

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO *Stricto sensu*
MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

PRISCILA JUDACEWSKI

**QUALIDADE DE QUEIJO TIPO CAMEMBERT:
CULTURAS PRIMÁRIAS E INÓCULO DE MICÉLIO MICROFRAGMENTADO**

PONTA GROSSA
2015

PRISCILA JUDACEWSKI

**QUALIDADE DE QUEIJO TIPO CAMEMBERT:
CULTURAS PRIMÁRIAS E INÓCULO DE MICÉLIO MICROFRAGMENTADO**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, na Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Alessandro Nogueira

Co-orientador: Prof. Dr. Márcio José Rossi

PONTA GROSSA
2015

Ficha Catalográfica
Elaborada pelo Setor de Tratamento da Informação BICEN/UEPG

J92 Judacewski, Priscila
Qualidade de queijo tipo Camembert:
culturas primárias e inóculo de micélio
microfragmentado/ Priscila Judacewski.
Ponta Grossa, 2015.
83f.

Dissertação (Mestrado em Ciência e
Tecnologia de Alimentos - Área de
Concentração: Ciências e Tecnologia de
Alimentos), Universidade Estadual de Ponta
Grossa.
Orientador: Prof. Dr. Alessandro
Nogueira.
Coorientador: Prof. Dr. Márcio José
Rossi.

1.Penicillium candidum.
2.Processamento. 3.Análise colorimétrica.
4.Cultura termofílica. I.Nogueira,
Alessandro. II. Rossi, Márcio José. III.
Universidade Estadual de Ponta Grossa.
Mestrado em Ciência e Tecnologia de
Alimentos. IV. T.

CDD: 637.3

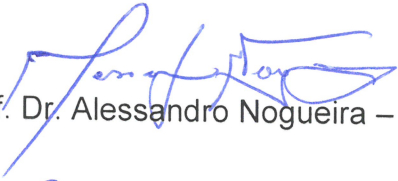
TERMO DE APROVAÇÃO

PRISCILA JUDACEWSKI

QUALIDADE DE QUEIJO TIPO CAMEMBERT: CULTURAS PRIMÁRIAS E INÓCULO DE MICÉLIO MICRO-FRAGMENTADO

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora:

Orientador:


Prof. Dr. Alessandro Nogueira – UEPG


Profa. Dra. Renata Dinnies Santos Salem – UEPG


Profa. Dra. Giovana de Arruda Moura Pietrowski UTFPR

Ponta Grossa, 12 de fevereiro de 2015.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida e discernimento. Sem ELE nada seria possível! Bem como, não seria possível encontrar em meu caminho pessoas iluminadas, que de alguma maneira tornaram meus dias especiais e ajudaram para a realização deste trabalho:

- Aos meus pais João Antonio Judacewski e Cacilda Judacewski, por serem meu porto seguro;

- Ao professor Dr. Alessandro Nogueira, que confiou em meu trabalho e me orientou de tal forma, que faltam palavras para expressar minha gratidão !

- Ao professor Dr. Marcio Jose Rossi, pela disponibilidade de co-orientação à distância;

- A professora Dra. Renata Dinnies Santos Salem e Dra. Giovana de Arruda Moura Pietrowski, por aceitarem o convite em fazer parte das bancas de Projeto, Qualificação e Defesa, e pelas valiosas contribuições ao trabalho;

- Ao meu irmão Bruno Judacewski, o qual sempre admirei;

- As minhas amigas Marcela Land, Tatiane Noimann, Anne Caroline Noimann, Regiane Noimann, Francine Santos, Gabriele Santos, Gabriela Sartori, Rafaela Bueno e Bianca Pereira pela torcida e palavras de incentivo;

- As minhas novas amigas conquistadas nesse período, Alessandra Cristina, Aline Alberti, Ana Paula Travalini, Andressa Granza, Fabiane Farias, Mayara Schroder e Tâmis Pires por me ajudarem inúmeras vezes, e pelos momentos de descontração;

- A todos do Grupo de Trabalho sobre a Ciência e Tecnologia da Maçã, e Escola Tecnológica de Leite e Queijos dos Campos Gerais;

- A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

- E a todos aqueles que de alguma forma, mantiveram-se por perto e ajudaram nesta fase, o meu MUITO OBRIGADA!

RESUMO

O Camembert é considerado um dos principais queijos finos. Apresenta como principal característica a superfície recoberta por um micélio branco do fungo *Penicillium candidum*, que proporciona características sensoriais peculiares muito apreciadas. No Brasil pouco foi estudado sobre este queijo, desta forma com o propósito de gerar conhecimento técnico científico sobre fatores que podem influenciar o padrão de qualidade de queijos tipo Camembert, esta dissertação foi dividida em duas partes. Na **primeira** (Capítulo II) o objetivo foi avaliar a aplicação de diferentes culturas primárias, e diferentes concentrações de sal no processo de salga. Na **segunda** (Capítulo III) o objetivo foi desenvolver e avaliar um protocolo de obtenção de biomassa fresca de *Penicillium candidum* para utilização como cultura secundária. As culturas primárias utilizadas foram mesofílica homofermentativa, mesofílica heterofermentativa e termofílica. As concentrações das salmouras foram de 15, 20, 25 e 29° Brix. A biomassa de *P. candidum* obtida em meio sintético foi recuperada, microfragmentada e aspergida sobre os queijos, com contagem de 2.10^6 de esporos/queijo. Foram realizadas análises de composição físico-química, índice de maturação, análise colorimétrica e perfil de textura nas amostras durante a maturação. O crescimento do micélio foi estabelecido pelo índice de brancura (WI) o qual se mostrou eficiente para este propósito, sendo rápido e de baixo custo. Embora os parâmetros do perfil de textura tenham sido semelhantes durante a maturação com diferentes culturas primárias, a resiliência apresentou menor valor para os queijos processados com cultura termofílica, e foi o único parâmetro que apresentou diferença significativa entre as culturas. Outro fator positivo para os queijos com esta cultura, foi o desenvolvimento superficial do micélio do mofo branco com ganho de um dia, em comparação às mesofílicas. As amostras com diferentes concentrações de sal, apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre os teores de umidade, proteína, extrato seco, cinzas, cloreto de sódio e sódio, e não interferiram no crescimento do fungo *P. candidum*. A composição físico-química dos queijos maturados com biomassa foi semelhante aos queijos maturados com esporos, porém a proteólise dos queijos maturados com biomassa foi mais intensa, apresentando ao final de 15 dias de maturação, teor de aminoácidos livres de 14% a mais, comparado com amostras contendo apenas esporos. Entre as amostras com as aplicações dos inóculos, os teores de tirosina e gordura, assim como o parâmetro coesividade do perfil de textura, apresentaram diferença significativa. O micélio recobriu o queijo com um dia de antecedência quando comparado apenas com o inóculo de esporos e apresentou maior altura. Este trabalho demonstra formas de monitorar e acelerar o fechamento do micélio em até dois dias, utilizando análise colorimétrica, cultura termofílica e biomassa microfragmentada. Estes resultados podem ser prontamente utilizados por empresas a fim de estabelecer padrões de qualidade para queijos tipo Camembert.

Palavras-Chave: *Penicillium candidum*; processamento; análise colorimétrica; cultura termofílica.

ABSTRACT

The Camembert is considered one of the finest cheeses. Presents as main characteristic the surface covered with a white mycelium of the fungus *Penicillium candidum*, which provides peculiar sensory characteristics greatly appreciated. In Brazil, little has been studied about this cheese, in this way, in order to generate scientific technical knowledge about factors that may influence the standard of quality cheeses such as Camembert, this work was divided into two parts. In the **first** (Chapter II), the objective was to evaluate the application of different primary cultures, and different concentrations of salt in the curing process. In the **second** (Chapter III), the objective was to develop and evaluate a protocol for obtaining fresh biomass of *Penicillium candidum* for use as a catch crop. Were used as primary cultures mesophilic homofermentative, heterofermentative mesophilic and thermophilic. The concentration of the brine used was 15, 20, 25 and 29° Brix. The biomass of *P. candidum* obtained in synthetic medium was recovered, and micro fragmented sprayed onto cheeses, with score of 2.10^6 spores / cheese. Of physical and chemical composition analyzes were performed, maturation index, colorimetric analysis and texture profile in the samples during maturation. The mycelia growth was established by the whiteness index (WI), which proved effective for this purpose, it is fast and inexpensive. Although the texture profile parameters were similar during maturation with different primary cultures, resilience showed lower value for processed cheeses with thermophilic culture, and was the only parameter that showed significant differences between cultures. Another positive factor for cheeses with this culture was superficial development of white mold mycelium with one-day gain, compared to mesophilic. Samples with different salt concentrations, showed significant differences ($p < 0.05$) between the moisture, protein, dry matter, ash, sodium and sodium chloride, and did not affect the growth of the fungus *P. candidum*. The physical and chemical composition of cheeses matured with biomass was similar to cheeses matured with spores, but proteolysis of cheeses matured with biomass was more intense, with the end of 15 days of aging, free amino acid content of 14% more, compared with samples containing only spores. Among the samples with the application of the inoculums, the tyrosine levels and fat, as well as the cohesiveness of the texture profile parameter showed significant difference. The mycelium overlaid cheese with a day in advance when compared only with the inoculums of spores and showed greater height. This work demonstrates ways to monitor and speed up the mycelium closing within two days, using colorimetric analysis, thermophilic culture and micro fragmented biomass. These results can be readily used by companies to establish quality standards for cheese like Camembert.

Keywords: *Penicillium candidum*; processing; colorimetric analysis; thermophilic culture.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I- INTRODUÇÃO, OBJETIVOS E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Figura	1.1	Síntese do L-lactato a partir de piruvato	25
Figura	1.2	Esquema geral de proteólise decorrente da ação microbiana durante a maturação de queijos	29
Figura	1.3	Aspecto aveludado do micélio do <i>P. camemberti</i>	31

CAPÍTULO II- IMPACTO DE DIFERENTES CULTURAS PRIMÁRIAS E DE CONCENTRAÇÕES DE SALGA NO DESENVOLVIMENTO DO MICÉLIO SUPERFICIAL EM QUEIJOS TIPO CAMEMBERT

Figura	2.1	Curva de crescimento do micélio na superfície do queijo tipo Camembert com base no índice de brancura e b^* , com aplicação de diferentes culturas primárias	44
Figura	2.2	Curva de crescimento do micélio na superfície do queijo tipo Camembert com base no índice de brancura e b^* , com diferentes concentrações de salmoura	48

CAPÍTULO III: AVALIAÇÃO DO INÓCULO DE BIOMASSA MICROFRAGMENTADA DE *Penicillium candidum* NO PROCESSO DE MATURAÇÃO DE QUEIJOS TIPO CAMEMBERT

Figura	3.1	Fluxograma da linha de processamento da ETLQueijos utilizada na fabricação do queijo tipo Camembert.....	57
Figura	3.2	Índice de brancura determinado na superfície do queijo tipo Camembert, em função do tempo de maturação, inoculado com aspersão de solução $2,0 \cdot 10^6$ esporos/queijo.....	63

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II- IMPACTO DE DIFERENTES CULTURAS PRIMÁRIAS E DE CONCENTRAÇÕES DE SALGA NO DESENVOLVIMENTO DO MICÉLIO SUPERFICIAL EM QUEIJOS TIPO CAMEMBERT

Tabela 2.1	Composição físico-química do leite em diferentes períodos (CQ01 e CQ02) utilizado nos experimentos de processamento de queijo tipo Camembert.....	41
Tabela 2.2	Efeito do inóculo com diferentes culturas primárias nas características físico-químicas de queijos tipo Camembert durante 15 dias de maturação.....	42
Tabela 2.3	Efeito do inóculo com diferentes culturas primárias no perfil de textura de queijos tipo Camembert.....	43
Tabela 2.4	Efeito da aplicação de diferentes concentrações de cloreto de sódio nas características físico-químicas de queijos tipo Camembert durante 15 dias de maturação.....	45
Tabela 2.5	Efeito da aplicação de diferentes concentrações de cloreto de sódio no perfil de textura de queijos tipo Camembert.....	47

CAPÍTULO III: AVALIAÇÃO DO INÓCULO DE BIOMASSA MICROFRAGMENTADA DE *Penicillium candidum* NO PROCESSO DE MATURAÇÃO DE QUEIJOS TIPO CAMEMBERT

Tabela 3.1	Efeito do inóculo fúngico nas características da composição química de queijos tipo Camembert.....	62
Tabela 3.2	Efeito do inóculo fúngico no perfil de aminoácidos de queijo tipo Camembert.....	66
Tabela 3.3	Efeito do inóculo fúngico no perfil de textura de queijos tipo Camembert.....	69

SUMÁRIO

CAPÍTULO I- INTRODUÇÃO, OBJETIVOS E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. 1	Introdução.....	11
1. 2	Objetivos.....	12
1. 2. 1	Objetivo Geral.....	12
1. 2. 2	Objetivos Específicos.....	12
1. 3	Revisão da Literatura.....	13
1. 3. 1	O queijo Camembert.....	13
1. 3. 2	Qualidade do leite.....	15
1. 3. 3	Microbiologia de queijos tipo Camembert.....	18
1. 3. 4	Processamento do queijo tipo Camembert.....	20
1. 3. 5	Condições de maturação de queijos tipo Camembert.....	22
1. 3. 6	Efeito de maturação em queijos tipo Camembert.....	23
1. 3. 7	Aspectos fisiológicos dos fungos.....	29

CAPÍTULO II: IMPACTO DE DIFERENTES CULTURAS PRIMÁRIAS E DE CONCENTRAÇÕES DE SALGA NO DESENVOLVIMENTO DO MICÉLIO SUPERFICIAL EM QUEIJOS TIPO CAMEMBERT

2. 1	Introdução.....	36
2. 2	Material e Métodos.....	37
2. 2. 1	Material.....	37
2. 2. 2	Métodos.....	37
2. 2. 3	Análise Estatística.....	40
2. 3	Resultados e Discussão.....	40
2. 4	Conclusão.....	48

CAPÍTULO III: AVALIAÇÃO DO INÓCULO DE BIOMASSA MICROFRAGMENTADA DE *Penicillium candidum* NO PROCESSO DE MATURAÇÃO DE QUEIJOS TIPO CAMEMBERT

3. 1	Introdução.....	53
3. 2	Material e Métodos.....	55
3. 2. 1	Material.....	55
3. 2. 2	Métodos.....	55
3. 2. 3	Análise Estatística.....	59
3. 3	Resultados e Discussão.....	59
3. 4	Conclusão.....	70

CAPÍTULO IV

4. 1	Considerações Finais.....	71
	Referências.....	73

CAPÍTULO I- INTRODUÇÃO, OBJETIVOS E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 INTRODUÇÃO

Entre os vários tipos de queijos produzidos no mundo, os finos vêm ganhando destaque na produção. Entre estes, o Camembert, de origem Francesa, possui um sabor característico e textura macia, desenvolvidos durante o processo de maturação. A maior parte das biotransformações decorrentes do período de maturação ocorrem devido à presença do fungo do gênero *Penicillium*, especificamente das espécies *P. camembertii* e *P. candidum*, que desenvolve um micélio branco aveludado em toda superfície do queijo.

O tipo de cultura primária, concentração e tempo de permanência na salmoura podem modificar a composição do queijo e influenciar no crescimento da cultura secundária. O inóculo do mofo branco na superfície de queijos tipo Camembert, ocorre através da aspersão de uma solução de esporos liofilizados. No Brasil, a velocidade de crescimento do fungo na superfície é importante para indicar o fim do processo de maturação. Entretanto, isto é feito de forma empírica, pois não existe um método rápido de avaliação do fechamento do micélio na superfície de queijos tipo Camembert.

Este queijo existe no Brasil desde a colonização por imigrantes europeus, porém apenas nos últimos anos o Camembert caiu no gosto dos brasileiros, devido a uma mudança no cenário econômico que levou à classe média a um maior poder aquisitivo. Entretanto, pouco foi pesquisado no país sobre este queijo, existindo uma carência de informações técnico científicas, que favoreçam o estabelecimento de padrões de qualidade. Desta forma, este trabalho objetiva avaliar as culturas primárias, a concentração da salga e a aplicação de micélio microfragmentado na composição química e no fechamento do micélio superficial em queijos tipo Camembert.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1. Objetivo Geral

- *Avaliar* a cultura primária, concentração de sal e inóculo de biomassa fresca no processamento e na maturação do queijo tipo Camembert.

1.2.2. Objetivos Específicos

- *Desenvolver* um método colorimétrico para *monitorar* o crescimento do micélio em queijos tipo Camembert recobertos por mofo branco (*Penicillium candidum*);

- *Avaliar* a aplicabilidade de diferentes culturas primárias na composição química, nas características instrumentais e no tempo de fechamento do micélio superficial em queijos tipo Camembert;

- *Avaliar* a influência de diferentes concentrações de salmoura na composição química, parâmetros instrumentais e no tempo de fechamento do micélio superficial em queijos tipo Camembert;

- *Desenvolver* um protocolo de produção e recuperação de micélio do fungo *Penicillium candidum*;

- *Avaliar* o inóculo de micélio microfragmentado em comparação com esporos comerciais no tempo de recobrimento do fungo, na composição química e parâmetros instrumentais de queijos tipo Camembert.

1.3 REVISÃO DA LITERATURA

1.3.1 O queijo Camembert

Os primeiros alimentos biotecnológicos originaram-se no antigo Oriente Médio, onde ocorreu a passagem da tradição “nômade” para “sedentária” (agricultura), com a fabricação de alimentos como pães, iogurte, vinho, cerveja e queijo. Nesse contexto a descoberta do queijo ocorreu de forma casual, originando-se a partir do armazenamento do leite em peles, estômagos e bexigas de animais. Uma ação conjunta das enzimas coagulantes presentes no estômago de bezerros, das bactérias lácticas e das enzimas presentes no leite, da temperatura e agitação acabou resultando nos primeiros queijos frescos da história (CASTANEDA et al., 2010).

O queijo pode ser considerado uma forma de conservação dos principais nutrientes do leite e um dos alimentos mais nutritivos ao homem, consistindo em um concentrado lácteo de proteínas, lipídios, carboidratos, sais minerais, cálcio, fósforo e vitaminas. Sua classificação baseia-se nas características do leite utilizado, do tipo de coagulação, consistência da pasta, teor de gordura, tipo de casca e tempo de cura (PERRY, 2004).

No século XIX, a produção de queijo alcançou o nível industrial, seguindo alguns fatores que colaboraram com sua evolução, como a busca por conhecimento e pela inovação. Na América do Sul a chegada de imigrantes europeus gerou algumas mudanças na cultura, inclusive na gastronomia. Em diferentes países, e em diferentes períodos, foi possível identificar essa transferência de estilo de vida e técnicas usadas na Europa, tanto para o abastecimento do leite, quanto na elaboração de queijos (CASTANEDA et al., 2010).

Desta forma, a variedade de queijos produzidos e as técnicas aplicadas ao desenvolvimento proporcionou o surgimento de uma ampla variedade de produtos (BEHMER, 1999; PERRY, 2004; NETO, 2012).

No Brasil, a produção de queijos foi introduzida por colonizadores portugueses, com características artesanais, a partir de formulações portuguesas como a Serra da Estrela, que originou o queijo Minas. Na região Sul do país, os

imigrantes colonizadores introduziram suas tradições leiteiras e foram responsáveis pelas primeiras fabricações de queijos (CASTANEDA et al., 2010).

Existe uma grande variedade de queijos que podem ser produzidos. Entre eles, os queijos finos vêm sendo procurados cada vez mais, embora apresentem uma pequena escala de produção, visando responder eminentemente a uma estratégia comercial de manutenção de preços, uma vez que possuem custos mais elevados, exigindo uma capacidade tecnológica maior (CHALITA et al., 2009). Dentre as variedades, são designados termos técnicos como semiduro, semicozido, prensado cru, curado ou coalhada leve, que servem como identificação de queijos, atribuídos pelos países os quais são produzidos (HARBUTT, 2010).

O trabalho realizado por Harbutt (2010) classifica os queijos como fresco, fresco curado, branco mole, semimole, duro, azul e condimentado, baseado no tipo de casca e textura. No Brasil, a produção e classificação de queijos são regulamentadas pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos, Portaria nº 146 de 07 de março de 1996 do Ministério da Agricultura e do Abastecimento, que classifica-os quanto ao tipo de coagulação, tratamento térmico, conteúdo de umidade, gordura e maturação (BRASIL, 1996).

Não existe uma legislação Brasileira específica pra queijos tipo Camembert. Dentro da classificação de Harbutt (2010), os queijos brancos com textura mole apresentam geralmente uma crosta branca, textura ligeiramente granulosa à fluida com aroma e sabor de cogumelo. Podem ser exemplificados os queijos *Sharpham*, *Brillat- Savarin*, *Capricorn Goat*, *Brique Du Forez*, porém os mais conhecidos e inspirados a variações são o *Camembert* da Normandia e *Brie de Meaux* (HARBUTT, 2010). O *Camembert* originou-se na região norte da França, mais precisamente na Normandia. Sua história se inicia em 1791, quando Marie Harel abrigou em sua casa na Vila *Camembert* durante a revolução Francesa, um padre fugitivo da região de Brie, que em agradecimento transferiu seu conhecimento sobre queijos (REIS, 2012).

