gilberto Andrade. **Curso de Estatística**. 6 ed. São Paulo: Atlas, 1996.

FONTAN, R. C. I., CARVALHO, M. M., MONTEIRO, P. S., MININ, L. A.; COIMBRA, J.S.R. Determinação do Coeficiente Efetivo de Difusão do Cloreto de Sódio em Queijo Mussarela. **Revista do Instituto de Laticínios “Cândido Tostes”**, n 336 a 338, 59: 7-9, 2004.

FOX, P. F.; GUINEE, T. O.; COGAN, T. M.; McSWEENEY, P. L. H. **Fundamentals of Cheese Science**. Maryland: AN ASPEN PUBLICATION, 638p. 2000.

FOX, P.E; McSWEENEY, P.L.H. Proteolysis in cheese during ripening. **Food Reviews International**, n. 12, p.457-509, 1996.19969.

FOX, P. F.; McSweeney, P.L.H. In: Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Cheese: an overview. London: Elsevierl, 2004, v.1: General Aspects, (3 ed). p. 01-18.

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

FURTADO, M. M.; KARDEL, G.; LOURENÇO NETO, J. P. M.; ANTUNES, L. A. F. Queijo Reino: alguns defeitos típicos. **Informativo Há-la Biotec**, Valinhos, São Paulo, n. 46, p. 2-3, jan. 1998.

FURTADO, M. M.; LOURENÇO NETO, J. P. M. Metodologia básica de fabricação de queijo Reino. **Informativo Há-la Biotec**, Valinhos, São Paulo, n. 49, p. 2, jan. 1999.

FURTADO, M. M. **Queijo com olhaduras**. 1 ed. São Paulo: Fonte Comunicações, 2007. 179 p.

FURTADO, M. M. **Queijos Duros**. 1 ed. São Paulo: Setembro Editora, 2011. 212 p.

FURTADO, M. R. A. **Caracterização histórica, tecnologia de fabricação, características físico-químicas, sensoriais, perfil de textura e de comercialização do queijo Reino**. 2008. 95 f. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

GEURTS, T.J.; WALSTRA, P.; MULDER, H. Transport of salt and water during salting of cheese. 1. Analysis of the processes involved. **Netherlands Milk Dairy Journal**, n.28, p.102-129, 1974.

GUINEE, T.P.; FOX, P.F. **Salt in cheese: physical, chemical and biological aspects**. In: FOX, P.F. Cheese: chemistry, physics and microbiology. London: Elsevier, 1987. v.1, p.251-297.

GUINEE, T.P.; FOX, P.F. Sodium chloride and moisture changes in romano-type cheese during salting. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v.50, n.4, p.511-518, Nov. 1983.

GUIMARÃES, T. F. et al. **Exportações mundiais de queijos: 2003 a 2007**. X Minas Leite. Nov. 2008. Disponível em: < http://www.cileite.com.br/sites/default/files/exportacoes_mundiais_de_queijos_2003_a_2007.pdf>. Acesso em 15 out. 2012.

HOFFMANN, R. Estimativas das elasticidades-renda de várias categorias de despesa e de consumo, especialmente alimentos, no Brasil, com base na POF de 2008-2009. **Revista de Economia Agrícola**, São Paulo, v. 57, n. 2, p. 49-62, jul./dez. 2010.

HOFMEISTER, L. C. et al. Salga de queijo tipo Minas por impregnação a vácuo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas-SP, vol.25, n.3, jul/set. 2005.

LABORDA, M. A.; RUBIOLO, A. C. Proteolysis of Fynbo cheese salted with nacl/kcl and ripened at two temperatures. **Journal fo Food Science**, Chicago, v. 64, n. 1, p. 33-36, 1999.

LIMA FILHO, R. R.; POMBO, G. **Aumenta** o consumo de leite no Brasil. Carta leite, Bebedouro, São Paulo: ano 6, edição 105, setembro, 2010.

MARQUES, L. T. et al. Ocorrência do leite instável ao álcool 76% e não ácido (LINA) e efeito sobre os aspectos físico-químicos do leite. **Revista Bras. Agrocência**, Pelotas, v.13, n.1, p.91-97, jan-mar, 2007.

McSWEENEY, P. L.H. Biochemistry of cheese ripening. **International Journal of Dairy Technology**. v. 57, n. 2/3, p. 127-144, maio/agosto 2004a.

McSWEENEY, P.L.H; SOUZA, M. J. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: a review. **International Dairy Journal**, v. 80, p. 293-324. 2000.