Camembert tornou-se um nome comum para definir um tipo de queijo que é produzido em vários países. Os produtores da região de *Camembert* (Normandia, França), não foram capazes de reservar o direito exclusivo da utilização do nome com proteção concedida apenas para “*Camembert* de Normandia” (SANTILLI,

2012). Durante o processamento, a utilização do leite cru é responsável pela aparência, textura e sabor, assim como a microbiota bacteriana que difere quantitativamente e qualitativamente comparado com o processamento com leite pasteurizado (RICHARD e ZADI, 1983). Segundo Decreto nº 984, de 18 de setembro de 2008, o queijo *Camembert* de Normandia deve apresentar um diâmetro de 10,5 a 11,0 cm do cilindro, processado exclusivamente a partir de leite de vaca e coalho. Deve conter no mínimo 45 gramas de gordura por 100 g de queijo depois de completa a secagem, e pesar no mínimo 250g (FRANCE, 2008).

Schmidt e Baroiller (1990), já relatava que os primeiros trabalhos sobre o queijo *Camembert* foram vistos a partir de 1939 identificando a presença de leveduras na superfície, principalmente do gênero *Geotrichum*, mais tarde identificada como essencial na produção de alguns aromas típicos deste queijo.

Embora a Europa apresente uma cultura e hábito de consumo de queijos finos consolidado, o Brasil, um mercado novo para estes produtos, vem aumentando significativamente a oferta destes queijos. Segundo Tolentino (2013) esta modificação se observa desde 2007, onde o baixo consumo até então, pode ser explicado pela falta de hábito, e falta de profissionais que conheçam a tecnologia de processamento de queijos maturados.

1.3.2 Qualidade do leite

A qualidade do leite é um requisito muito importante na produção de queijos, pois suas características físico-químicas e microbiológicas garantem um maior rendimento e qualidade ao produto final.

Todo leite origina-se da corrente sanguínea e os nutrientes são extraídos por aproximadamente 5 trilhões de células secretoras. A secreção do leite é um processo involuntário, administrado por ações hormonais e neurais (PEREIRA, 2000).

A composição do leite é influenciada pela raça do animal, a qual pode ser submetido a melhoramento genético, bem como, pela nutrição, sanidade e manejo. O leite deve possuir características como ser livre de micro-organismos patogênicos, sedimentos e matérias estranhas. Deve apresentar baixa contagem

de células somáticas, gosto levemente adocicado e um “flavor” levemente aromático, e estar de acordo com os padrões legais (CHAPAVAL e PIEKARSKI, 2000).

Com o propósito de garantir a qualidade do leite desde a propriedade rural até o produto final, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) editou a Instrução Normativa nº 62 (IN62), de 29 de dezembro de 2011. A IN62 estabelece normas de produção e qualidade do leite, onde especifica a composição e os limites dos requisitos físicos, químicos e microbiológicos, conforme Quadro 1.1.

Item de Composição	Requisito		
Gordura (g/100g)	min. 3,0		
Acidez, em g de ácido láctico/100 mL	0,14 a 0,18		
Densidade relativa, 15/(15°C), g/mL	1,028 a 1,034		
Índice crioscópico	-0,530°H a -0,550°H (equivalentes a -0,512 °C e a -0,531 °C)		
Sólidos não-gordurosos (g/100g)	mín. 8,4		
Proteína total (g/100g)	mín. 2,9		
Estabilidade ao Alizarol 72% (v/v)	Estável		
Contagem padrão em placas (ufc/mL)	Máx.1x10 ⁴		
Contagem de células somáticas (CCS/mL)	A partir de 01/01/2012 até 30/06/2014	A partir de 01/07/2014 até 30/06/2016	A partir de 01/07/2016
	4,8 x 10 ⁵	4,0 x 10 ⁵	3,6 x 10 ⁵

Quadro 1.1. Requisitos físicos, químicos e microbiológicos do leite, segundo IN62. Fonte: BRASIL (2011).

Do ponto de vista físico-químico, o leite é uma mistura homogênea de diversas substâncias como glicerídeos, proteínas, lactose, enzimas, sais e vitaminas, das quais algumas estão em emulsão (gordura e as substâncias associadas), algumas em suspensão (as caseínas ligadas a sais minerais) e outras em dissolução como a lactose, vitaminas hidrossolúveis, proteínas do soro e sais (ORDÓNEZ et al., 2005).

As proteínas do leite são constituídas por duas frações, a proteína do soro e caseína, sendo que esta última representa 80% das proteínas totais. As caseínas do leite podem ser divididas em 5 tipos, caseínas α_{s1} , α_{s2} , β , γ e κ . Todas elas são sintetizadas na glândula mamária, com exceção da caseína γ que se origina na proteólise pós translacional da caseína β (VERNAM e SUTHERLAND, 1995).

Outra fração presente na proteína do leite são as chamadas proteínas do soro, que compreendem dois tipos de proteínas nativas (β - lactoglobulina, α -lactoalbumina), e pequenas quantidades de proteínas de origem sanguínea como a soroalbumina e imunoglobulinas (VERNAM e SUTHERLAND,1995).

A gordura é excretada no leite bovino em forma de pequenas gotículas, que medem entre 1,0 a 18,0 μm de diâmetro. Sua densidade é menor que a da proteína do soro, desta forma tende a separar, formando na superfície uma capa rica em gordura. Esse fenômeno é chamado de desnate espontânea. No leite bovino, os triglicerídeos são a fração majoritária dos lipídeos, correspondendo a 97-98%. A pequena quantidade restante está constituída por mono e diglicerídeos, fosfolipídios, ácidos graxos livres, colesterol e alguns ésteres. Os aspectos químicos mais importantes da gordura lática, estão relacionados com os tipos de reações de hidrólise e oxidação. A hidrólise está relacionada com a liberação de ácidos graxos e requer a intervenção de uma lipase. A oxidação é um problema menos grave que a hidrólise, porém, a oxidação reduz a vida de prateleira e pode ser catalisada em presença de luz, ou em contato com alguns metais, como o cobre, que está presente no leite na forma de contaminante (EARLY, 2000).

A lactose é o único açúcar livre que se encontra em quantidade considerável no leite. Sua principal origem está na glicose do sangue, onde o tecido mamário isomeriza-a em galactose e liga-a a um resíduo de glicose para formar uma molécula de lactose. Este dissacarídeo pode ser um fator limitante da produção de leite, visto que o volume de leite produzido na mama está diretamente correlacionado com a síntese da lactose. Este açúcar consiste em um bom substrato para as bactérias, que a transformam em ácido láctico (ORDÓNEZ et al., 2005).

Os minerais estão presentes no leite, e são classificados em macrominerais, sendo pertencentes deste grupo o sódio, potássio, cloreto, cálcio, magnésio e fósforo, e alguns traços de elementos como ferro, cobre, zinco, manganês, selênio, iodo, cromo, cobalto, molibdênio, flúor, arsênio, níquel, silício e boro (VAHCIC et al., 2010).

As enzimas encontradas no leite, de forma geral, procedem das células do tecido mamário, plasma sanguíneo e outras dos leucócitos do sangue. Por serem

catalisadores bioquímicos, seu estudo torna-se importante, já que promovem a hidrólise dos componentes do leite. A sensibilidade ao calor de algumas delas é utilizada para controlar tratamentos térmicos. A origem destas enzimas serve como índice de contaminação microbiana e sua atividade bactericida pode inibir o crescimento microbiano (ORDÓÑEZ et al., 2005).

Como não há possibilidade de obter um leite livre de micro-organismos deve-se evitar ao máximo o crescimento microbiano, e isto pode ser obtido através de medidas básicas de higiene, incluindo todas as etapas para obtenção da matéria-prima na propriedade rural (BRITO e LANGE, 2005). A profissionalização dos produtores possibilita melhor controle sanitário, monitoramento da alimentação animal e seleções genéticas, aumentando a qualidade e produção do leite. O uso de medidas profiláticas para o controle de doenças do rebanho, fazem parte da gestão utilizada como ferramenta para garantir a qualidade dos produtos de origem animal, porém para algumas patologias o uso de antibióticos é indispensável (TREVISI et al., 2014).

A identificação de antibióticos (resíduos) em leite pode ser realizada com ensaios microbianos, porém são pouco precisos e podem gerar em alguns casos, falso-positivo ou falso-negativo. Para isso, técnicas quantitativas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) são aplicadas, as quais exigem maiores recursos financeiros e profissionais capacitados (CHUNG et al., 2009).

1.3.3 Microbiologia de queijos tipo Camembert

Diferente dos micro-organismos patogênicos e deteriorantes, certos micro-organismos presentes em alguns alimentos causam alterações benéficas, modificando características originais de determinados produtos (FRANCO e LANDGRAF, 2008).

A aplicação de culturas primárias, especialmente as bactérias lácticas, possui como principal função a conversão da lactose em ácido láctico, iniciando as alterações bioquímicas no queijo. Podem ser homofermentativas (majoritariamente ácido láctico) ou heterofermentativas, com formação de gás

carbônico ou dióxido de carbono (CO₂) e compostos aromáticos, sendo capazes de metabolizar o citrato (PARENTE e COGAN, 2004).

De forma geral, as bactérias lácticas dividem-se em mesofílicas e termofílicas, possuindo temperaturas ótimas de 30-33°C e 40-45°C, respectivamente. As principais espécies do grupo dos mesofílicos são *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc* sp., e dos termofílicos os *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Lb. helveticus* (PARENTE e COGAN, 2004).

As bactérias mesofílicas apresentam características tecnológicas em algumas fermentações lácticas. Certas cepas são capazes de metabolizar o citrato presente no leite, produzindo diacetil, um dos compostos responsável pelo aroma, gerando dióxido de carbono. As bactérias lácticas termofílicas, são mais acidificantes que as mesofílicas, capazes de metabolizar a galactose. Este açúcar pode ser utilizado como fonte de energia por algumas bactérias lácticas produzindo aroma desagradável, assim como, podem ser utilizadas propositalmente, pois a galactose presente na reação de Maillard ajudará na coloração em queijos utilizados em pizzas (EARLY, 2000).

As culturas secundárias se desenvolvem na superfície, e algumas vezes no interior da massa em queijos maturados. A presença desses micro-organismos possui uma relação na produção de enzimas, desenvolvimento de textura e sabor, como em queijos maturados por *Penicillium camemberti*, *Penicillium candidum*, *Geotrichum candidum* e *Penicillium roqueforti* (EARLY, 2000).

Para o queijo *Camembert*, o desenvolvimento do mofo branco na superfície promove uma aparência característica com atividades bioquímicas que produzem aroma e sabor (LECLERT- PERLAT et al., 2003). Dentro do gênero *Penicillium*, encontram-se duas espécies cujas colônias são brancas, sendo elas o *P. candidum* e o *P. camemberti* (CERNING et al., 1987). No entanto, outras cepas podem ser inoculadas formando um ecossistema complexo, como o *Geotrichum candidum*, *Kluyveromyces lactis* e *Debaryomyces hansenii* (LESSARD et al., 2012).

O controle no crescimento fúngico é essencial para monitorar a produção de aromas pela biomassa, da mesma forma que seu desenvolvimento é capaz de evitar contaminação. Para definir quantitativamente alterações microbiológicas e

bioquímicas durante a maturação, cada componente da microbiota do queijo deve ser quantificado (Le DREAN et al., 2010). Para isso, estão sendo utilizadas técnicas moleculares de reação em cadeia da polimerase (PCR) quantitativo em tempo real (LESSARD et al., 2012; LECLERT-PERLAT et al., 2013).

O método tradicional utilizado para quantificar os micro-organismos é unidade formadora de colônias (UFC). No entanto, os filamentos das hifas não podem ser enumerados por essa técnica, pois podem refletir os números de esporos em vez de micélio (TANIWALI et al., 2006).

Para a classificação dos fungos utilizam-se técnicas microscópicas, que permitem observar claramente suas estruturas. A composição da amostra é verificada preparando-se várias lâminas, as quais devem ser observadas através de todo campo, de forma que todas as estruturas características sejam captadas e avaliadas (BARBIERI et al., 2001).

1.3.4 Processamento do queijo tipo Camembert

Para produzir um queijo com qualidade, devem ser controladas todas as etapas do processo. Esse controle inicia com o recebimento da matéria-prima, que deve ser de boa procedência, apresentando propriedades físico-químicas e sensoriais adequadas (RIBEIRO, 2012). Em seguida, o leite recebe como tratamento térmico a pasteurização, que é realizada no intuito de destruir as células vegetativas dos patógenos e diminuir o número de micro-organismos que possam causar a deterioração do leite. Dois métodos de pasteurização são utilizados: a pasteurização rápida em temperatura alta (HTST- *high temperature short time*), onde o leite é aquecido a 71,6°C, por 15 segundos; e pasteurização lenta (LTLT- *low temperature long time*), no qual o leite é aquecido a 62,9°C por 30 minutos (BLACK, 2002).

Nesse momento ocorre a perda de bactérias lácticas e aproximadamente 1/3 do cálcio solúvel. As bactérias lácticas promovem a acidificação adequada para o processamento, sendo necessário recompor essas bactérias adicionando fermento láctico, assim como, a reposição do cálcio a partir do cloreto de cálcio 50% é fundamental para o processo de coagulação da massa (LEITE et al., 2006).

Desta forma, o leite deverá ser resfriado a 34°C para adição da cultura láctica primária, cloreto de cálcio 50% e o coalho. A adição do cultivo iniciador ou cultura primária é importante, pois sua escolha cria condições que proporcionam características peculiares para cada queijo (BERESFORD et al., 2001). Com destaque para queijos moles, é necessário optar por um cultivo iniciador que resulte no acúmulo de ácido láctico antes da formação da coalhada. Desta forma, o leite deve manter inoculado por um determinado tempo, em temperatura que favoreça o crescimento do cultivo iniciador (ORDÓNEZ et al., 2005).

Quando o pH do leite atingir 6,6 é adicionado o coalho (HORNE e BANKS, 2004), que coagula o leite através da ação proteolítica de algumas proteinases. A coalhada pode ser formada pela acidificação, ocasionada por ação das bactérias lácticas, como também por ação de enzimas provenientes do coalho, ou qualquer outra enzima coagulante (ORDÓNEZ et al., 2005). Tradicionalmente, o coalho é extraído de tecidos gástricos de bezerros ou filhotes de cordeiros cujo princípio ativo é a quimosina. Também é utilizado a pepsina bovina e proteases de fungos *Rhizomucor miehei*, *Rhizomucor pusilluse* *Cryphonectra parasítica* (FOX e COGAN, 2004).

Com a adição do coalho, a α -caseína desestabiliza a micela rompendo os aminoácidos fenilalanina 105 - metionina 106, provocando a liberação das α_{s1} ; α_{s2} ; β e κ -caseína que se liga com os íons cálcio. Por serem altamente fosfatados, formam o paracaseinato de cálcio, originando a coalhada (HORNE e BANKS, 2004). Após a formação da coalhada é realizado o corte, que facilita a expulsão do soro. Em seguida, é deixada em repouso por aproximadamente 25 minutos. Quando se deseja obter queijos moles, o recomendado é cortar a coalhada em grânulos maiores. O aquecimento da coalhada após o corte, também colabora para a expulsão do soro, favorecendo a formação de ligações intermicelares ocasionando a retração do coágulo (ORDÓNEZ et al., 2005). Desta forma, a temperatura da massa é controlada até atingir 36°C. Durante esse controle agita-se lentamente até a obtenção do coágulo de tamanho de 2 cm³.

Em seguida, a coalhada é enformada (formas de 14 cm de diâmetro e 10 cm de altura), com utilização de morim para auxiliar a retirada do soro. O período da prensagem se estende por seis (6) horas, considerada fraca, com 1,0 a 1,5 kg, realizando duas viragens na massa após a primeira meia (0,5) hora de

enformagem e a outra após uma (1) hora. Neste período, ainda ocorre a acidificação (FOX e McSWEENWY, 2004). Terminadas as viragens, é retirado o dessorador das peças e estas são mantidas em câmara de maturação para uma primeira fermentação “overnight”, com temperatura de 12°C sem controle de umidade relativa.

Após o “overnight”, é realizado a salga do queijo em salmoura 21° Brix submersos por sessenta minutos ou a seco, posteriormente retornando para a câmara de maturação (FOX e McSWEENWY, 2004). O sal presente na salmoura ajuda a remover a água superficial, evita o desenvolvimento de micro-organismos indesejáveis e contribui para o sabor do queijo (BLACK, 2002), da mesma forma que contribui para a sinérese.

Na sequência, os queijos são inoculados com aspersão de uma solução contendo suspensão de esporos de *Penicillium candidum*, de forma que em cada queijo contenha 2.10^6 de esporos. A maturação ocorre em temperatura de 10 a 12°C e umidade relativa de aproximadamente 95%, durante 2 a 3 semanas.

1.3.5 Condições de maturação de queijos tipo Camembert

Na etapa de maturação ocorrem processos físicos, bioquímicos e microbiológicos, atribuindo características sensoriais de textura ao produto, variando conforme as características peculiares de cada queijo (PERRY, 2004). As reações bioquímicas que ocorrem no queijo durante a maturação se iniciam com fenômenos hidrolíticos, divididos em glicólise, proteólise, lipólise e para determinadas variedades o catabolismo do citrato (McSWEENEY e SOUSA, 2000; McSWEENEY, 2004; ORDÓNEZ et al., 2005;).

Os queijos com microbiota na superfície passam por alterações físicas e químicas durante a maturação (ARTEAU et al., 2010). No caso do Camembert, o mofo branco cresce rapidamente e recobre a superfície entre 10 a 12 dias. Durante as últimas fases da maturação o valor do pH tende a aumentar, bloqueando o desenvolvimento de micro-organismos não desejáveis (VERNAM e SUTHERLAND, 1995).

A temperatura pode acelerar ou inibir alguns efeitos durante a maturação. Um exemplo abordado por Picque et al. (2006) é o aumento de temperatura de 0 a

15°C, que degrada a α s1- caseína, assim como os níveis de nitrogênio solúvel em compostos a pH 4,4 alterando a proteólise.

A indústria sugere que a maturação de queijos ocorra em temperatura de 12°C, e a elevação de temperatura é considerada um método simples para acelerar este processo. No entanto as normas de higiene devem ser observadas, pois o aparecimento de micro-organismos contaminantes indesejáveis pode causar perda da qualidade do queijo (PACHLOVA et al., 2012). Neste caso, estabelecendo protocolos de boas práticas de fabricação, utilizando leite pasteurizado e uma estrutura física de qualidade, é possível forçar a maturação elevando a temperatura à 15°C (LAW et al., 2001). No entanto, Fox e McSweeney (1996) afirmam que esta possibilidade de acelerar a maturação com o aumento da temperatura, é uma técnica limitada, pois é improvável que todas as reações bioquímicas complexas ocorram igualmente.

1.3.6 Efeito da maturação em queijos tipo Camembert

Umidade

O queijo Camembert possui um teor de umidade relativamente alto, de aproximadamente 50% (FOX et al., 2000). A quantidade de água presente é responsável pela concentração de sólidos solúveis. A água encontrada no queijo pode aparecer de três formas diferentes: podendo estar ligada a estruturas de algum componente do coalho; retida por forças de atração das partículas do coalho e da gordura, e por fim, água livre que contém substâncias dissolvidas (SCOTT, 1991).

pH

O pH apresenta efeito de funcionalidade nas propriedades de corte e textura do queijo (WATKINSON et al., 2001).

No início da maturação o pH do queijo é próximo a 4,6-4,7 (LECLERCQ et al., 2004), devido a produção de ácido láctico pelas culturas iniciadoras (primárias) (BERESFORD et al., 2001). Conforme os dias da maturação vêm avançando, o pH tende a aumentar devido o crescimento do *P. camemberti* sobre a superfície (CALZADA et al., 2014; AMRAME et al., 1999), uma vez que este fungo consome

o lactato como fonte energética (SPINNLER e GRIPON, 2004) podendo chegar a pH 7,7 a 8,0 (LECLERCQ et al., 2004).

Textura

A textura é determinada principalmente pelos teores de umidade, gordura, tipos de carboidratos estruturais e por proteínas. As alterações de textura são causadas pela perda de umidade, gordura, formação ou quebra de emulsões e géis, hidrólise de carboidratos poliméricos, coagulação ou hidrólise de proteínas (FELLOWS, 2006).

As propriedades reológicas são afetadas durante a maturação influenciando o rendimento, teor de umidade e pH (WATKINSON et al., 2007). As condições do meio influenciam a atividade enzimática global, como o pH, atividade de água, concentração de sal e a temperatura de maturação (EARLY, 2000).

Para o desenvolvimento da textura, a atividade proteolítica é a primeira conversão das caseínas em tamanhos menores de peptídeos, os quais são hidrolisados em pesos moleculares menores. Desta forma, a caseína α_{s1} , se rompe por ação do coalho, separando em fração $\alpha_{s1}-1$; na sequência esta fração se hidrolisa em vários peptídeos (EARLY, 2000). Durante a maturação, a hidrólise da caseína afeta diretamente o desenvolvimento da textura desejada (FOX e MCSWEENEY, 1996).

Reações de Biotransformação

Durante a maturação, são importantes os processos de síntese que originam substâncias que contribuem para o sabor e aroma dos queijos. É inegável que a maturação começa com os fenômenos hidrolíticos: glicólise, proteólise e lipólise (ORDÓNEZ et al., 2005). A glicólise ocorre em dois estágios, o primeiro refere-se à glicose, a qual é fosforilada e clivada para gerar duas moléculas de triose fosfato. Este processo consome dois ATPs, (Adenosina Trifosfato), que servirão de reservatórios temporários de energia, como uma forma de investimento energético (GLASER, 2010).

No segundo estágio, duas moléculas de triose fosfato são convertidas a piruvato, com a concomitante geração de quatro ATPs. Desta forma, cada

molécula de glicose é desdobrada em duas moléculas de piruvato com liberação de hidrogênio e energia, por meio de várias reações químicas. O hidrogênio combina-se com moléculas transportadoras de hidrogênio (NAD), formando NADH₂ (GLASER, 2010). Após a glicólise, em condições de aerobiose a redução do piruvato é catalisada pela enzima lactato-desidrogenase, sendo convertido em lactato (Figura 1.1) (LEHNINGER et al., 2000).

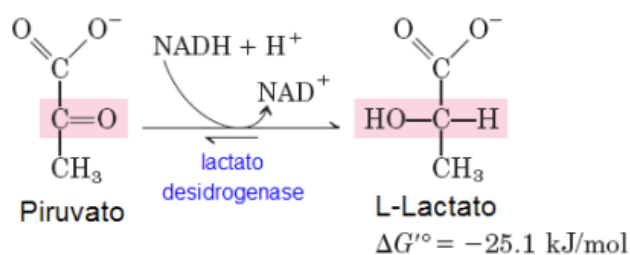


Figura 1.1: Síntese do L-lactato a partir de piruvato.
 Fonte: Lehninger et al. (2000)

O lactato pode resultar em D-lactato ou L-lactato, dependendo do cultivo iniciador. O isômero D- pode ser representado por *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, e o isômero L- por *Lactococcus*, *Streptococcus thermophilus* (McSWEENEY, 2004). Essas bactérias lácticas transportam a lactose ao seu interior por dois mecanismos: por transporte ativo com a ajuda de uma permease, ou pelo sistema fosfoenolpiruvato fosfotransferase (ORDÓNEZ et al., 2005).

O metabolismo da lactose em lactato é essencial durante a maturação de queijos (McSWEENEY e SOUSA, 2000; McSWEENEY, 2004). O lactato contribui para a acidificação do leite e da coalhada, pois produz o ácido láctico a partir de cepas selecionadas de bactérias lácticas (ORDÓNEZ et al., 2005). O desenvolvimento da cultura secundária, como exemplo o *Penicillium camemberti* presente na superfície do queijo, expõem o lactato a uma oxidação a CO₂ e H₂O, provocando aumento do pH na superfície, que leva a um gradiente de pH da superfície para o núcleo, assim como a migração do lactato para a superfície. O pH elevado na superfície também justifica a precipitação de fosfato de cálcio, que faz com que o cálcio e fosfato migrem para a superfície do queijo (McSWEENEY e SOUSA, 2000; McSWEENEY, 2004). Quando o lactato é esgotado, o

Penicillium camemberti metaboliza os aminoácidos liberando amônia (NH₃) a partir das caseínas (McSWEENEY e SOUSA, 2000).

Durante a maturação no queijo *Camembert*, o *Penicillium camemberti* é capaz de utilizar o ácido láctico e lactato como fonte de carbono, resultando em uma neutralização da pasta do queijo. Esta neutralização ocasiona um impacto muito importante sobre a textura, atividade enzimática e distribuição mineral do queijo (CERNING et al., 1987).

Entre as reações bioquímicas que ocorrem durante a maturação dos queijos, a proteólise é considerada uma das mais importantes dependendo da variedade (PIRAINO et al., 2007). É responsável por contribuir na formação de textura e desenvolvimento do sabor, com ressaltos em queijos de massa mole, como o tipo *Camembert* (BOUTROU et al., 2001). Isto se explica pela hidrólise da matriz protéica do queijo (SOUSA et al., 2001), devido ao colapso da rede de proteínas (UPADHYAY et al., 2004) como pela diminuição da atividade água por alterações na ligação à água em um grupo carboxílico e liberação de aminoácidos por hidrólise das ligações peptídicas, facilitando a liberação de água e composto sávido durante a mastigação (SOUSA et al., 2001). A formação do sabor e “off-flavor”, são atribuídos a proteólise, pela produção de pequenos peptídeos e aminoácidos livres, assim como, pela liberação de aminoácidos para mudanças catabólicas como transaminação, desaminação, descarboxilação, dessulfuração, reações de aminoácidos com outros compostos e aminoácidos aromáticos (UPADHYAY et al., 2004).

A proteólise pode ocorrer em três fases no processamento do queijo. A primeira fase é antes do processamento, proveniente da ação de proteinases naturais do leite (COSTA et al., 2009), como a plasmina, catepsina D e proteases de células somáticas (SOUSA et al., 2001).

A segunda fase ocorre durante a coagulação enzimática por adição de proteases com alta atividade em pH ácido, como a quimosina que age sobre a k-caseína hidrolisando a ligação entre os aminoácidos fenilalanina e metionina (COSTA et al., 2009). O tipo de coagulante utilizado é o que determina a origem da enzima, podendo ser a quimosina, pepsina, proteases fúngicas ou vegetais (UPADHYAY et al., 2004). E por fim, a última fase acontece durante a maturação, envolvendo as enzimas naturais do leite, bactérias coagulantes, enzimas de

bactérias lácticas, enzimas de fermentos não lácticos e enzimas de bactérias não desejadas, as quais resistem à pasteurização ou por contaminação durante o processamento. Podendo também ser catalisadas por enzimas presentes nas culturas iniciadores, culturas secundárias, proteases exógenas ou peptidases (COSTA et al., 2009; SOUSA et al., 2001). As culturas iniciadoras são as principais fontes de peptidases em queijos, responsáveis pela hidrólise de peptídeos curtos e a liberação de aminoácidos (UPADHYAY et al., 2004).

As caseínas e gordura do leite são separadas entre o coágulo e soro, formados durante a produção do queijo. A separação da caseína do leite está organizada em micelas que se mantêm em suspensão coloidal. A caseína é uma mistura de fosfo-proteínas semelhantes a α_{s1} , α_{s2} , β e κ -caseína. As micelas contêm em sua fração interna as caseínas fosfatadas, que precipitam na presença de cálcio e, em sua parte externa a κ -caseína, que é estável ao cálcio e protetora do estado coloidal das outras frações (KOBLOITZ, 2010).

Em decorrência da proteólise não específica em níveis elevados, podem ocorrer alterações nas propriedades reológicas, sensoriais, como também a diminuição do rendimento do queijo, reflexo da perda de substâncias nitrogenadas e gordura para o soro (VASCONCELOS et al., 2004).

A análise da extensão da proteólise e agentes proteolíticos pode ser realizada pela determinação de nitrogênio solúvel por Kjeldahl (AOAC, 1995; MALLATOU et al., 2004), porém não se caracteriza a evolução de peptídeos durante a maturação, para isso, há técnicas de eletroforese e cromatográficas (MALLATOU et al., 2004; BONTINIS et al., 2012; HAYALOGU et al., 2013) espectrometria de massa (PÉRES et al., 2002; PIRAINO et al., 2007) e espectrometria de infravermelho (MARTÍN-del- CAMPO et al., 2007).

A presença de enzimas lipolíticas (esterases ou lipases) durante a lipólise se diferenciam pelo comprimento da cadeia de éster de ácidos graxos hidrolisados, natureza físico-química do substrato e cinética enzimática (COLLINS et al., 2003). A lipólise resulta da ação de lipases que catalisam a hidrólise de óleos e gorduras, liberando ácidos graxos livres, diacilgliceróis, monoacilgliceróis e glicerol.

A lipase pode estar presente no queijo por meio do leite, coalho, culturas iniciadoras e culturas secundárias (McSWEENEY e SOUSA, 2000). Na maturação de queijos Camembert, são produzidas lipases extracelulares que liberam ácidos

graxos, obtendo aromas e sabores característicos (McSWEENEY, 2004; KOBLITZ, 2010). A lipase é importante em queijos fabricados a partir de leite cru, comparados com queijos fabricados com leite pasteurizado, pois esta enzima é inativada durante o processo térmico (McSWEENEY, 2004). A primeira transformação ocasionada na lipólise é a hidrólise de seus triglicerídeos com liberação de ácidos graxos, que contribuem para a formação de sabor e aromas (ORDÓÑEZ et al., 2005), em particular os ácidos butírico e cáprico (McSWEENEY, 2004). O método mais utilizado para quantificar os níveis de ácidos graxos é a cromatografia em fase gasosa (CG) (COLLINS et al., 2003; BONTINIS et al., 2012; WOLF et al., 2010).

Aspectos sensoriais

Acredita-se que o sabor do queijo varia dependendo do leite utilizado, teor de gordura, pasteurização, micro-organismos, maturação e outras questões, incluindo a origem do queijo (KOPPEL e CHAMBERS, 2012).

O sabor evidente e característico se origina pela ação enzimática e transformações químicas. A degradação de proteínas do leite, gordura, lactose e citrato durante a maturação, desenvolve compostos voláteis e não voláteis, os quais beneficiam a formação do sabor (VITOVA et al., 2006).

Os aminoácidos desenvolvem algumas características no paladar quanto ao amargor, são eles: metionina, histidina, lisina, triptofano, leucina, isoleucina, arginina, fenilalanina e tiramina (SCOTT, 1991). Vasconcelos et al., (2004) afirma que o desenvolvimento do amargor durante a maturação, assim como modificações indesejáveis na textura do queijo são consequência de uma taxa maior de proteólise, liberando excessivamente peptídeos de baixo peso molecular. Na Figura 1.2 pode ser observado um esquema geral da degradação de aminoácidos em queijos.

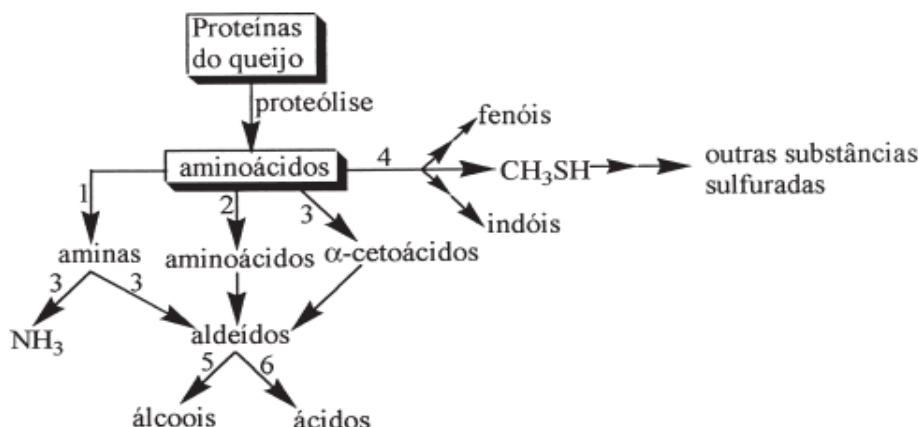


Figura 1.2: Esquema geral de proteólise decorrente da ação microbiana durante a maturação de queijos.

Nota: 1= descarboxilação; 2=transaminações; 3= desaminações oxidativas; 4 = degradações; 5=reduções; 6=oxidações. Fonte: Perry (2004).

Os compostos voláteis formados na maturação são os que determinam o aroma. Entre eles encontram-se os ésteres, ácidos graxos, aldeídos, cetonas, álcoois, dióxido de enxofre e amônia (SCOTT, 1991).

Mais de cem compostos voláteis foram identificados, sendo sugeridos maiores notas ao octenol (responsável pelo odor cogumelo), álcool fenetílico, acetato de fenetila (odor floral) e alguns compostos de enxofre. Estas sugestões foram baseadas em observações de que a qualidade do odor destes compostos concordou com o odor perceptível no perfil do aroma do queijo (DUMONT et al., 1974; DUMONT et al., 1976; MAARSE et al., 1994).

1.3.7 Aspectos fisiológicos dos fungos

Os fungos se diferem na taxonomia por diferentes conceitos, baseados em características fenotípicas e moleculares (BOURDICHON et al., 2012). Determinados micro-organismos presentes em alguns alimentos, causam alterações benéficas modificando características originais de alguns produtos, o que difere de micro-organismos patogênicos e deteriorantes (FRANCO e LANDGRAF, 2008).

A *European Food and Feed Cultures Association* (EFFCA), define os micro-organismos alimentares, como bactérias vivas, que fermentam e originam produtos alimentícios. A aplicação de micro-organismos em alimentos vem crescendo consideravelmente, resultado de uma expansão em mudanças

taxonômicas e nas descrições das espécies que são importantes nas fermentações e utilizadas como inoculantes (BOURDICHON et al., 2012).

A classificação de um fungo depende da natureza do estágio sexual no seu ciclo de vida e no tipo de hifas. Deste modo, são classificados em cinco filos: Filo Cythridiomycota, Filo Zygomycota, Filo Ascomycota, Filo Basidiomycotae, Filo Deuteromycota (BLACK, 2002). O filo de maior interesse para o presente trabalho é o Filo Ascomycota, chamado vulgarmente por “fungo em forma de saco”, contendo mais de 3.000 espécies (BLACK, 2002).

De forma generalizada, os Ascomycetos se reproduzem por esporulação assexuada, formando esporos, chamados de conídios. Em condições favoráveis para seu desenvolvimento, cada conídio é capaz de produzir um jovem micélio (KRASNIEWSKI et al., 2006). As células do micélio podem liberar algumas enzimas que digerem a superfície na qual o fungo cresce, e absorvem pequenas moléculas que servem de nutrientes (BLACK, 2002). O micélio é formado pelo conjunto de hifas, que segundo Rezende (2006), cresce por alongamento das extremidades, podendo alongar para formar uma nova hifa caso a mesma seja fragmentada.

Na fase sexuada, uma cepa possui um ascogônio e uma cepa adjacente possui um anterídio de tamanho menor. Estas estruturas se unem, os núcleos se fundem, e as células das hifas com núcleos dicarióticos se desenvolvem a partir da fusão. Em certo momento, os núcleos dicarióticos se fundem, formando um zigoto, e o núcleo do zigoto se divide em oito núcleos dentro de cada asco. Cada asco forma oito ascósporos, que podem algumas vezes ser expelidos (BLACK, 2002).

Os fungos filamentosos presentes em queijos com mofo branco, são pertencentes ao gênero *Penicillium*. O gênero *Penicillium* possui um micélio septado, onde suas hifas são divididas em células que se intercomunicam através de poros. Sua reprodução pode ser assexuada ou sexuada. A fase assexuada se dá a partir de conídios (esporos), que são produzidos em cadeia na extremidade de um conidióforo (FOX et al., 2000). A reprodução assexuada está relacionada com a divisão celular mitótica, ocorrendo por brotamento, no qual a célula parental forma um broto na sua superfície externa. À medida que o broto se

desenvolve, o núcleo da célula parental se divide e um dos núcleos migra para o broto (REZENDE, 2006).

Segundo Moreau (1979), em 1809 o gênero *Penicillium* era subdividido em três espécies: *Penicillium glaucum* (com características azul-verde), *Penicillium candidum* (com característica de cor branca) e *Penicillium expansum*. Em 1949 mais duas espécies com mofo branco foram identificadas, o *Penicillium camemberti* (com característica de mofo branco e ligeiramente cinza) e o *Penicillium caseicolum* (MOREAU, 1979). Pitt et al. (1986), sugerem que o *Penicillium camemberti* presente em queijos com mofo branco seja uma forma domesticada de *Penicillium commune*. Frisvad e Samson (2004), afirmam que o *Penicillium camemberti* apresenta colônias brancas e um micélio com aparência aveludada, como apresentado na Figura 1.3.

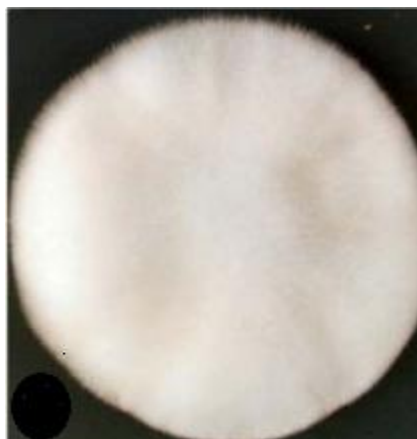


Figura 1.3: Aspecto aveludado do micélio do *P. camemberti*.
Fonte: Frisvad e Samson (2004)

O *Penicillium camemberti* tem sido submetido a programas de mutagênese, passando por seleções com objetivo de melhorar a textura, cor do micélio e características fisiológicas para a fabricação de queijos (ROPARS et al., 2012). Para isso, as indústrias de laticínios fazem a aquisição de esporos, os quais são comercializados como concentrado em suspensão estabilizada ou na forma liofilizada, podendo ser adicionado ao leite ou aspergido na superfície (KRANIEWSKI et al., 2006).

Os esporos obtidos em laboratórios, não tem o mesmo estado fisiológico daqueles encontrados em ambientes naturais. O estado fisiológico pode ser influenciado pela idade do esporo, fase e condições de esporulação e re-

hidratação (DANTIGNY e NANGUY, 2009). Em um trabalho realizado recentemente por Ropars et al. (2012), foram isolados de 133 amostras de queijos fornecidos por produtores e 97 amostras selecionadas a partir de coleções públicas (incluindo diferentes ambientes). Os autores concluíram que o *Penicillium camemberti* não foi encontrado em diferentes produtos lácteos, diferente de alguns fungos, o que pode ser provável que *Penicillium camemberti* é adaptado a um único alimento.

Nas fichas técnicas desses esporos comercializados, há informações como tolerância ao sal, atividade proteolítica e lipolítica, formação de alguns compostos aromáticos e tolerância à temperatura, porém essas informações parecem ser esporádicas e nenhuma informação sobre as características de interação é fornecida (DECKER e NIELSEN, 2005). Após alguns dias de maturação, uma camada densa de micélio se desenvolve, o que proporciona uma proteção a certos micro-organismos indesejados (BOCKELMANN et al., 1999).

Estudos em micologia, tem se preocupado com os efeitos ambientais, atividade água, temperatura, pH, atmosfera modificada, demonstrando efeitos que retardam ou inibem a esporulação (DANTIGNY e NANGUY, 2009). Alguns estudos demonstram que a esporulação pode ser melhorada por adição de cálcio, fonte de nitrogênio, inibição de glicose em níveis de derivados do ciclo de Krebs. A concentração de nitrogênio desempenha um papel essencial na esporulação, como demonstrado no trabalho de Krasniewski et al. (2006), no qual a esporulação foi estimulada por nitrato de potássio (KNO_3) enquanto o sulfato de amônio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ foi inibitório.

CAPÍTULO II: IMPACTO DE DIFERENTES CULTURAS PRIMÁRIAS E DE CONCENTRAÇÕES DE SALGA NO DESENVOLVIMENTO DO MICÉLIO SUPERFICIAL EM QUEIJOS TIPO CAMEMBERT

IMPACTO DE DIFERENTES CULTURAS PRIMÁRIAS E DE CONCENTRAÇÕES DE SALGA NO DESENVOLVIMENTO DO MICÉLIO SUPERFICIAL EM QUEIJOS TIPO CAMEMBERT

RESUMO

No processamento do queijo tipo Camembert a cultura lática e a concentração de sal na salga podem interferir no crescimento do micélio do mofo branco e na qualidade do produto final. O objetivo deste trabalho foi avaliar a aplicabilidade de diferentes culturas primárias, e diferentes concentrações de sal durante o processamento de queijo tipo Camembert. Foram avaliadas culturas primárias mesofílica homofermentativa e heterofermentativa e termofílica; e concentrações de salmoura de 15, 20, 25 e 29° Brix no processo de salga de queijo tipo Camembert. Foram realizadas análises físico-químicas, análise colorimétrica e perfil de textura nas amostras durante 15 dias de maturação. O índice de brancura foi eficaz para comprovar o aparecimento do micélio superficial e estabilidade do crescimento do mofo branco, onde os queijos com cultura termofílica apresentaram ganho de um dia, comparada com os queijos inoculados com as culturas mesofílicas. Com a análise de perfil de textura, foi possível concluir que o parâmetro de resiliência foi o qual apresentou maior variação durante a maturação, reduzindo 2,3% para os queijos com cultura mesofílica homofermentativa, e 23% para a cultura termofílica, sendo o único parâmetro que apresentou diferença significativa durante a maturação. As diferentes concentrações de sal aplicadas durante a salga, provocaram diferenças significativa entre os teores de umidade, proteína, extrato seco, cinzas, cloreto de sódio e sódio, embora não tenham interferido no fechamento superficial do micélio. Desta forma, para as condições de processamento utilizadas neste trabalho a cultura termofílica foi a mais interessante no aspecto de fechamento do micélio. As diferentes concentrações de salmoura não afetaram a atividade das bactérias mesofílicas e termofílicas e nem o desenvolvimento do *P. candidum*, mas podem influenciar o aspecto sensorial do produto.