McSWEENEY, P.L.H. In: Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. **Biochemistry of cheese ripening: introduction and overview**. London: Elsevierl, 2004, v.1: General Aspects, (3 ed). p. 347-360. 2004b.

McSWEENEY P. L. H.; FOX, P. F. *In*: Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. **Metabolism of residual lactose and of lactate and citrate**. London: Elsevierl, 2004, v.1: General Aspects, (3 ed). p. 361– 372.

McSWEENEY, P. L. H. **Cheese problems solved**. Woodhead Publishing Limited, England, 425p., 2007.

MINUSSI, R.C. **Avaliação de métodos para aceleração da maturação do queijo Prato**. 1994. 84p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

MORRIS, H.A.; GUINNE,T.P.; FOX, P.F. Salt diffusion in cheddar cheese. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.68, n.8, p.1851-1858, Aug. 1985.

MOSKOWITZ, H. R. **Product testing and sensory evaluation of foods: marketing and R & D approacher**. Westport: Food and Nutrition Press, 1983. 605 p.

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

NARIMATSU, Agnes et al . Avaliação da proteólise e do derretimento do queijo prato obtido por ultrafiltração. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 2013.

NERO, L. A., VIÇOSA, G. N., PEREIRA, F. E. V. Qualidade microbiológica do leite determinada por características de produção. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.2, n.29, p.386-390, 2009.

PAYNE, M.R.; MORISON, K.R. A multi-component approach to salt and water diffusion in cheese. **International Dairy Journal**, Huntingdon, v.9, n.12, p. 887-894, 1999.

PEREIRA, D.B.C.; SILVA, P.H.F.; COSTA JÚNIOR, L.C.G.; OLIVEIRA, L.L. **Físico-Química do Leite e Derivados: Métodos Analíticos**. Juiz de Fora. 2 ed. Templo Gráfica e Editora. 2001.234p.

PEREIRA, J. G. et al. Testes de redutase para a avaliação da qualidade de Leite Cru Refrigerado. **Cient. Ciênc. Biol. Saúde (UNOPAR)**, v.14, n.2, p.77-80, 2012.

PERRY, Katia S. P. Queijos: Aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, Belo Horizonte, vol. 27, nº 2, p.293-300, jun. 2004.

RAJBHANDARI, P.; KINDSTEDT, P. S. Characterization of Calcium Lactate Crystals on Cheddar cheese by image analysis. **Journal of Dairy Science**. v. 91, p. 2190-2195. 2008.

REZENDE, D.C.; WILKINSON, J.; REZENDE, C.F. Coordenação da qualidade em cadeias produtivas de alimentos: O caso dos queijos finos no Brasil. **Econômica**, Rio de Janeiro, v.7, n.2, p. 233-253, dezembro de 2005.

REZENDE, G.C. **Inovações Tecnológicas e Estratégicas de coordenação na cadeia agroindustrial dos queijos finos: uma análise da interface fornecedor-indústria**. 2003. 117 f. Dissertação (Mestrado em Administração). Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais.

SALAÜN, F.; MIETTON, B.; GAUCHERON, F. Buffering capacity of dairy products. **International Dairy Journal**. v.15, p.95-109, 2005.

SILVA, P. D. L. et al. Influência das boas práticas de ordenha e da ordem de parto sobre a composição e contagem de células somáticas (CCS) do leite bovino. **Revista Verde**, Mossoró – RN, v.6, n.3, p. 01-06, jul/set. 2011.

SOUSA, M.J.; ARDO, Y.; McSWEENEY, P.L.H. Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. **International Dairy Journal**. v.11, p.327-345, 2001.

STONE, H.; SIDEL, J.L. Quantitative descriptive analysis: Developments, applications, and the future. **Food Technology**, v.52, n.8, p.48-52, 1998.

UPADHYAY, V.K. et al. In: Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. **Proteolysis in Cheese during Ripening**. London: Elsevier, 2004, v.1, (3 ed). p. 391-434.

UPRETI, P.; METZGER, L.E.; HAYES, K.D. Influence of Calcium and Phosphorus, Lactose, and Salt-to-moisture ratio on Cheddar cheese quality: Proteolysis During Ripening. **Journal of Dairy Science**. n. 89, p. 444-453. 2006.

VERDINI, R. A.; RUBIOLO, A. C. Effect of frozen storage time on the proteolysis of soft cheeses studied by principal component analysis of proteolytic profiles. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 67, n. 3, p. 963-967, 2002.

VIEIRA, V. F. **Características físico-químicas e sensoriais de queijos Mussarela elaborados a partir de leites com diferentes contagens de células somáticas**. 2010. 71p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de alimentos) –Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2010.

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