Palavras chaves: *Penicillium candidum*, processamento, culturas láticas, sal, maturação.

IMPACT OF DIFFERENT PRIMARY CULTURES AND THE CONCENTRATION OF SALGA ON THE DEVELOPMENT OF THE SUPERFICIAL MYCELIUM IN CHEESE TYPE CAMEMBERT

ABSTRACT

In the processing of the cheese type Camembert starter cultures, and the concentration of salt in salting may interfere with the growth of the mycelium white mold and the quality of the final product. The objective of this study was to evaluate the applicability of different primary cultures, and different salt concentrations during processing of cheese type Camembert. Primary cultures mesophilic homofermentative and heterofermentative and thermophilic were evaluated; and salt concentrations of 15, 20, 25 and 29° Brix in the curing process of Camembert cheese type. Physical and chemical analysis, ripening index, colorimetric analysis and texture profile in the samples for 15 days of ripening were performed. The whiteness index was effective to check the appearance of the surface of the mycelium and stability of the white mold growth, where the cheeses with culture thermophilic had gained one day, compared with cheese inoculated with the mesophilic cultures. With the texture profile analysis, it was concluded that the resilience parameter was the one that showed the greatest variation during ripening, reducing 2.3% for cheeses with homofermentative mesophilic culture, and 23% for the thermophilic culture. The different concentrations of salt applied during brine, showed significant differences ($p < 0.05$) between the moisture, protein, dry matter, ash, sodium and sodium chloride, although they did not interfere in the superficial closure of mycelium. Accordingly, for the processing conditions used in this work the thermophilic culture of the mycelium was the most interesting aspect of closure. Different concentrations of salt did not affect the activity of mesophilic and thermophilic bacteria or the development of *P. candidum*, but can influence the sensory appearance of the product.

Keywords: *Penicillium candidum*, processing, lactic cultures, salt, ripening.

2.1 INTRODUÇÃO

A qualidade do queijo tipo Camembert esta relacionada com as matérias primas utilizadas durante o processo, que consistem basicamente em leite, micro-organismos desejáveis, coalho, sal e *Penicillium candidum*. Estes participam das reações bioquímicas que contribuem para a formação das características peculiares durante a maturação. As principais alterações bioquímicas envolvem a conversão da lactose em ácidos orgânicos, hidrólise de proteínas e lipídeos, e a produção de componentes voláteis de aroma (HAYALOGLU et al., 2013).

Entre os micro-organismos adicionados na forma de cultura primária em queijos, estão bactérias mesofílicas e termofílicas, que diferenciam-se por apresentar temperaturas ótimas de desenvolvimento em 30 e 42 °C, respectivamente (BERESFORD et al., 2001). No entanto, para a produção de queijos Camembert utiliza-se frequentemente os mesofílicos (MICHALSKI et al., 2003; LECLERQ- PERLAT et al., 2004; LECLERQ- PERLAT et al., 2006; CALZADA et al., 2014).

A cultura secundária, pela aplicação do fungo *Penicillium camemberti*, desenvolve na superfície do queijo, um micélio branco após o sétimo (7º) dia de maturação, o qual metaboliza o lactato, desacidificando a superfície e produzindo amônia (NH₃) (BERESFORD et al., 2001). Além da aplicação de *Penicillium camemberti*, outras cepas podem ser inoculadas para a maturação de queijo tipo Camembert, como o *Geotrichum candidum*, *Kluyveromyces lactis* e *Debaryomyces hansenii* (LESSARD et al., 2012).

O controle de bactérias primárias e *non-starter*, atividade enzimática e inibição do crescimento de patógenos são influenciados pelo pH, atividade de água, potencial redox e concentração de sal. O processo de salga nos queijos é essencial para o processamento, pois entre as várias funcionalidades geradas por sua aplicação, pode ainda acentuar o sabor do produto (CRUZ et al., 2011).

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação de culturas primárias mesofílica homofermentativa, mesofílica heterofermentativa e termofílica e diferentes concentrações de sal na salmoura no processamento do queijo tipo Camembert, a fim de avaliar a composição

química, parâmetros instrumentais e crescimento do micélio superficial do *P. candidum* durante o período de maturação.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Material

Foi utilizado leite bovino da raça Holandesa, adquirido da Fazenda Escola Capão da Onça (FESCON) pertencente a Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), localizada na estrada Ponta Grossa/Itaiacoca, Km 7 (25° 05' 42" S 50° 09' 43" O). Foram utilizadas culturas primárias mesofílicas homofermentativas contendo *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (MO32, Sacco® Brasil), e heterofermentativas contendo *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *Diacetylactis* e *Leuconostoc* (MO36, Sacco® Brasil) e cultura termofílica, contendo *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sp. (YO-MIX 495 LYO, Danisco, Canadá). Como cultura secundária utilizou-se o *Penicillium candidum* 35V (Sacco® Brasi).

2.2.2 Métodos

Processamento dos queijos

A preparação do queijo tipo *Camembert* foi realizada na planta piloto da Escola Tecnológica de Leite e Queijos dos Campos Gerais (ETLQueijos), pertencente ao curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG). Foram realizados dois (2) experimentos, denominados como CQ01 e CQ02. Nos dois (2) experimentos, o tratamento térmico do leite ocorreu em pasteurizador de placas (Mec Milk) à 73 °C durante 15 segundos. Na sequência, o leite de cada experimento, foi resfriado a 34 °C em tanques de aço inoxidável (AISI 304) e dividido em bateladas. Foi utilizado 0,04% de cloreto de cálcio (Synth) a 50%, e 1,6% de coalho (enzima quimosina em pó – Chr Hansen). Após a formação da coalhada, a massa foi cortada com o auxílio de liras em inox no sentido vertical e horizontal seguida de agitação lenta por

30 min, até a percepção de rigidez dos cubos de 2 cm³. Nesse período de agitação a temperatura foi controlada até alcançar 36 °C.

Em seguida, a coalhada foi enformada (formas de 14 cm de diâmetro e 10 cm de altura, (modelo RP-500, Jandaplast®), com utilização de morim para auxiliar a retirada do soro. O período da prensagem se estendeu por 6 horas, considerando uma prensagem com aproximadamente 1,0 kg, realizando duas (2) viragens na massa, a primeira após trinta minutos (30 min) da enformagem e a outra após sessenta minutos (60 min) da primeira viragem. Terminadas as viragens (após duzentos e setenta minutos (270 min) da segunda viragem), foi retirado o dessorador e as peças permaneceram em câmara de maturação (Mec Milk) com controladores automatizados (modelo N322RHT, NOVUS) para uma primeira fermentação “overnight”, por 12 horas em temperatura de 12°C sem controle da umidade relativa.

Em seguida os queijos foram salgados em salmoura. Na sequência os queijos retornaram para a câmara de maturação, onde receberam em toda a superfície a aspersão de solução com água deionizada salina 0,9 %, contendo esporos liofilizados e biomassa microfragmentada de *Penicillium candidum*. A maturação ocorreu durante 15 dias em temperatura de 14°C e umidade relativa de 90 % no início da maturação, elevada para 94 % após a visualização do mofo branco.

Aplicação das culturas primárias (CQ01).

Para a realização do experimento, foram pasteurizados 150 litros de leite e divididos em três (3) bateladas, obtendo-se dezesseis (16) peças de queijos em cada batelada. Esta divisão possibilitou avaliar três (3) culturas primárias. Na primeira batelada foi adicionada cultura láctea mesofílica homofermentativa (QMO), na segunda batelada cultura láctea heterofermentativa (QMLD) e na terceira batelada cultura láctea termofílica (QT), ambas com inóculo de 1%. As peças de queijos foram salgadas em salmoura com concentração de 21° Brix, submersos durante 60 minutos. Cada peça de queijo recebeu uma aspersão na sua superfície de 7 ml de solução, contendo $2,0 \cdot 10^6$ de esporos liofilizados de *Penicillium candidum*, quantificados por contagem em câmara de Neubauer.

Aplicação das concentrações de salmoura (CQ02).

Para a realização deste experimento, foram pasteurizados 100 litros de leite, obtendo trinta e duas (32) peças de queijos. Foi inoculado 1% da cultura termofílica. Quando se obteve o queijo fresco, as peças de queijos foram divididas em quatro (4) bateladas. Cada batelada ou experimento foi submersa em concentração de salmoura de 15, 20, 25 e 29 °Brix durante 60 minutos. Na sequência, cada peça de queijo recebeu uma aspersão de solução contendo $2,0 \cdot 10^6$ esporos liofilizados de *Penicillium candidum*, quantificados por contagem em câmara de Neubauer.

Análises físico-químicas e Instrumentais

No recebimento do leite foram realizadas análises de pH, utilizando pHmetro de bancada (Hanna, modelo pH 21), acidez como descrita na AOAC (1995), extrato seco pelo método gravimétrico de secagem em estufa à 105 °C até peso constante, e cinzas por incineração em mufla (Coel, modelo TLK 49), à 550 °C por seis horas (IAL, 2008). O teor de gordura foi determinado em butirômetro de Gerber e as proteínas totais pelo método de micro Kjeldahl, obtendo o nitrogênio total e convertendo para proteínas totais utilizando o fator 6,38 (AOAC, 1995). O teor de lactose foi determinado por analisador de leite (Mater Classic AKSO®). A contagem de células somáticas foi realizada pela Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH), Curitiba, Pr.

As análises nos queijos foram realizadas nos tempos 0, 5, 10 e 15 dias de maturação. O tempo zero corresponde à peça do queijo antes de receber a aspersão da solução contendo *P. candidum*. O teor de gordura foi determinado em butirômetro de Gerber especial para queijo. A proteína total foi analisada pelo método de micro Kjeldahl, convertido com o fator 6,38 (AOAC, 1995). O extrato seco e umidade foram obtidos pelo método gravimétrico de secagem em estufa à 105 °C até peso constante e as cinzas por incineração em mufla (Coel, modelo TLK 49), a 550°C por seis horas (IAL, 2008). O cloreto de sódio e sódio foram determinados pelo método descrito por Barbano (1991). A concentração de tirosina foi obtida através de método espectrofotométrico de

Vakaleris-Prince (1959). O perfil de textura foi analisado instrumentalmente com texturômetro (TA. *XTPlus Texture Analyser*, Stable Micro Systems, UK), utilizando probe cilíndrico P36B, considerando a dureza, elasticidade, coesividade, gomosidade, mastigabilidade e resiliência.

Durante a maturação foram realizadas diariamente análises colorimétricas em duas (2) peças de queijos de cada batelada. Para análise de cor pelo sistema CIE L^* , a^* , b^* , as peças foram divididas em quatro quadrantes, incluindo as duas superfícies (superior e inferior), e realizadas as leituras pelo colorímetro (MiniScan EZ, Hunter Lab, US), calibrado imediatamente antes das análises (ROMANI et al., 2002). Os resultados foram expressos em índice de brancura (WI – “whiteness”) utilizando a Equação 2.1, descrita por Rocha et al. (2007), no qual branco total corresponde a 100:

$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}} \quad (2.1)$$

2.2.3 Análise Estatística

Os dados foram apresentados como média $\pm$ desvio padrão, sendo realizado teste de Levene para avaliar sua homogeneidade, considerando paramétrico o valor de $p > 0,05$. Em seguida, os dados paramétricos foram analisados pela análise de variância (ANOVA), considerando o valor de $p \leq 0,1$; 0,05 e 0,01. Complementada com o teste de comparação de médias de Fischer LSD. Para isso, foi utilizado *software Statistica* (versão 7.0) e *ACTION* (versão 2.5).

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os principais parâmetros de qualidade do leite (média $\pm$ desvio padrão) utilizados nos processamentos dos queijos tipo Camembert podem ser observados na Tabela 2.1. Os parâmetros de pH e gordura apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre os dois lotes de leite CQ01 e CQ02.

Os valores obtidos estão de acordo com a legislação vigente para leite cru refrigerado (Instrução Normativa 62/2011), exceto para a análise de gordura (CQ02), que deveria conter no mínimo 3,0 g/100mL. Isso pode ter ocorrido

devido a época do ano (outono), com efeitos de temperatura, umidade e alimentação animal (YANG et al., 2013; CHEN et al., 2014).

Tabela 2.1: Composição físico-química do leite em diferentes períodos (CQ01 e CQ02) utilizado nos experimentos de processamento de queijo tipo Camembert.

Parâmetros Analíticos, g/100mL	Experimentos		IN 62 (2011)
	CQ01	CQ02	
pH*	6,70 ± 0,03 ^a	6,60 ± 0,01 ^b	-
Acidez**	0,16 ± 0,07	0,16 ± 0,05	0,14 a 0,18
Gordura	3,38 ± 0,50 ^a	2,73 ± 0,06 ^b	min. 3,0
Proteína	3,03 ± 0,15	3,11 ± 0,32	min. 2,9
Lactose	4,55	4,50	-
ESD	11,56 ± 0,78	11,32 ± 0,16	min. 8,4
Cinzas	0,84 ± 0,18	0,75 ± 0,01	-
CCS***	214.000	272.000	max. 400.000

Nota: IN 62/2011: Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado;^{abc} letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as amostras de leite dos experimentos CQ01 e CQ02 (Teste de Fischer, $p < 0,05$); (*) adimensional; (**)g de ácido láctico/100mL; ESD: extrato seco desengordurado;***contagem de células somáticas por mL.

Na Tabela 2.2, podem ser observados os resultados das análises físico-químicas durante quinze (15) dias de maturação para os queijos elaborados com três diferentes culturas primárias, as quais apresentaram diferença significativa ($p < 0,1$) para os teores de umidade, gordura, extrato seco total, cinzas, cloreto de sódio e sódio. Durante quinze (15) dias de maturação a umidade reduziu 14,45; 25,24 e 6,44% para as bateladas que continham culturas QMO, QMLD e QT, respectivamente. Essa redução da umidade é indicativo da difusão da água do queijo para o ambiente (LECLERCQ-PERLAT et al., 2013). A perda umidade das amostras está relacionada com a pequena dimensão da câmara de maturação, da ventilação da refrigeração estar no teto da câmara e de não ter sido feito o rodízio de prateleiras. Em função disso, foram observados aumentos proporcionais nos teores de proteínas, gorduras, extrato seco, cinzas, cloreto de sódio e sódio (Tabela 2.2).

O maior índice de tirosina foi encontrado para o experimento QT, indicando maior proteólise durante a maturação, alcançando o teor de 127,57 mg/100g de tirosina.

Tabela 2.2: Efeito da inoculação de diferentes culturas primárias nas características físico-químicas de queijos tipo Camembert durante 15 dias de maturação.

Parâmetros Analíticos	Culturas	Período de Maturação (d)				p
		0	5	10	15	
Umidade (g/100g)	QMO	49,55±0,10 ^{ab}	47,42±0,27 ^{bc}	45,21±0,39 ^c	42,39±0,66 ^{dAB}	*
	QMLD	54,91±0,39 ^{aA}	49,89±0,21 ^{bA}	47,11±2,38 ^c	41,05±1,03 ^{dB}	*
	QT	46,29±0,29 ^{cC}	48,76±0,30 ^{Bb}	43,43±1,93 ^a	43,31±0,99 ^{aA}	*
p		*	*	ns	***	
Proteína (g/100g)	QMO	22,86±1,87 ^A	24,65±1,76 ^A	23,64±0,53 ^A	24,83±0,98	ns
	QMLD	19,85±1,32 ^{bB}	21,59±0,65 ^{aB}	23,80±0,39 ^{CA}	25,11±0,39 ^c	*
	QT	22,28±0,98 ^{cab}	19,44±0,42 ^{bB}	22,35±0,70 ^{cB}	24,04±0,98 ^a	*
p		***	*	**	ns	
Tirosina (mg/100g)	QMO	14,10±2,19 ^{cB}	43,97±2,00 ^{bc}	105,118±5,57 ^{aC}	nd	*
	QMLD	35,37±3,79 ^{bA}	144,70±20,39 ^{CA}	178,79±20,39 ^{aA}	119,26±16,45 ^c	*
	QT	6,00±1,00 ^{dC}	94,20±6,98 ^{cB}	158,22±8,38 ^{aB}	127,57±19,78 ^b	*
p		*	*	*	ns	
Gordura (g/100g)	QMO	23,50±0,50 ^{bB}	24,50±1,32 ^{ab}	23,17±0,29 ^{bC}	26,17±1,04 ^{aB}	**
	QMLD	20,0±0,00 ^{BC}	24,67±0,76 ^c	25,33±0,58 ^{cB}	28,67±1,15 ^{aB}	*
	QT	27,50±0,50 ^{CA}	25,67±0,58 ^b	27,67±0,29 ^{CA}	31,33±1,53 ^{aA}	*
p		*	ns	*	*	
Extrato Seco Total (g/100g)	QMO	50,45±0,10 ^{dB}	52,58±0,26 ^{CA}	54,79±0,39 ^b	57,61±0,66 ^{aAB}	*
	QMLD	45,09±0,39 ^{dC}	50,11±0,21 ^{cC}	52,89±2,38 ^b	58,95±1,03 ^{aA}	*
	QT	53,71±0,29 ^{aA}	51,24±0,30 ^{bB}	56,57±1,93 ^c	56,69±0,99 ^{cB}	*
p		*	*	ns	***	
Cinzas (g/100g)	QMO	3,28±0,08 ^{bcA}	3,44±0,04 ^{abA}	3,23±0,16 ^{dB}	3,55±0,07 ^{aB}	**
	QMLD	3,17±0,03 ^{bB}	3,46±0,02 ^{aA}	3,73±0,10 ^{CA}	3,82±0,06 ^{CA}	*
	QT	2,78±0,02 ^{bA}	2,80±0,06 ^{bB}	3,24±0,08 ^{aB}	3,17±0,04 ^{aC}	*
p		*	*	*	*	
Cloreto de Sódio (g/100g)	QMO	1,0±0,21 ^A	1,18±0,02 ^B	1,17±0,22 ^B	1,18±0,05 ^B	ns
	QMLD	0,71±0,01 ^{dB}	1,31±0,03 ^{aA}	1,76±0,18 ^{CA}	1,52±0,03 ^{CA}	*
	QT	0,44±0,05 ^{bC}	0,92±0,03 ^{aB}	1,11±0,00 ^{cB}	1,08±0,02 ^{cC}	*
p		*	*	*	*	
Sódio (mg/100g)	QMO	0,16±0,03 ^A	0,19±0,01 ^B	0,19±0,03 ^B	0,19±0,01 ^B	ns
	QMLD	0,11±0,01 ^{dB}	0,21±0,01 ^{CA}	0,28±0,03 ^{aA}	0,24±0,01 ^{bA}	*
	QT	0,07±0,01 ^{cC}	0,15±0,01 ^{bC}	0,18±0,01 ^{aB}	0,17±0,01 ^{aC}	*
p		*	*	*	*	

Nota: ^{abc} Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os dias de maturação (Teste de Fischer, * p <0,01; **p<0,05; ***p<0,1); ^{ABC} Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as culturas QMO, QMLD e QT (Teste de Fischer, * p <0,01; **p<0,05; ***p<0,1); nd: não detectado; ns: não houve diferença significativa.

Os parâmetros de textura analisados (Tabela 2.3) apresentaram diferença significativa entre as amostras com diferentes culturas (p<0,01) após 15 dias de maturação, apenas para o parâmetro resiliência. Durante os dias de maturação, os parâmetros que apresentaram diferença significativa (p<0,05) foram a coesividade para os experimentos QMO e QMLD, e o parâmetro resiliência para QMO e QT. A maior diferença encontrada ocorreu para o parâmetro resiliência no experimento com o inóculo QT, que diminuiu aproximadamente 28% durante a maturação, enquanto que para o experimento com a cultura QMO diminuiu 2,3%. Isso pode ser explicado pelo teor de umidade do queijo, pois o parâmetro resiliência e mastigabilidade tende a diminuir com o aumento da umidade (SINGH et al., 2013).

Tabela 2.3: Efeito da inoculação de diferentes culturas primárias no perfil de textura de queijos tipo Camembert.

Perfil de Textura	Culturas	Período de Maturação (d)		p
		0	15	
Dureza (N)	QMO	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01	ns
	QMLD	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01	ns
	QT	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01	ns
p		ns	ns	
Elasticidade	QMO	0,83 ± 0,01 ^B	0,76 ± 0,10	ns
	QMLD	0,82 ± 0,01 ^B	0,80 ± 0,04	ns
	QT	0,86 ± 0,02 ^A	0,84 ± 0,11	ns
p		*	ns	
Coesividade	QMO	0,80 ± 0,01 ^{aA}	0,76 ± 0,01 ^b	*
	QMLD	0,78 ± 0,01 ^{aB}	0,75 ± 0,01 ^b	**
	QT	0,81 ± 0,01 ^A	0,77 ± 0,04	ns
p		*	ns	
Gomosidade	QMO	2,41 ± 0,35	2,41 ± 0,62	ns
	QMLD	2,21 ± 0,26	2,19 ± 0,04	ns
	QT	2,31 ± 0,37	2,19 ± 0,26	ns
p		ns	ns	
Mastigabilidade	QMO	2,00 ± 0,30	1,85 ± 0,64	ns
	QMLD	1,82 ± 0,19	1,76 ± 0,07	ns
	QT	2,00 ± 0,36	1,86 ± 0,44	ns
p		ns	ns	
Resiliência	QMO	0,44 ± 0,01 ^{aAB}	0,43 ± 0,01 ^{bA}	**
	QMLD	0,43 ± 0,01 ^B	0,40 ± 0,01 ^B	ns
	QT	0,46 ± 0,01 ^{aA}	0,33 ± 0,01 ^{bC}	*
p		*	*	

Nota: ^{abc} Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre dias de maturação (Teste de Fischer, *p <0,01; **p<0,05); ^{ABC} Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as culturas QMO, QMLD e QT (Teste de Fischer, * p <0,01); ns: não houve diferença significativa.

O fechamento superficial do micélio foi monitorado pela análise colorimétrica através do índice de brancura (WI) e pelo valor de b* que corresponde à cor amarela (+) para azul (-) (Figura 2.1). O valor de b* indica a perda da cor amarela do queijo oriunda dos carotenóides (NOIZIÉRE et al., 2006), o qual diminuiu a partir do quinto (5º) dia, com estabilidade a partir do oitavo (8º) dia, devido o crescimento do micélio superficial. Este resultado pode ser comprovado pelo índice de brancura, onde o valor de 100 corresponde ao branco total (ROCHA et al., 2007). O WI começou a aumentar seus valores a partir do quinto (5º) dia de maturação para os queijos com inóculo QT. A estabilização dos valores de b* e WI indicam o fechamento do micélio. Esta técnica colorimétrica é rápida, de baixo custo e não destrutiva.

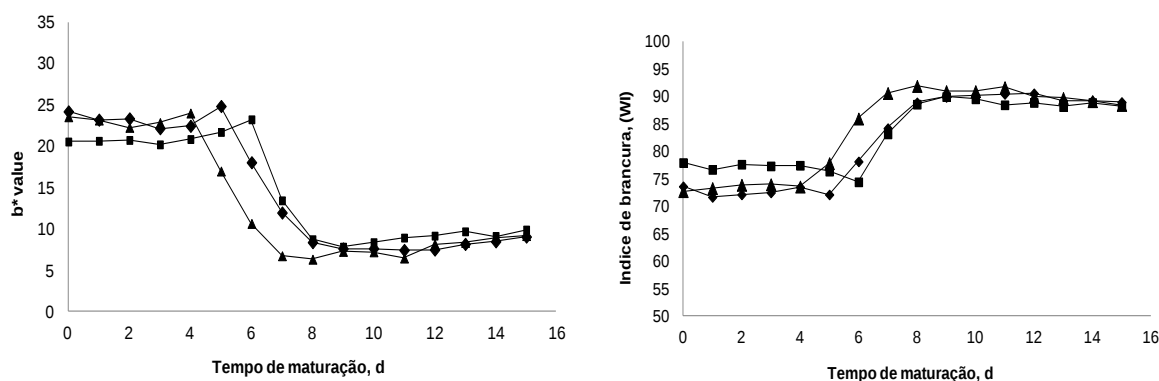


Figura 2.1: Redução da cor amarela (b^*) e aumento do índice de brancura (WI) em função do crescimento superficial do fungo *P. candidum* em queijos tipo Camembert; (♦) cultura homofermentativa - QMO, (■) cultura heterofermentativa - QMLD, (▲) cultura termofílica - QT.

Na Tabela 2.4, podem ser observados os resultados das análises físico-químicas de queijos tipo Camembert, que foram submetidos ao processamento de salga em salmoura (60 min) com diferentes concentrações de sal (15, 20, 25 e 29 °Brix), os quais apresentaram diferença significativa ($p < 0,1$) para os teores de umidade, proteína, tirosina, extrato seco total, cinzas, cloreto de sódio e sódio. Uma alternativa para reduzir os contaminantes é o teor de cloreto de sódio (sal) utilizado no processo. Ele não apenas controla o crescimento microbiano, como a atividade enzimática, sinérese da coalhada e influencia nas propriedades físicas das proteínas (GUINE e FOX, 2004).

Os teores de umidade durante quinze (15) dias de maturação apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) para as concentrações de 15, 20 e 25° Brix, sendo reduzido 4,6 % para a concentração 15° Brix e 3,3 % para 25° Brix e um aumento de 1,9% para a concentração de 20 °Brix. A perda de umidade das amostras durante a maturação também foi observada, resultando em aumentos proporcionais nos teores de proteínas, gorduras, extrato seco, cinzas, cloreto de sódio e sódio (Tabela 2.4).

Embora a porcentagem de tirosina tenha aumentado em relação à salmoura mais concentrada, os queijos elaborados em salmoura 20° Brix, apresentaram o maior teor de tirosina após 15 dias de maturação com 208 mg/100g que corresponde a um aumento de 13 vezes. As proteínas do queijo interagem com a água, gordura e sais, a extensão dessa interação depende das condições de processamento e da força iônica, que aumenta com a adição

de cloreto de sódio, resultando na diminuição da solubilidade das proteínas (FLOURY et al., 2009).

Tabela 2.4: Efeito da aplicação de diferentes concentrações de cloreto de sódio nas características físico-químicas de queijos tipo Camembert durante 15 dias de maturação.

Parâmetros químicos	NaCl (°Brix)	Período de maturação (d)				p
		0	5	10	15	
Umidade (g/100g)	15	53,42±0,39 ^{AA}	53,20±0,15 ^{AA}	50,59±0,42 ^{BA}	50,94±1,39 ^{BB}	*
	20	52,00±0,20 ^{bcBC}	52,97±0,20 ^{bcAB}	51,08±0,38 ^{CA}	52,90±1,28 ^{AA}	*
	25	52,55±0,28 ^{aAB}	51,89±0,35 ^{abC}	47,82±0,50 ^{bB}	50,79±1,11 ^{bB}	*
	29	51,43±0,79 ^C	52,46±0,56 ^{BC}	51,34±0,34 ^A	51,35±1,24 ^{AB}	ns
p		*	*	*	***	
Proteína (g/100g)	15	19,57±0,73	19,68±0,48	20,56±0,33	19,56±1,03 ^B	ns
	20	20,58±0,49	19,85±0,52	21,01±1,61	20,37±1,45 ^B	ns
	25	19,76±0,80 ^b	20,13±0,53 ^b	22,24±1,17 ^b	25,36±1,94 ^{AA}	*
	29	19,63±0,10	20,14±0,38	20,45±0,74	20,05±0,61 ^B	ns
p		ns	ns	ns	*	
Tirosina (mg/100g)	15	13,63±1,51 ^{dB}	47,44±4,15 ^{cB}	111,17±7,81 ^{bC}	136,92±25,21 ^{aD}	*
	20	15,50±2,99 ^{dA}	43,56±5,38 ^{cC}	116,92±4,03 ^{bB}	208,28±20,37 ^{aA}	*
	25	10,05±2,35 ^{dD}	62,24±12,59 ^{cC}	98,82±6,83 ^{bD}	147,00±24,31 ^{aC}	*
	29	10,63±2,65 ^{bC}	32,37±7,67 ^{bD}	135,56±46,93 ^{aA}	178,74±23,30 ^{aB}	*
p		*	*	*	*	
Gordura (g/100g)	15	22,67±1,15 ^{bcAB}	21,67±0,29 ^{cB}	23,83±0,29 ^{abAB}	24,67±1,53 ^a	**
	20	22,33±0,29 ^{aAB}	21,33±0,29 ^{bB}	23,33±0,58 ^{cBC}	23,50±0,00 ^C	*
	25	21,17±0,29 ^{cB}	21,83±0,29 ^{cB}	24,33±0,58 ^{Aa}	23,00±0,87 ^b	*
	29	23,67±1,15 ^A	23,17±0,29 ^A	23,00±0,00 ^C	23,67±1,15	ns
p		**	*	**	ns	
Extrato Seco Total (g/100g)	15	46,58±0,39 ^{bC}	46,80±0,15 ^{Bc}	49,41±0,42 ^{aB}	49,06±1,39 ^{aA}	*
	20	48,00±0,20 ^{abAB}	47,03±0,20 ^{bcBC}	48,92±0,38 ^{ab}	47,10±0,07 ^{cb}	*
	25	47,4±0,28 ^{bBC}	48,11±0,35 ^{abA}	52,18±0,50 ^{aA}	49,21±1,11 ^{aA}	*
	29	48,57±0,79 ^A	47,54±0,56 ^{AB}	48,66±0,34 ^B	48,65±1,24 ^{AB}	ns
p		*	*	*	***	
Cinzas (g/100g)	15	2,97±0,02 ^B	3,02±0,04 ^{BC}	3,02±0,06 ^C	3,07±0,13 ^C	ns
	20	3,24±0,06 ^{aC}	2,91±0,03 ^{bC}	3,26±0,03 ^{aB}	2,91±0,02 ^{bC}	*
	25	3,37±0,03 ^{abA}	3,17±0,24 ^{aAB}	3,49±0,04 ^{bA}	3,48±0,02 ^{bB}	**
	29	3,42±0,08 ^{bA}	3,38±0,03 ^{bA}	3,48±0,03 ^{bA}	3,67±0,13 ^{aA}	*
p		*	*	*	*	
Cloreto de Sódio (g/100g)	15	0,93±0,01 ^D	0,80±0,01 ^C	0,86±0,10 ^C	0,74±0,06 ^C	ns
	20	1,11±0,07 ^{aC}	0,90±0,01 ^{CD}	1,02±0,03 ^{bB}	0,94±0,02 ^{CD}	*
	25	1,26±0,03 ^{aB}	1,15±0,03 ^{CB}	1,17±0,06 ^{bcA}	1,24±0,05 ^{abB}	**
	29	1,35±0,03 ^{bA}	1,26±0,00 ^{CA}	1,29±0,04 ^{CA}	1,54±0,03 ^{aA}	*
p		*	*	*	*	
Sódio (mg/100g)	15	0,37±0,00 ^D	0,32±0,01 ^C	0,34±0,04 ^C	0,30±0,02 ^C	ns
	20	0,45±0,03 ^{aC}	0,36±0,00 ^{CD}	0,41±0,01 ^{bB}	0,38±0,01 ^{CD}	*
	25	0,50±0,01 ^{aB}	0,46±0,01 ^{CB}	0,47±0,02 ^{bcA}	0,49±0,02 ^{abB}	**
	29	0,54±0,01 ^{bA}	0,50±0,00 ^{CA}	0,52±0,02 ^{CA}	0,62±0,01 ^{aA}	*
p		*	*	*	*	

Nota: ^{abc} Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os dias de maturação (Teste de Fischer, *p< 0,01; **p< 0,05). ^{ABC} Letras diferentes na mesma coluna, indicam diferença significativa entre as concentrações de salmoura utilizadas no processo de salga (Teste de Fischer, *p<0,01; **p<0,05; ***p< 0,1); ns :não apresentam diferença significativa.

Os parâmetros do perfil de textura dos queijos do experimento CQ02 (Tabela 2.5) apresentaram diferença significativa (p<0,01) entre as amostras com diferentes concentrações de salmoura (15, 20, 25 e 29° Brix) utilizadas no

processo de salga, para os parâmetros gomosidade, mastigabilidade e resiliência após 15 dias de maturação.

Durante os dias de maturação, os parâmetros que apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) foram elasticidade para as concentrações à 20 e 29 ° Brix; gomosidade e mastigabilidade para as concentrações à 15, 20 e 25 °Brix; e resiliência para as quatro concentrações de salmoura. Queijos com maiores teores de sal tendem a ser mais firmes, enquanto que queijos com teores reduzidos apresentam massa macia e cremosa (CRUZ et al., 2011). Floury et al. (2009) relatam que a diminuição de concentração de sal aumenta a coesividade e diminui a adesividade, a qual é influenciada pela interação entre as proteínas.

Tabela 2.5: Efeito da aplicação de diferentes concentrações de cloreto de sódio no perfil de textura de queijos tipo Camembert durante a maturação.

Perfil de textura	° Brix	Período de maturação (d)				p
		0	5	10	15	
DUREZA (N)	15	0,03±0,01	0,03±0,01	nd	0,03±0,01	ns
	20	0,03±0,01	0,03±0,01	nd	0,03±0,01	ns
	25	0,02±0,01	0,01±0,01	nd	nd	ns
	29	0,03±0,01	0,03±0,01	0,01±0,01	0,03±0,01	ns
p		ns	ns	ns	ns	
Elasticidade	15	0,90±0,02	0,88±0,01	0,84±0,02	0,82±0,17	ns
	20	0,89±0,02 ^b	0,88±0,03 ^b	0,84±0,05 ^a	0,86±0,04 ^b	**
	25	0,88±0,02	0,87±0,03	0,87±0,06	0,86±0,03	ns
	29	0,89±0,01 ^b	0,87±0,01 ^{ab}	0,86±0,03 ^a	0,90±0,03 ^b	**
p		ns	ns	ns	ns	
Coesividade	15	0,83±0,02	0,83±0,01	0,83±0,01	0,81±0,03	ns
	20	0,82±0,03	0,83±0,00	0,83±0,02	0,81±0,02	ns
	25	0,83±0,03	0,84±0,02	0,83±0,02	0,84±0,03	ns
	29	0,83±0,00	0,83±0,01	0,83±0,02	0,84±0,02	ns
p		ns	ns	ns	ns	
Gomosidade	15	2,40±0,26 ^b	2,44±0,73 ^b	-2,02±0,24 ^{abc}	2,50±0,27 ^{baB}	*
	20	2,43±0,25 ^b	2,43±0,27 ^{bc}	-1,82±0,23 ^{ab}	2,10±0,30 ^{cB}	*
	25	2,27±0,57 ^a	2,17±0,31 ^a	-2,15±0,16 ^{bc}	-1,83±0,42 ^{bc}	*
	29	2,36±0,09	2,28±0,30	2,60±0,34 ^A	2,63±0,45 ^A	ns
p		ns	ns	*	*	
Mastigabilidade	15	2,15±0,25 ^b	1,82±0,09 ^b	-1,71±0,24 ^{abc}	2,08±0,60 ^{ba}	*
	20	2,17±0,24 ^b	2,13±0,26 ^{bc}	-1,51±0,12 ^{aA}	1,79±0,29 ^{cA}	*
	25	2,00±0,52 ^a	1,89±0,31 ^a	-1,90±0,20 ^{bc}	-1,56±0,31 ^{bc}	*
	29	2,11±0,09	1,97±0,25	2,22±0,27 ^A	2,36±0,41 ^A	ns
p		ns	ns	*	*	
Resiliência	15	0,52±0,01 ^c	0,51±0,01 ^c	0,46±0,02 ^a	0,41±0,03 ^{baB}	*
	20	0,51±0,02 ^c	0,50±0,01 ^c	0,46±0,01 ^a	0,42±0,02 ^{baB}	*
	25	0,52±0,02 ^a	0,52±0,01 ^a	0,47±0,01 ^b	0,44±0,02 ^{baB}	*
	29	0,52±0,00	0,50±0,01	0,48±0,01	0,46±0,02 ^A	*
p		ns	ns	ns	*	

Nota: ^{abc} Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre dias de maturação (Teste de Fischer, *p <0,01; **p<0,05). ^{ABC} Letras diferentes, indicam diferença significativa entre as concentrações de salmoura utilizadas no processo de salga (Teste de Fischer, p<0,01); nd: não detectado; ns :não apresentam diferença significativa.

A Figura 2.2 representa o monitoramento do fechamento do micélio superficial por meio de análise colorimétrica. No experimento CQ02, foi possível observar que independente da concentração de salmoura utilizado para salgar as peças de queijos, o índice de brancura manteve constante a partir do 8º dia de maturação, com WI acima de 90.

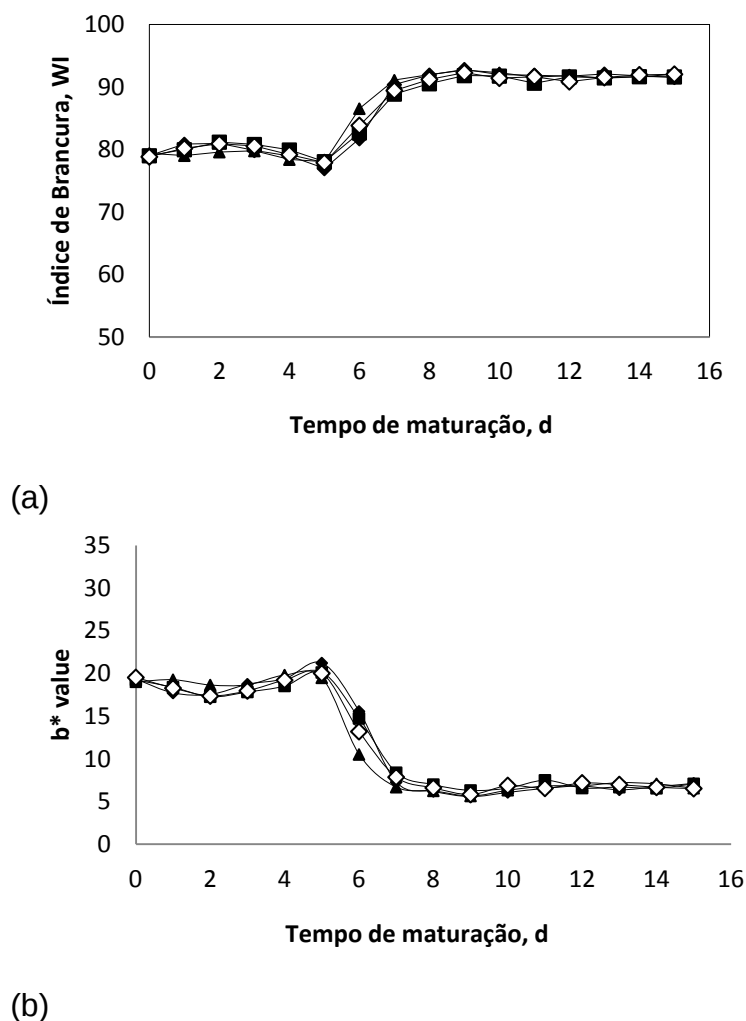


Figura 2.2: Redução da cor amarela (b^*) e aumento do índice de brancura (WI) em função do crescimento superficial do fungo *P. candidum* em queijos tipo Camembert; (♦) 15° Brix, (■) 20° Brix; (▲) 25° Brix; (◇) 29° Brix.

2.4 CONCLUSÃO

A composição físico-química e os parâmetros instrumentais dos queijos tipo Camembert elaborados com diferentes culturas apresentaram diferenças pontuais, com destaque para o parâmetro resiliência observado no perfil de textura, que apresentou menor valor para a cultura termofílica. Além disso, a cultura termofílica teve ganho de um dia no aparecimento do fungo na superfície. As diferentes concentrações de sal utilizadas nas salmouras, apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre os teores de umidade, proteína, extrato seco, cinzas, cloreto de sódio e sódio. Para os parâmetros analisados no perfil de textura, apenas gomosidade, mastigabilidade e resiliência apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$). As diferentes

concentrações de sal na salmoura não influenciaram o desenvolvimento do fechamento superficial do micélio, estabilizado no mesmo período. Dessa forma, para as condições de processamento utilizadas, a cultura termofílica foi a que demonstrou melhores resultados para a produção do queijo tipo Camembert.

CAPÍTULO III: AVALIAÇÃO DO EFEITO DO INÓCULO DE BIOMASSA MICROFRAGMENTADA DE *Penicillium candidum* NO PROCESSO DE MATURAÇÃO DE QUEIJOS TIPO CAMEMBERT

AVALIAÇÃO DO INÓCULO DE BIOMASSA MICROFRAGMENTADA DE *Penicillium candidum* NO PROCESSO DE MATURAÇÃO DE QUEIJOS TIPO CAMEMBERT

RESUMO

O queijo Camembert é um dos mais consumidos, tanto *in natura* quanto em elaborações de pratos *gourmet*. Durante a maturação, desenvolve-se na sua superfície um micélio branco, devido à aplicação de esporos de *Penicillium candidum*, que contribui para as reações de glicólise, proteólise e lipólise resultando em suas características sensoriais peculiares. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um método de produção de biomassa de *Penicillium candidum*, para inóculo na superfície do queijo tipo Camembert, e avaliar o desenvolvimento do micélio e a composição do queijo. Para isso, foram realizadas 2 experimentos, diferenciados pela forma de inoculação do *Penicillium candidum*, sendo a primeira com esporos liofilizados comerciais e a segunda com biomassa. Foram realizadas análises físico-químicas e instrumentais, assim como avaliação do desenvolvimento do micélio na superfície, durante 15 dias de maturação. Entre as amostras analisadas com as aplicações dos inóculos, os teores de tirosina e gordura, assim como o parâmetro coesividade do perfil de textura, apresentaram diferença significativa. O aparecimento do micélio superficial, teve ganho de um dia para os queijos inoculados com biomassa, apresentando-se mais denso comparado com o inóculo de esporos. As amostras com micélio microfragmentado apresentaram ao final de 15 dias teor de aminoácidos livres de 14% a mais comparado com amostras contendo apenas esporos, indicando uma possível intensificação da hidrólise de peptídeos, os quais são implicados no residual amargo destes queijos.

Palavras chaves: *Penicillium candidum*, maturação, índice de brancura, biomassa microfragmentada.

EVALUATION OF BIOMASS OF MICROFRAGMENTED *Penicillium candidum* INOCULUM IN THE PROCESS OF CHEESE TYPE CAMEMBERT RIPENING

ABSTRACT

The Camembert cheese is one of the most consumed both fresh and in elaborations of gourmet dishes. During ripening, develops on its surface a white mycelium due to the application of *Penicillium candidum* spores, which contributes to the reactions of glycolysis, proteolysis and lipolysis resulting in their peculiar sensory characteristics. The objective of this study was to develop a *Penicillium candidum* biomass production method for inoculum in the cheese surface type Camembert and evaluate the development of the mycelium and the composition of the cheese. Physico-chemical and instrumental analyzes were performed, as well as evaluation of the growth of the mycelium on the surface for 15 days of aging, and compared with cheese inoculated with spores lyophilized. Among the samples through the application of inocula, the tyrosine levels and fat, as well as the cohesiveness of the texture profile parameter showed significant difference. The appearance of the superficial mycelium had one-day gain for cheese inoculated with biomass, with denser compared with the spore inoculum. Samples of micro fragmented mycelium had 15 days at the end of free amino acids content of 14% higher compared to samples containing only spores, indicating a maximum possible hydrolysis of peptides, which are involved in these residual bitter cheeses.

Keywords: *Penicillium candidum*, ripening, whiteness index, micro fragmented biomass

3.1 INTRODUÇÃO

A produção do queijo Camembert na França corresponde a 27% (122.511 toneladas) dos queijos de massa mole, maturados com fungo branco na superfície (GUÉGUEN et al., 2005). Este queijo tem origem no Vilarejo de Camembert (final do século XVIII) na Região da Normandia, norte da França (SPINNLER e GRIPON, 2004). A denominação “Camembert da Normandia” possui origem protegida desde 1983, assim os queijos produzidos fora desta delimitação geográfica devem ser denominados “tipo Camembert” (SANTILLI, 2012).

O Camembert possui uma rápida maturação e elevada aceitação sensorial tanto no consumo *in natura* quanto na formulação de pratos devido às suas características particulares, o que o torna uma ótima opção para agregar valor à matéria-prima. Desta forma, é considerado um dos queijos mais copiados do mundo, com inúmeras variações em seu protocolo devido às adaptações para diferentes tipos de consumidores e condições de processamento (BAUDRIT et al., 2010; SICARD^a et al., 2011; LECLERCQ-PERLAT et al., 2013).

Este queijo contém uma característica peculiar e inerente em qualquer país, que consiste na maturação com uma cobertura superficial de micélio branco proveniente de fungos do gênero *Penicillium camemberti* ou *Penicillium candidum*. Estes fungos são adicionados na forma de esporos ao leite e/ou aspergidos na superfície do queijo fresco (KRASNIEWSKI et al., 2006). Estas cepas foram melhoradas geneticamente ao longo dos anos com objetivo de obter uma textura padrão, cor branca do micélio e características fisiológicas importantes para a fabricação de queijos com mofo branco (ROPARS et al., 2012). Em alguns protocolos outros micro-organismos secundários como *Geotrichum candidum*, *Kluyveromyces lactis* e *Debaryomyces hansenii*, podem ser utilizados ou encontrados nestes queijos quando elaborados com leite cru (LESSARD et al., 2012).

No processamento do queijo tipo Camembert ocorre a formação de hifas no início da maturação (3-4 dias após a aspersão dos esporos). Do quinto (5º) ao sétimo (7º) dia de maturação, pode ser observado o recobrimento de grande parte da superfície com um mofo (micélio) de cor branca e aspecto aveludado (LECLERCQ-PERLAT et al., 2013) e do décimo (10º) ao décimo quarto (14º)

dias o micélio recobre todo o queijo (HUTKINS, 2008). Em países com pouco hábito de consumo de queijos tipo Camembert, após o recobrimento superficial pelo micélio, o queijo é embalado e armazenado em temperaturas inferiores a 4°C, para estabilizar o crescimento do fungo. Entretanto, na França e no Canadá a maturação pode perdurar por várias semanas para que o queijo apresente um menor gosto amargo residual e menor notas sensoriais de amônia. A coloração passa a ter tons de amarelo devido ao envelhecimento e perda da função vital das hifas (HUTKINS, 2008; LESSARD et al., 2012).

Durante a fase de crescimento e maturação dos queijos o *P. candidum* obtém energia a partir do metabolismo do ácido láctico e desenvolve uma intensa proteólise para utilização de compostos nitrogenados, resultando em alterações físicas, bioquímicas e sensoriais no produto ao longo da maturação (ARTEAU et al., 2010). Além da proteólise são observadas alterações bioquímicas ocasionadas por reações de glicólise, lipólise e metabolismo de citrato decorrentes de diferentes enzimas presentes no leite, coalho e micro-organismos envolvidos na maturação (McSWEENEY, 2004).

A velocidade de crescimento do fungo ou fechamento superficial do micélio depende de fatores ambientais como a umidade relativa, atividade de água, temperatura, evolução do oxigênio (O₂) e do gás carbônico (CO₂) na câmara de maturação e concentração de inóculo (PICQUE et al., 2006; SICARD^b et al., 2011; LECLERQ-PERLAT et al., 2013).

Trabalhos com inóculo de biomassa do fungo, obtida por pré-cultura em meio sintético, na fabricação do Camembert não foram encontrados na literatura. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação de biomassa fresca microfragmentada, como inóculo no processamento do queijo tipo Camembert, tanto no aspecto de crescimento do fungo quanto na composição química do queijo ao longo da maturação.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Material

O leite bovino da raça Holandesa, proveniente da primeira ordenha, foi adquirido da Fazenda Escola Capão da Onça (FESCON), pertencente a Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), localizada na estrada Ponta Grossa/Itaiacoca, km 7 (25° 05' 42" S 50° 09' 43" O). O rebanho e a qualidade do leite são monitorados e controlados com base na legislação vigente (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil nº 368, de 4 de setembro de 1997 e Instrução Normativa nº 62 (IN62) de 29 de dezembro de 2011).

Foi utilizado como inóculo de cultura primária à termofílica, contendo *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (YO-MIX 495 LYO, Danisco, Canadá) e a secundária foi o *Penicillium candidum* (35V, Sacco®, Brasil).

3.2.2. Métodos

Processamento dos queijos

A preparação do queijo Tipo *Camembert* foi realizada na planta piloto da Escola Tecnológica de Leite e Queijos dos Campos Gerais (ETLQueijos), pertencente ao curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG). Na planta piloto são utilizadas boas práticas de fabricação - BPFs, na limpeza e sanitização do ambiente, utensílios e câmaras frias (Portaria 368 de 04/09/1997 Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA; FORSYTHE, 2002; GERMANO e GERMANO, 2003). Na linha de produção do queijo (Figura 3.1) 100 litros de leite foram pasteurizados à 73°C durante 15 segundos. Na sequência, foi resfriado a 34°C em tanques de aço inoxidável (AISI 304) (Figura 3.1). Foram adicionados ao leite pasteurizado 0,04% de cloreto de cálcio (Synth) a 50%, 1,0% de cultura lática primária termofílica e 1,6% de coalho (enzima quimosina em pó – Chr Hansen). Após a formação da coalhada, a massa foi cortada com o auxílio de liras em inox no sentido vertical, em seguida no sentido horizontal seguida de agitação lenta (30 min) até percepção de rigidez dos cubos de 2 cm³. Nesse período de agitação a temperatura foi controlada até alcançar 36°C.

Em seguida, a coalhada foi enformada (formas de 14 cm de diâmetro e 10 cm de altura modelo RP-500, Jandaplast®), com utilização de morim para auxiliar a retirada do soro. O período da prensagem (utilizando uma massa de 1,0 kg sobre cada queijo) se estendeu por 6 horas, realizando duas viragens na massa, sendo a primeira trinta minutos (30 min) após enformagem e a segunda após sessenta minutos (60 min) a partir da primeira viragem. Após duzentos e setenta minutos (270 min), foi retirado o dessorador e as peças permaneceram em câmara de maturação (Mec Milk) com controladores automatizados (modelo N322RHT, NOVUS) para uma primeira fermentação em “overnight”, por 12 horas em temperatura de 12°C sem controle da umidade relativa (Figura 3.1).

Em seguida, foi realizada a salga em salmoura a 21° Brix, onde os queijos ficaram submersos por 60 minutos. Decorrido a etapa de salmoura, os queijos foram divididos em duas (2) bateladas, contendo dezesseis (16) unidades em cada batelada, e retornaram para a câmara de maturação. Foram realizadas duas (2) suspensões para aplicação do *P. candidum* em água deionizada levemente salina (0,09%). Uma suspensão utilizada para inocular o primeiro grupo de queijos, continha esporos comerciais liofilizados do fungo, e a segunda suspensão continha micélio microfragmentado. O micélio foi produzido por meio de cultivo submerso do fungo num biorreator de tanque agitado de 4,5 L de capacidade (modelo RALF Plus, Bioengineering AG). Ambas inoculações dos queijos foram realizadas aspergindo um volume de suspensão, que permitiu aproximadamente $2,0 \cdot 10^6$ de esporos em cada queijo. A contagem dos esporos foi realizada em câmara de Neubauer.

As análises de composição química ocorreram com 15 dias de maturação, que corresponde ao período máximo utilizado pelas queijarias brasileiras. Entretanto, apenas para avaliar o amargor e o resíduo de amônia foi aplicada a técnica sensorial do perfil livre descritivo (STONE et al., 2012) por julgadores treinados, em amostras com 15, 20 e 30 dias de maturação (14°C e 90% UR, a qual foi elevada para 94% após a visualização do micélio) e após 30 dias embalado e sob refrigeração (7-10°C).

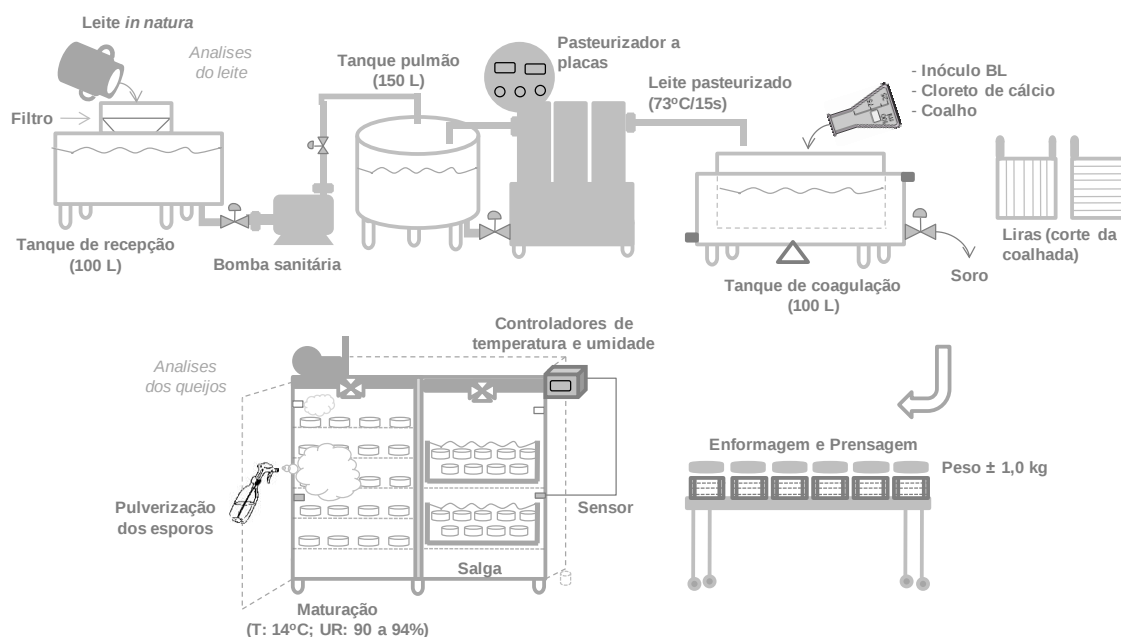


Figura 3.1. Fluxograma da linha de processamento da ETLQueijos utilizada na fabricação do queijo tipo Camembert.

Análises físico-químicas do leite

No recebimento do leite foram realizadas análises de pH pelo método potenciométrico utilizando pHmetro de bancada (Hanna, modelo pH 21), extrato seco pelo método gravimétrico de secagem em estufa à 105°C até peso constante, e cinzas por incineração em mufla (Coel, modelo TLK 49), à 550°C por seis horas (IAL, 2008). O teor de gordura foi determinado em butirômetro de Gerber e proteínas totais pelo método de micro Kjeldahl, pela conversão do nitrogênio total para proteínas totais utilizando o fator 6,38 (AOAC, 1995). A contagem de células somáticas foi realizada pela Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH), Curitiba, Pr.

Análises físico-químicas e instrumentais do queijo

As análises nos queijos foram realizadas em quatro (4) tempos de maturação (0, 5, 10 e 15 dias). O tempo zero corresponde à peça do queijo antes de receber a aspersão da solução contendo *P. candidum*.

A análise de gordura foi realizada pelo método de Gerber em butirômetro especial para queijo. A proteína total foi analisada pelo método de Kjeldahl,

onde o nitrogênio total é multiplicado pelo fator 6,38 (AOAC,1995). O pH foi medido pelo método potenciométrico. Extrato seco foi analisado pelo método gravimétrico de secagem em estufa à 105°C até peso constante e cinzas por incineração em mufla (marca Coel, modelo TLK 49), a 550°C por seis horas (IAL, 2008). O cloreto de sódio e sódio foram dosados pelo método descrito por Barbano (1991). A concentração de tirosina foi obtida através de método espectrofotométrico clássico de Vakaleris-Prince (1959). O perfil de textura foi analisado em texturômetro (modelo *TA.XTPlus Texture Analyser*, Stable Micro Systems, UK), em quadruplicata, utilizando probe cilíndrico P36B, considerando a dureza, elasticidade, coesividade, gomosidade, mastigabilidade e resiliência.

A análise de cor foi realizada em 2 peças de queijos de cada tempo. Para análise de cor, as peças foram divididas em quatro quadrantes, incluindo as duas superfícies (superior e inferior), e realizadas as leituras pelo colorímetro (MiniScan EZ, Hunter Lab, US). Os resultados foram expressos em índice de brancura (WI – “whiteness”) utilizando a Equação 3.1, descrita por Rocha et al. (2007), no qual branco total corresponde a 100:

$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}} \quad (3.1)$$

Concomitantemente à análise colorimétrica, foi realizada análise de monitoramento do crescimento do micélio por microscopia (Microscópio ótico, Zeiss Scope A1) de cortes da superfície dos queijos, com o auxílio de bisturi e lâminas de aço carbono número 11 e do contador de colônias (Lupa Phoenix CP600).

Para análise de aminoácidos e amônia, a obtenção da amostra foi realizada segundo Gaucheron e Graet (2000), quantificados pelo método AccQ TagTM utilizando kit completo da Waters, utilizando HPLC (High Performance Liquid Chromatograph) Allinze 2695 (Waters, USA) equipado com detector de arranjo de fluorescência e coluna Pico Tag (3,9 X 150 mm). Após a obtenção da amostra, foram separados 3 mL e adicionados 2 mL de padrão interno norleucina em uma concentração de 0,25 mM para medir a recuperação. Em seguida, a mistura foi centrifugada a 13.000 g, 4 °C por 20 min, e o

sobrenadante foi filtrado em filtro de seringa de 0,2 μm . Para derivatizar os aminoácidos livres, foi utilizado Kit reagente Waters AccQ TagTM (frasco 1: 200 mM tampão borato, pH 8,8; 2A Vial: 6 -aminoquinolil-N- hidroxisuccinimidil carbamato, AQC; frasco 2B: acetonitrila). Dez microlitros do extrato, 70 μL da AccQ Fluor tampão borato (frasco 1), e 20 μL de reagente AccQ Fluor (AQC em frasco 2A dissolvido em 1 mL de acetonitrila do frasco 2B) foram adicionados em um vial, respectivamente, e homogeneizados em vórtex por 5 s. Em seguida, a amostra foi aquecida à 55 °C por 10 min. Após derivatização, a mistura foi analisada por HPLC (ZHANG; LI; CHENG, 2010).

Foram utilizadas duas fases móveis: (A) 140 mM de acetato de sódio e 17 mM de trietanolamina, e (B) acetonitrila 60%. O gradiente foi 0% de B (0 min), 2% B (0,5 min), 7% B (15 min), 9% B (19 min), 12% B (22 min) e 30% B (33 min), 100% B (34 - 40 min), 0% B (41 - 42 min). Tempo de pós-corrida (limpeza de coluna): 5 min. Foram utilizadas excitação a 250 nm e emissão a 395 nm para detecção por fluorescência. Os picos foram identificados por comparação com o tempo de retenção.

3.2.3 Análise Estatística

Os dados foram apresentados como média $\pm$ desvio padrão, sendo realizado teste de Levene para avaliar sua homogeneidade, considerando paramétrico o valor de $p > 0,05$. Em seguida, os dados paramétricos foram analisados pela análise de variância (ANOVA), considerando valor de $p \leq 0,1$; 0,05 e 0,01. Complementada com o teste de comparação de médias de Fischer LSD, e correlação Linear de Pearson considerando um valor significativo de $p < 0,05$. Para isso, foi utilizado software Statistica (versão 7.0) e ACTION (versão 2.5).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os parâmetros analisados sobre a qualidade do leite utilizado no processamento do queijo tipo Camembert, estão de acordo com a Instrução Normativa 62/2011 (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) para

leite cru refrigerado, apresentando pH $6,60 \pm 0,01$; acidez de $0,18 \pm 0,05$ g/100mL expresso em ácido láctico; $3,13 \pm 0,12$ g/100mL de gordura; $3,26 \pm 0,12$ g/100mL de proteína; $8,68 \pm 0,04$ g/100mL de extrato seco desengordurado; $0,74 \pm 0,01$ g/100mL de cinzas e 331.000 células somáticas/mL.

Na Tabela 3.1, podem ser observados os resultados das análises físico-químicas realizadas em queijo tipo Camembert, elaborados com duas formas de inóculo do *P. candidum* (esporos liofilizados e biomassa microfragmentada), apresentando diferença significativa entre os inóculos ($p < 0,05$), após quinze 15 dias de maturação para os teores de gordura e tirosina.

Os valores de proteína nos queijos com 15 dias de maturação aumentaram 9,4 e 16,7% para queijos inoculados com biomassa e com esporos, respectivamente. Esse aumento pode ser devido a perda de umidade durante a maturação, devido à ventilação causada pelo sistema de resfriamento (EVERARD et al., 2011). Os queijos inoculados com biomassa apresentaram um valor superior de tirosina (15,9%) em relação aos queijos inoculados com esporos (Tabela 3.1). O aumento do teor do aminoácido tirosina, obtido pela descarboxilação enzimática da tiamina indica a intensidade de maturação (AYRES e SANDINE, 1985; PEROTTI et al., 2005).

O teor de gordura dos queijos inoculados com biomassa apresentou uma diminuição significativamente maior (9,3%) que aquela nos queijos inoculados com esporos (4,3%), indicando uma reação lipolítica mais intensa (Tabela 3.1). A primeira transformação que ocorre na gordura durante a maturação, é a hidrólise dos triglicerídeos e liberação de ácidos graxos (COLLINS et al., 2003). Os resultados encontrados para a análise de gordura se assemelham ao de outros estudos (KIM et al., 2008; LINTON et al., 2008; VOIGT et al., 2011).

O extrato seco total dos dois queijos com diferentes inóculos apresentou evolução semelhante, aumentando 12% em 15 dias de maturação (Tabela 3.1), indicando uma difusão similar da água do queijo para o ambiente (LECLERCQ-PERLAT et al., 2013). Com o aumento do teor de extrato seco e consequentemente a perda de umidade dos queijos, o teor de cinzas, sódio e cloreto de sódio aumentaram 11,0; 15,5 e 16,6% respectivamente, para os dois tratamentos.

O pH dos queijos iniciou com média 5,39 com uma queda no quinto (5º) dia de maturação (Tabela 3.1) devido a produção de ácido láctico pelas culturas iniciadoras (primárias) (BERESFORD et al., 2001). No décimo (10º) dia o valor do pH aumentou, possivelmente devido ao crescimento do fungo sobre a superfície (CALZADA et al., 2014; AMRAME et al., 1999), pois o fungo utiliza o ácido láctico como fonte de energia (SPINNLER e GRIPON, 2004). Os queijos com inóculo de esporos apresentaram um maior pH (5,62) que os queijos inoculados com biomassa (5,57), mesmo que a altura do micélio na superfície deste queijo tenha sido duas vezes maior (dados não apresentados).

Tabela 3.1: Efeito do inóculo fúngico nas características da composição química de queijos tipo Camembert.

Parâmetros analíticos	Inoculo (2.10 ⁶ esporos/queijo)	Período de Maturação, (d)				p
		0	5	10	15	
Umidade (g/100g)	Esporo	55,04 ± 0,19 ^a	53,05 ± 0,27 ^{bB}	51,87 ± 0,40 ^c	50,66 ± 0,93 ^d	*
	Biomassa	55,04 ± 0,19 ^a	53,59 ± 0,18 ^{bA}	51,11 ± 0,33 ^c	49,54 ± 1,40 ^d	*
p		ns	**	ns	ns	
Proteína (g/100g)	Esporo	17,55 ± 0,62 ^b	17,83 ± 0,10 ^b	18,86 ± 1,01 ^b	20,48 ± 1,05 ^a	*
	Biomassa	17,55 ± 0,62	17,34 ± 0,37	18,55 ± 1,95	19,20 ± 0,78	ns
p		ns	ns	ns	ns	
Tirosina (mg/100g)	Esporo	0	43,47 ± 2,30	45,16 ± 5,27	45,51 ± 1,78 ^B	ns
	Biomassa	0	47,15 ± 3,72 ^b	44,68 ± 3,18 ^b	52,75 ± 2,78 ^{aA}	*
p		ns	ns	ns	**	
Gordura (g/100g)	Esporo	26,83 ± 0,76 ^a	27,50 ± 0,50 ^{aA}	23,67 ± 0,29 ^c	25,67 ± 0,58 ^{bA}	*
	Biomassa	26,83 ± 0,76 ^a	25,33 ± 0,58 ^{bB}	23,67 ± 0,58 ^c	24,33 ± 0,29 ^{bcB}	*
p		ns	**	ns	**	
Extrato Seco Total (g/100g)	Esporo	44,96 ± 0,19 ^d	46,95 ± 0,27 ^{cA}	48,13 ± 0,40 ^b	49,34 ± 0,93 ^a	*
	Biomassa	44,96 ± 0,19 ^d	46,61 ± 0,18 ^{Cb}	48,89 ± 0,03 ^b	50,46 ± 1,40 ^a	*
p		ns	**	ns	ns	
Cinzas (g/100g)	Esporo	3,34 ± 0,04 ^c	3,49 ± 0,07 ^b	3,62 ± 0,05 ^{abA}	3,69 ± 0,12 ^a	*
	Biomassa	3,34 ± 0,04 ^b	3,48 ± 0,04 ^b	3,43 ± 0,03 ^{bB}	3,72 ± 0,16 ^a	*
p		ns	ns	**	ns	
Cloreto de sódio (g/100g)	Esporo	1,44 ± 0,05 ^b	1,66 ± 0,06 ^a	1,61 ± 0,02 ^{aA}	1,64 ± 0,07 ^a	*
	Biomassa	1,44 ± 0,05 ^b	1,64 ± 0,03 ^a	1,39 ± 0,01 ^{bB}	1,68 ± 0,07 ^a	*
p		ns	ns	**	ns	
Sódio (mg/100g)	Esporo	0,58 ± 0,02 ^b	0,67 ± 0,03 ^a	0,65 ± 0,01 ^{aA}	0,66 ± 0,03 ^a	*
	Biomassa	0,58 ± 0,02 ^b	0,66 ± 0,01 ^a	0,56 ± 0,00 ^{bB}	0,67 ± 0,03 ^a	*
p		ns	ns	**	ns	
Acidez (g/100g)	Esporo	0,11 ± 0,02	0,09 ± 0,01	0,11 ± 0,02	0,09 ± 0,01	ns
	Biomassa	0,11 ± 0,02 ^{ab}	0,10 ± 0,02 ^{ab}	0,12 ± 0,01 ^a	0,09 ± 0,01 ^b	***
p		ns	ns	ns	ns	
pH	Esporo	5,39 ± 0,04 ^{bc}	5,34 ± 0,10 ^c	5,46 ± 0,01 ^b	5,62 ± 0,02 ^a	*
	Biomassa	5,39 ± 0,04 ^c	5,33 ± 0,01 ^c	5,50 ± 0,03 ^b	5,57 ± 0,05 ^a	*
p		ns	ns	ns	ns	

Nota: ^{abc} Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os dias de maturação (Teste de Fischer, *p < 0,01; **p < 0,05; ***p < 0,1); ^{ABC} Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre os inóculos (Teste de Fisher, p < 0,05); ns : não apresentam diferença significativa.

Embora os produtores de queijo geralmente avaliem de forma empírica, visualizando o fechamento do micélio superficial no Camembert (LECLERCQ-PERLAT et al., 2013), o índice de brancura foi utilizado para monitorar essa variável.

O crescimento das hifas iniciou no quarto (4º) e quinto (5º) dias e estabilizou (ao redor de 90 WI) no sétimo (7º) e oitavo (8º) dias de maturação, para os queijos inoculados com a biomassa e esporos, respectivamente (Figura 3.2). Após 15 dias de maturação o índice de brancura foi de 91 WI para os dois queijos. Embora os valores iniciais de WI possam variar com a composição do leite bovino e a sua qualidade microbiológica, constata-se que o índice de brancura pode ser utilizado para monitoramento do fechamento do micélio superficial.

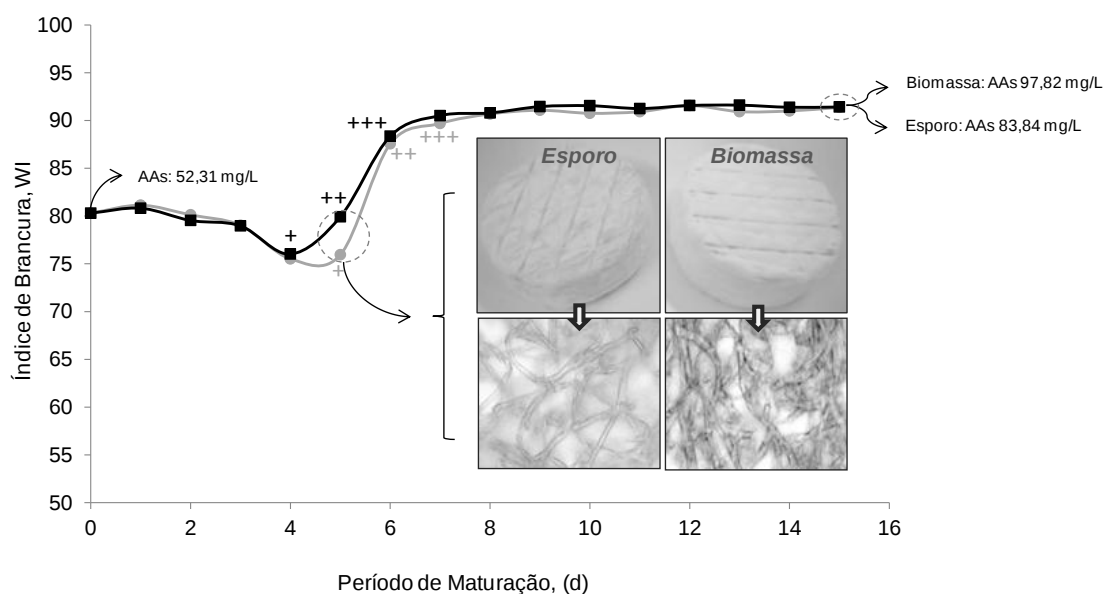


Figura 3.2: Índice de brancura determinado na superfície do queijo tipo Camembert em função do tempo de maturação, inoculado com a aspersão de solução $2,0 \cdot 10^6$ esporos/queijo (●) e de biomassa microfragmentada (■) ($2,0 \cdot 10^6$ esporos/queijo contendo micélio microfragmentado) com análise microscópica superficial do micélio: surgimento das hifas (+), micélio recobrindo 50% (++) e 100% (+++) dos queijos. AAs: teor de aminoácidos.

O teor de aminoácidos que era de 52,31 mg/L no momento da inoculação, aumentou para 83,84 e 97,82 mg/L após 15 dias de maturação nos queijos inoculados com esporos e biomassa, respectivamente (Figura 3.2). Esse aumento indica a intensidade da reação de proteólise (HOU et al., 2014), que

foi maior no queijo inoculado com micélio. Nessas amostras não foi observado residual de amargor quando comparado com os queijos inoculados com a solução de esporos (dados não apresentados), possivelmente devido ao teor reduzido de peptídeos (KARAMETSI et al., 2014). Os peptídeos nos queijos além de proporcionarem características nutricionais e funcionais, participam da formação do gosto. Valina-glicina são descritos com gosto ligeiramente doce, isoleucina- asparagina-glutamina e alanina-treonina-glutamina, como sem gosto e tirosina- glutamato-fenilalanina ligeiramente ácido. Os que contêm prolina apresentam gosto amargo, como isoleucina-treonina-alanina-prolina e prolina-fenilalanina-prolina devido suas propriedades hidrofóbicas (ROTURIEL et al., 1995).

Os aminoácidos presentes nos queijos resultam da hidrólise das principais proteínas presentes nos queijos (α s1, α s2, β e κ caseína) durante o período de maturação (LEMIEUX e SIMARD, 1992). No perfil de aminoácidos (Tabela 3.2) o aspartato, serina, glutamato, histidina, arginina, prolina, cisteína, valina, lisina, isoleucina, leucina, apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre os inóculos de esporos e biomassa. Entretanto, entre os dias de maturação, a glicina não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$), o mesmo ocorreu para prolina e cisteína em queijos inoculados com esporos.

Os aminoácidos livres (Tabela 3.2) aspartato, histidina, arginina, treonina, valina e metionina, aumentaram seus teores após 15 dias de maturação. O aspartato aumentou 10% para o queijo inoculado com esporo e 15% para o queijo com biomassa. A histidina aumentou 13 e 14% para os queijos inoculados com esporo e biomassa, respectivamente. A arginina aumentou 4% para o queijo inoculado com esporo e 9% para o queijo inoculado com biomassa. A treonina aumentou 6 e 10% para os queijos inoculados com biomassa e esporo respectivamente. A valina aumentou 7% para o queijo inoculado com esporo e 8% para o queijo inoculado com biomassa. A metionina aumentou 17 e 18% para os queijos inoculados com biomassa e esporo, respectivamente.

Com a serina, foi possível verificar uma redução de 61% para o queijo inoculado com biomassa e 72% para o queijo inoculado com esporo após 15 dias de maturação.

Os aminoácidos glutamato, lisina, isoleucina e leucina, foram detectados apenas no décimo quinto (15º) dia de maturação. Os teores de glutamato foram 7,94 mg/kg para os queijos inoculados com biomassa e 8,34 mg/kg para os queijos inoculados com esporo. A lisina apresentou teores de 5,11 e 5,14 mg/kg para os queijos inoculados com esporo e biomassa, respectivamente. A isoleucina apresentou 12,30 mg/kg para os queijos inoculados com esporo e 15,95 mg/kg para os queijos inoculados com biomassa. A leucina apresentou 5,06 e 5,82 mg/kg para os queijos inoculados com biomassa e esporo, respectivamente. Isso é possível pela hidrólise da β -caseína pela ação do coalho, originando β III caseína composto por arginina com leucina e arginina com frações de glutamina (LEMIEUX e SIMARD, 1992).

A degradação dos aminoácidos durante o período de maturação, é um ponto importante para a formação de compostos aromáticos, sendo os principais precursores a fenilalanina, leucina, isoleucina, valina e metionina (YVON e RIJNEN, 2001).

Tabela 3.2: Efeito do inóculo fúngico no perfil de aminoácidos de queijos tipo Camembert.

Aminoácido (mg/kg)	Inóculo	Período de Maturação (d)		<i>p</i>
		0	15	
Aspartato	Espero		5,81 ± 0,20	*
	Biomassa	5,24 ± 0,04	6,07 ± 0,19	*
<i>p</i>			*	
Serina	Espero		0,52 ± 0,15	*
	Biomassa	1,90 ± 0,19	0,74 ± 0,19	*
<i>p</i>			*	
Glutamato	Espero		8,34 ± 0,05	*
	Biomassa	0,00	7,94 ± 0,35	*
<i>p</i>			*	
Glicina	Espero		3,36 ± 0,17	ns
	Biomassa	3,26 ± 0,02	3,38 ± 0,10	ns
<i>p</i>			ns	
Histidina	Espero		5,31 ± 0,01	*
	Biomassa	4,67 ± 0,03	5,36 ± 0,17	*
<i>p</i>			*	
Arginina	Espero		5,21 ± 0,10	*
	Biomassa	4,97 ± 0,00	5,45 ± 0,05	*
<i>p</i>			*	
Treonina	Espero		4,20 ± 0,01	*
	Biomassa	3,81 ± 0,03	4,06 ± 0,03	*
<i>p</i>			ns	
Prolina	Espero		7,01 ± 0,42	ns
	Biomassa	4,58 ± 1,56	18,77 ± 1,86	*
<i>p</i>			*	
Cisteína	Espero		8,44 ± 1,05	ns
	Biomassa	10,95 ± 1,39	7,86 ± 0,37	*
<i>p</i>			*	
Valina	Espero		3,05 ± 0,08	*
	Biomassa	2,85 ± 0,00	3,08 ± 0,03	*
<i>p</i>			**	
Metionina	Espero		5,51 ± 0,23	*
	Biomassa	4,66 ± 0,03	5,49 ± 0,15	*
<i>p</i>			ns	
Lisina	Espero		5,11 ± 0,04	*
	Biomassa	0,00	5,14 ± 0,00	*
<i>p</i>			**	
Isoleucina	Espero		12,30 ± 1,17	*
	Biomassa	0,00	15,95 ± 1,99	*
<i>p</i>			*	
Leucina	Espero		5,82 ± 1,27	*
	Biomassa	0,00	5,06 ± 0,19	*
<i>p</i>			*	
Amônia	Espero		3,86 ± 1,13	ns
	Biomassa	2,66 ± 0,42	3,46 ± 0,49	ns
<i>p</i>			*	

Nota: * na mesma linha indica diferença significativa entre os dias de maturação (Teste de Fischer **p* < 0,01); * na mesma coluna indica diferença significativa entre os inóculos (Teste de Fischer **p* < 0,01; **p* < 0,05); ns: não apresentam diferença significativa.

O teor inicial de amônia nos queijos frescos (Tabela 3.2) foi de 2,66 mg/kg. Nesta concentração a amônia não é perceptível sensorialmente. Após 15 dias de maturação este valor aumentou para 3,46 e 3,86 mg/kg para os queijos inoculados com a biomassa e com esporos, respectivamente. Estes valores indicam uma tendência de menor produção de amônia em queijos inoculados com a biomassa. Esta característica se torna interessante para queijos tipo Camembert que serão produzidos em países onde o residual de amônia não é desejado e muitas vezes considerado como um defeito. As duas características de aroma observadas pelos julgadores da ETLQueijos (dados não apresentados) foi o odor lático e de cogumelo fresco, principalmente, no queijo com inóculo de biomassa. O odor de amoníaco foi perceptível a partir de 20 dias, maturados na câmara de maturação para os queijos elaborados com esporos, enquanto que os queijos com inóculo de biomassa foi perceptível após 60 dias de maturação, dos quais os 30 primeiros dias se mantiveram em câmara de maturação com umidade e temperatura controladas, e os últimos 30 dias se mantiveram sob refrigeração a 7°C.

Entre os parâmetros de textura analisados (Tabela 3.3), apenas a coesividade apresentou diferença significativa ($p < 0,01$) entre os queijos maturados com inóculo de esporos e biomassa. Entretanto, entre os dias de maturação, todos os parâmetros apresentaram diferença significativa ($p < 0,1$), exceto o parâmetro coesividade para as amostras com inóculo de esporos.

A dureza é descrita por Gunasekaran e Ak (2003) como sendo a força necessária para atingir uma dada deformação. Durante a maturação do queijo tipo Camembert, essa força vai diminuindo, tornando-o macio e levemente liquefeito. A análise realizada no tempo 0, apresentou valor de 0,03 N, diminuindo para - 0,02 N tanto para o queijo inoculado com esporo, quanto para a biomassa. Essa mudança foi atribuída como resultado da proteólise, devido hidrólise da α_{s1} caseína pelo coalho, o aumento do pH pelo desenvolvimento do micélio na superfície e a migração do Ca^{2+} do interior do queijo para a superfície (SPINNLER e GRIPON, 2004).

A elasticidade é definida por Gunasekaran e Ak (2003), como o grau em que a amostra retorna à sua forma original após compressão. Esse parâmetro resultou em uma diminuição de 4 e 6% durante a maturação dos queijos inoculados com esporo e biomassa, respectivamente. Este parâmetro tende a

ser influenciado pelo teor de proteína, a qual leva a formação de uma estrutura mais densa, diferente da umidade e gordura que reduz esse parâmetro (DIMITRELI e THOMAREIS, 2007).

Entre os inóculos de esporos e biomassa, houve diferença significativa ($p < 0,01$), para o parâmetro coesividade. A coesividade consiste na resistência das ligações internas que compõem o corpo do produto (GUNASEKARAN e AK, 2003). Para os queijos inoculados com esporos, o valor de 0,82 do início da maturação se manteve constante, enquanto que os queijos inoculados com biomassa apresentou uma redução de 6% do valor inicial, havendo diferença significativa ($p < 0,01$) durante os dias de maturação.

Assim como os demais parâmetros analisados, a mastigabilidade e gomosidade também diminuíram durante a maturação. Ambos resultam na energia necessária para reduzir o tamanho da amostra até o ponto de ser engolido, o que difere é que na mastigabilidade a amostra se encontra sólida, e a gomosidade a amostra é semi sólida (GUNASEKARAN e Ak, 2003). Entre eles, houve uma forte correlação, tanto para os queijos maturados com esporos quanto, para os queijos maturados com biomassa (para biomassa, $r = 0,99$; $p = 0,001$; e esporo, $r = 0,99$; $p < 0,001$). A gomosidade iniciou a maturação com valor de 2,34, finalizando com -1,50 e -0,91 para as amostras maturadas com inóculo de esporos e biomassa respectivamente. Para a mastigabilidade, o valor inicial foi de 1,87, finalizando a maturação com -1,25 e -0,84 para os queijos maturados com inóculo de esporos e biomassa, respectivamente.

A resiliência, definida por Pollard et al. (2003) como a capacidade da amostra deformada voltar ao seu formato original, apresentou uma redução de 26% do seu valor inicial, tanto para queijo maturado com inóculo de esporo, quanto para a biomassa.

Tabela 3.3: Efeito do inóculo da cultura secundária no perfil de textura de queijos tipo Camembert

Parâmetros analíticos	Inoculo (10 ⁶ espóros/queijo)	Período de Maturação, (d)				p
		0	5	10	15	
Dureza (N)	Esporo	0,03±0,01 ^a	-0,03±0,01 ^c	-0,02±0,01 ^{bc}	-0,02± 0,01 ^b	*
	Biomassa	0,03±0,01 ^a	0,03± 0,01 ^a	-0,02±0,01 ^b	-0,02± 0,02 ^b	*
p		ns	*	ns	ns	
Elasticidade	Esporo	0,87± 0,01 ^a	0,83±0,01 ^{ab}	0,84± 0,03 ^{ab}	0,83± 0,04 ^b	***
	Biomassa	0,87± 0,01 ^a	0,88± 0,01 ^a	0,85± 0,02 ^b	0,81± 0,02 ^c	*
p		ns	*	ns	ns	
Coesividade	Esporo ^A	0,82± 0,01	0,83±0,01	0,83± 0,02	0,82 ± 0,03	ns
	Biomassa ^B	0,82± 0,01 ^a	0,82± 0,01 ^a	0,82± 0,02 ^a	0,77± 0,01 ^b	*
p		ns	ns	ns	*	
Gomosidade	Esporo	2,34± 0,24 ^a	-2,13± 0,27 ^c	-2,07± 0,14 ^{bc}	-1,50± 0,63 ^b	*
	Biomassa	2,34± 0,24 ^a	2,15± 0,23 ^a	-1,87± 0,26 ^b	-0,91± 2,64 ^b	*
p		ns	*	ns	ns	
Mastigabilidade	Esporo	1,87± 0,06 ^a	-1,76± 0,20 ^b	-1,71± 0,22 ^b	-1,25± 0,67 ^b	*
	Biomassa	1,87± 0,06 ^a	1,91± 0,21 ^a	-1,57±0,33 ^b	-0,84±1,20 ^b	*
p		ns	*	ns	ns	
Resiliencia	Esporo	0,49± 0,01 ^a	0,47± 0,01 ^a	0,42± 0,01 ^b	0,36 ± 0,02 ^c	*
	Biomassa	0,49 ± 0,01 ^a	0,47 ± 0,01 ^a	0,38 ± 0,03 ^b	0,36 ± 0,02 ^b	*
p		ns	ns	ns	ns	

Nota: ^{abc} Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os dias de maturação (Teste de Fischer, * p< 0,01; ***p<0,1). * na mesma coluna indica diferença significativa entre os inóculos de esporos e biomassa (Teste de Fischer, *p< 0,01); ns :não apresentam diferença significativa.

3.4 CONCLUSÃO

A utilização de micélio fresco microfragmentado como inóculo do *P. candidum* não alterou a composição físico-química do queijo tipo Camembert, apresentando diferença significativa apenas para os teores de tirosina e gordura. O crescimento do micélio com este inóculo foi um dia mais rápido nas condições de processamento utilizadas. No queijo este micélio ficou com o dobro da espessura do queijo Camembert inoculado apenas com a solução de esporo. O teor de aminoácidos indica que este queijo teve uma proteólise mais intensa, resultando em menor teor de peptídeos, que podem causar o gosto amargo no Camembert. Desta forma, o inóculo de biomassa microfragmentada do fungo se torna favorável ao processamento de queijo tipo Camembert. Avaliações sensoriais prévias de amostras com o inóculo de biomassa, indicam que o tempo de prateleira e a sua descrição sensorial devem ser estudados.

CAPÍTULO VI - CONSIDERAÇÕES FINAIS

4.1 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O acompanhamento do desenvolvimento do micélio superficial em queijos tipo Camembert através da análise colorimétrica, obtendo como resposta o índice de brancura, mostrou-se eficaz em determinar o momento de início do crescimento do micélio e sua estabilidade.

As culturas primárias apresentaram similaridade na maioria das análises físico-químicas e instrumentais. Entre as análises instrumentais, o perfil de textura demonstrou pelo parâmetro resiliência que os queijos inoculados com a cultura termofílica, apresentaram maior variação durante 15 dias de maturação. Outro fato a ser ressaltado, foi o fechamento superficial dos queijos que receberam cultura primária termofílica, obtendo ganho de um dia comparado com os queijos que receberam aplicações de culturas mesofílicas.

As diferentes concentrações de salmoura utilizada durante o processo de salga, apresentaram diferenças significativa ($p < 0,1$) após 15 dias de maturação para os teores de umidade, proteína, tirosina, extrato seco total, cinzas, cloreto de sódio, sódio, gomosidade, mastigabilidade e resiliência.

O desenvolvimento de um protocolo para a obtenção de biomassa de *Penicillium candidum* se mostrou eficaz quando o micro-organismo foi submetido ao desenvolvimento em condições específicas e monitoradas. A aplicação da biomassa em queijos tipo Camembert, quando comparada com aplicação de esporos liofilizados comerciais, apresentaram diferença significativa ($p < 0,1$) para as análises de tirosina, gordura e coesividade. Entre os teores de aminoácidos, os queijos inoculados com biomassa apresentaram um teor maior, consequentemente com menores concentrações de peptídeos, que são possivelmente responsáveis pelo amargor. O crescimento do micélio superficial em queijos maturados com esse inóculo foi um dia mais rápido e de maior densidade e espessura. Desta forma, o uso do inóculo na forma de biomassa foi eficiente para o processamento de queijos tipo Camembert.

4.2 REFERÊNCIAS

AOAC - Association of Analytical Chemists. **Official methods of analysis of AOAC international**. 16th Ed. Washington: AOAC. 109p, 1995.

AMRANE, A.; PLIHON, F.; PRIGENT, Y. Proton transfer in relation to growth of *Geotrichum candidum* and *Penicillium camemberti* in synthetic liquid media. **Enzyme and Microbial Technology**. v. 24, p. 561- 568, 1999.

ARTEAU, M.; LABRIE, S.; ROY, D. Terminal- restriction fragment length polymorphism and automated ribosomal intergenic spacer analysis profiling of fungal communities in Camembert cheese. **International Dairy Journal**. v. 20, p. 545- 554, 2010.

AYRES, W. J.; SANDINE, W. E. Analysis of cheese for histamine, tyramine, tryptamine, histidine, tyrosine, and tryptophane. **Journal of Dairy Science**. v. 68, n. 11, p. 2840-2846, 1985.

BARBANO, D. M. **Procedure for salt analysis of Cheddar cheese**. Cornell, 1991.

BARBIERI, M. K.; ATHIÉ, I.; PAULA, D. C.; CARDOZO, G. M. B. Q. **Microscopia em Alimentos**. Campinas, SP, ITAL, 2001.

BAUDRIT, C.; SICARD, M.; WUILLEMIN, P. H.; PERROT, N. Towards a global modelling of the Camembert-type cheese ripening process by coupling heterogeneous knowledge with dynamic Bayesian networks. **Journal of Food Engineering**. v. 98, n. 3, p. 283 - 293, 2010.

BEHMER, M. L. **Tecnologia do leite**, São Paulo. Editora Noel, 1999.

BERESFORD, P. T.; FITZSIMONS, A. N.; BRENNAN, L. N.; COGAN, M. T.; Recent advances in cheese microbiology. **International Dairy Journal**. v.11, p. 259-274, 2001.

BLACK, G.J. **Microbiologia: Fundamentos e Perspectivas**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2002.

BOCKELMANN, W.; PORTIUS, S.; LICK, S.; HELLER, K. J.; Sporulation of *Penicillium camembert*. **Systematic and Applied Microbiology**. v. 22, p. 479 – 485, 1999.

BONTINIS, G. Th.; MALLATOU, H.; PAPPA, C. E.; MASSOURAS, Th.; ALICHANIDIS, E. Study of proteolysis. Lipolysis and volatile profile of a traditional Greek goat cheese (Xinotyri) during ripening. **Small Ruminant Research**. v. 105, p. 193-201, 2012.

BOURDICHON, F.; CASAREGOLA, S.; FARROKH, C.; FRISVAD, L. F.; GERDS, M. L.; HAMMES, P. W.; HARNETT, J.; HUYS, G.; LAULUND, S.; OUWEHAND, A.; POWELL, B. I.; PRAJAPATI, B. J.; SETO, Y.; SCHURE, T.E.; BOVEN, V.A.; VANKERCKHONEM, V.; ZGODA, A.; TUIJTELAARS, S.; HANSEN, B. E. Food

fermentations: Microorganisms with technological beneficial use. **International Journal of Food Microbiology**. v. 154, p. 87-97, 2012.

BOUTROU, R.; MOLLÉ, D.; LÉONIL, J. Action of the lactococcal proteinase during Camembert- type curd making. **International Dairy Journal**. v. 11, p. 347-354, 2001.

BRASIL. Portaria N° 146, de 07 de março de 1996. Regulametos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF. 11 mar 1996.

BRASIL. Portaria n. 368, de 04 de setembro de 1997. Regulamento Técnico sobre as condições Higiénico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Elaboradores / Industrializadores de Alimentos.. Secretaria Nacional de Inspeção de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF. 08 set. 1997.

BRASIL. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite tipo... Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF. 30 dez. 2011.

BRITO, M. A. V. P.; LANGE, C. C. Resíduos de antibióticos no leite. **Embrapa** v. 44, n. 1, p. 65-67, 2005.

CALZADA, J.; OLMO, A. D.; PICON, A.; GAYA, P.; NUNEZ, M. Effect of high-pressure-processing on the microbiology, proteolysis, texture and flavour of Brie cheese during ripening and refrigerated storage. **International Dairy Journal**. v. 37, p. 64-73, 2014.

CASTANEDA, R.; BORBONET, S.; IBARRA, A., IPAR, J.L.; VASQUEZ, A.M., CONTRERAS, N. P.; ALFONSO, R.; **Quesos de América Del Sul: Producción, tecnológico, consumo y degustación de lãs variedades regionales**. Buenos Aires. Editora Albatros, 2010.

CERNING, J.; GRIPON, J.C.; LAMBERET, G.; LENOIR J. Les activités biochimiques des *Penicillium* utilisés en fromagerie. **Le Lait**. v.1, p.3-39,1987.

CHALITA, M. A.; SILVA, P. R.; PETTI, V. R.; CILVA, R. C. Algumas Considerações sobre a fragilidade das concepções de qualidade no mercado de queijos no Brasil. **Informações Econômica**. v. 39, n. 6, jun, 2009.

CHAPAVAL, L.; PIEKARSKI, P. R. B. **Leite de Qualidade: Manejo Reprodutivo, Nutricional e Sanitário**. Viçosa, MG, Editora Aprenda fácil, 2000.

CHEN, B.; LEWIS, M. J.; GRANDISON, A. S. Effect of seasonal variation on the composition and properties of raw milk destined for processing in the UK. **Food Chemistry**. v. 158, n.1, p. 216-223, 2014.

CHUNG, H.H.; LEE, J. B.; CHUNG, Y. H.; KWANG, G. L. Analysis of sulfonamide and quinolone antibiotic residues in Korean milk using microbial assays and high performance liquid chromatography. **Food Chemistry**. v. 113, n.1, p. 297-301, 2009.

CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F.; POLLONIO, M. A. R.; BOLINI, H. M. A.; CELEGHINI R.M.S.; GRANATO D.; SHAH N.P. Cheeses with reduced sodium content: Effects on functionality, public health benefits and sensory properties. **Trends in Food Science e Technology**. v.22, n.6, p. 276-291, 2011.

COLLINS, F. Y.; MCSWEENEY, H. L. P.; WILKINSON, G. M. Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. **International Dairy Journal**. v. 13, p. 841-866, 2003.

COSTA, J. R. G. C. L.; COSTA, R. G. B.; MAGALHÃES, F. A. R.; VARGAS, P. J. R.; FERNANDES, A. J. M.; PEREIRA, A. S.; Avaliação da proteólise de queijo artesanal de uma unidade produtora da Serra da Canastra nas quatro estações do ano. **Revista Instituto Laticínio Cândido Tostes**. v. 6, n. 371, p. 62-99, 2009.

DANTIGNY, P.; NANGUY, M. P. S. Significance of the physiological state of fungal spores. **International Journal of Food Microbiology**. v. 134, p. 16-20, 2009.

DECKER M.; NIELSEN P.V. The inhibitory effect of *Penicillium camemberti* and *Geotrichum candidum* on the associated fungi of white mould cheese. **International Journal of Food Microbiology**. v. 104, p. 51-60, 2005.

DIMITRELI, G.; THOMAREIS A. S. Texture evaluation of block-type processed cheese as a function of chemical composition and in relation to its apparent viscosity. **Journal of Food Engineering**. v.79, p. 1364–1373, 2007.

DUMONT, J. P., ROGER, S., CERF, P.; ADDA, J. Neutral volatile compounds in Camembert (in French). **Le Lait**. p. 501-516, 1974.

DUMONT, J.P., ROGER, S.; ADDA, J. Camembert aromas. Demonstration of other minor compounds (in French). **Le Lait**. p. 595-599, 1976.

EARLY, R. **Tecnología de los productos lácteos**. Zaragoza, Espanha: Editorial Acribia, S.A., 2000.

EVERARD, C. D.; CALLAGHAN, D. J. O.; MATEO, M. J.; CASTILLO, M.; DONNELL, C. P. O. Effects of milk composition, stir- out time, and pressing duration on curd moisture and yield. **Journal of Dairy Science**. v. 94, n.6, p. 2673- 2679, 2011.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos**. Porto Alegre, RS, Editora Artmed, 2006.

FLOURY, J.; CAMIER, B.; ROUSSEAU, F.; LOPEZ, C.; TISSIER, J. P.; FAMELART, M. H. Reducing salt level in food: Part 1. Factors affecting the manufacture of model cheese systems and their structure–texture relationships. **LWT- Food Science and Technology**. v. 42, n. 10, p. 1611-1629, 2009.

FRANCE. Décrets, arrêtés, circulaires. Décret n° 2008-984 du 18 septembre 2008. Relatif à l'appellation d'origine contrôlée « *Camembert* de Normandie ». Ministère de L'Agriculture ET de La Pêche. **Journal Officiel de La République Française**. France, 15p, 2008.

FRANCO, B. D. G.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo, SP, Editora Atheneu, 2008.

FRISVAD, J. C.; SAMSON, A. R. Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium* a guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins. **Studies in Mycology**. v. 40, p. 1-52, 2004.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, p.404, 2002.

FOX, P.; MCSWEENEY, P. Proteolysis in cheese during ripening. **Food Reviews International** v. 12.p. 457–509, 1996.

FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H.; COGAN, T. M.; GUINEE, T. P. **Fundamentals of cheese science**. Gaithersburg: Aspen. 587p, 2000.

FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H. Cheese: An Overview. In: FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H.; COGAN, T. M.; GUINEE, T. P.; **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology - Volume 1: General Aspects**. 3 ed. London: Chapman & Hall, 2004.

FOX, P. F.; COGAN, T. M. Factors that Affect the Quality. In: FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H.; COGAN, T. M.; GUINEE, T. P. **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology - Volume 1: General Aspects**. 3 ed. London: Chapman & Hall, 2004.

GAUCHERON, F.; GRAET, L. Y. Determination of ammonium in milk and dairy products by ion chromatography. **Journal of Chromatography.A**. v. 893, n. 1, p 133 -142, 2000.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**, Editora: Varela - Edição: 2003, p. 655, 2003.

GLASER, V. *Participação da mitocôndria na neurotoxicidade induzida por toxicantes endógenos e ambientais em cérebro de roedores*. 2010. 209 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica do Centro de Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2010.

GUÉGUEN, M.; DESMASURES, N.; CORROLER, D.; HENRI-DUBERNET, S.; GENRE, S. Ecologie microbienne des laits et des fromages de camembert. In: **Les fermentations au services des produits de terroir**. Editions INRA, p. 227-231, 2005.

GUINE, T. P.; FOX, P. F. Salt in cheese: Physical, Chemical and Biological Aspect. In: FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H.; COGAN, T. M.; GUINEE, T. P. **Cheese:**

Chemistry, Physics and Microbiology - Volume 1: General Aspects Groups. 3 ed. London: Chapman & Hall, 2004.

GUNASEKARAN, S.; AK, M. M. **Cheese Rheology and Texture**. CRC Press LLC, Florida, 2003.

HARBUTT, J. **O livro do queijo**. São Paulo. Sp. Editora Globo S.A, 2010.

HAYALOGLU, A. A.; TOLU, C.; YASAR, K. Influence of goat breeds and starter culture systems on Gross composition and proteolysis in Gokceada goat cheese during ripening. **Small Ruminant Research**. v. 113, p.231-238, 2013.

HORNE, D. S., BANKS, J. M. Rennet-induced Coagulation of Milk In: FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H.; COGAN, T. M.; GUINEE, T. P. **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology - General Aspects**. 3 ed. London: Chapman & Hall, 2004.

HOU, J.; HANNON, J. A.; MCSWEENEY, O. L. H.; BERESFORD, T. P.; GUINEE, T. P. Effect of curd washing on cheese proteolysis, texture, volatile compounds, and sensory grading in full fat cheddar cheese. **International Dairy Journal**. v.43, n. 2, p.190-198, 2014.

HUTKINS, R. W. **Microbiology and technology of fermented foods**. v. 22. John Wiley & Sons, 2008.

IAL (INSTITUTO ADOLFO LUTZ); **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos físico-químicos para análise de alimentos**, 1ª versão eletrônica. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

KARAMETSI, K.; KOKKINIDOU, S.; RONNINGEN, I.; PETERSON, G. S.; Identification of bitter peptides in aged Cheddar cheese. **Journal of agricultural and food chemistry**. v.62, n. 32, p. 8034 - 8041, 2014.

KIM, S. U.; BAE, H. Y.; KIM, H. Y.; AHN, L.; KWAK, H. A.; Properties of cholesterol-reduced Camembert cheese made by crosslinked β -cyclodextrin. **International Journal of Dairy Technology**. v. 61, n. 4, p. 364 – 371, 2008.

KOBLITZ, M. G. B. **Bioquímica de Alimentos: Teoria e Aplicações Práticas**. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan, 2010.

KOPPEL, K., CHAMBERS, D. Flavor comparison of natural cheeses manufactured in different countries. **Journal of Food Science**. v. 22, n. 5, p.177-187, 2012.

KRASNIEWSKI, I.; MOLIMARD, P.; GILLES, F.; VERGOIGNAN, C.; DURAND, A.; CAVIN, F. J.; COTTON, P. Impact of solid medium composition on the conidiation in *Penicillium camemberti*. **Process Biochemistry**. v. 41, p. 1318-1324, 2006.

LAW, A. B.; GARDENS, S.; COMMON, B. Controlled and accelerated cheese ripening: the research base for new technologies. **International Dairy Journal**. v. 11, p. 383-398, 2001.

LECLERT PERLAT, M. N.; BUONO, F.; LAMBERT, D.; LATRILLE, E.; SPINNLER, H.; CORRIEU, G. Controlled productions of Camembert – type cheeses. **Journal of Dairy**. v.71, p. 246-354, 2003.

LECLERCQ-PERLAT, M. N.; BUONO, F.; LAMBERT, D.; SPINNLER, H.E.; CORRIEU, G.; Controlled production of *Camembert*-type cheeses: Part I. Microbiological and physicochemical evolutions. **Journal of Dairy Research**, v. 71, p. 346–354, 2004.

LECLERCQ-PERLAT, M. N.; PICQUE, D.; RIAHI, H.; CORRIEU, G. Microbiological and Biochemical Aspects of Camembert-Type Cheeses Depend on Atmospheric Composition in the Ripening Chamber. **Journal of Dairy Science**. v. 89, n. 8, p. 3260- 3273, 2006.

LECLERCQ-PERLAT, M. N.; HÉLIAS, A.; CORRIEU, G. Little change takes place in Camembert-type cheese water activities throughout ripening in terms of relative humidity and salt. **Journal of Dairy Science**. v. 96, n. 12, p. 7521- 7525, 2013.

LE DREAN, L.; MOUNIER, J; VASSEUR, V.; ARZUR, D.; HABRYLO, O.; BARBIER, G. Quantification of *Penicillium camemberti* and *P. roqueforti* mycelium by real-time PCR to assess their growth dynamics during ripening cheese. **International Journal of Food microbiology**. v. 138, p. 100-1007, 2010.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. 2. ed. São Paulo: Sarvier, 2000.

LEITE, Z. T. C.; VAITSAMAN, D. S.; DUTRA, P. B. Leite e alguns de seus derivados da antiguidade à atualidade. **Química Nova**. v. 29, n. 4, p. 876-880, 2006.

LEMIEUX, L.; SIMARD, R. Bitter flavour in dairy products. II. A review of bitter peptides from caseins: their formation, isolation and identification, structure masking and inhibition. **Le Lait**. v. 72, p. 335-382, 1992.

LESSARD, M. H.; BÉLANGER, G.; GELAIS, D. S. T.; LABRIEA, S. The composition of Camembert chesse- ripening cultures modulates both mycelial growth and appearance. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 78, n.6, p. 1813- 1810, 2012.

LINTON, M.; MACKLE, A. B.; UPADHYAY, V. K.; KELLY, A. L.; PATTERSON, M. F.; The fate of *Listeria monocytogenes* during the manufacture of Camembert-type cheese: A comparison between raw milk and milk treated with high hydrostatic pressure. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. v. 9, p. 423-428, 2008.

MAARSE, H., VISSCHER, C. A., WILLEMSSENS, L. C., NIJSSEN, L. M.; BOELEN, M. H. Volatile Compounds in Food. **Nutrition and Food Research**. 6. ed, p. 52-55, 1994.

MACÍAS-SANCHÉZ, D.; FRESNO, M.; INDIAS, I. M.; CASTRO, T.; DELANUEZ, A. M.; ÁLVAREZ, S.; ARQUELLO, A. Physicochemical analysis of full-fat, reduced-fat,

and low-fat artisan-style goat cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 9, p. 3950-3956, 2010.

MALLATOU, H.; PAPPA, C. E.; BOUMBA, A. V. Proteolysis in Teleme chesse made from ewes, goats or a mixture of ewers and goats milk. **International Dairy Journal**. v. 14, p. 977-987, 2004.

MARTÍN –del- CAMPO, S. T.; PICQUE, D.; CASÍO-RAMÍREZ, R.; CORRIEU, G. Middle infrared spectroscopy characterization of ripening stages of Camembert-type cheeses. **International Dairy Journal**. v. 17, n. 7, p. 835- 845, 2007.

McSWEENEY, P. L. H.; SOUSA, J. M. Biochemical pathways for the production of flavor compounds in cheeses during ripening: A review. **Le Lait**. v. 80, p. 293-324, 2000.

McSWEENEY, P. L. H. Biochemistry of Cheese Ripening: Introduction and Overview. In: FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H.; COGAN, T. M.; GUINEE, T. P.; **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology - Volume 1: General Aspects**. 3 ed. London: Chapman & Hall, 2004.

MICHALSKI, M. C.; GASSI, J. Y.; FAMELART, M. H.; LECONTE, N.; CAMIER, B.; MICHEL, F.; BRIARD, V. The size of native milk fat globules affects physico-chemical and sensory properties of Camembert cheese. **Le Lait**. v. 83, p. 131-143, 2003.

MOREAU, C. Nomenclature des *Penicillium* utiles à la préparations Du Camembert. **Le Lait**. n. 585- 586, p. 219-233, 1979.

NETO, M. M. O Mercado central de Belo Horizonte: Entre queijos e sabores. **Geograficidade**. v. 1,n. 1, 2012.

NOZIERE, P.; GRAULET, B.; LUCAS, A.; MARTIN, B.; GROLIER, P.; DOREAU, M. Carotenoids for ruminants: From forages to dairy products. **Animal Feed Science and Technology**. v. 131, n.3-4, p. 418-450, 2006.

ORDÓÑEZ, J. A.; RODRIGUEZ, M. I.; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L.; MINGUILLÓN, G. G.; PERALES, L. H.; CORTECERO, M. **Tecnología de Alimentos**. Porto Alegre, RS, Editora Artmed, 2005.

PACHLOVA, V.; BUNKA, F. K.; FLASAROVA, R.; VALKOVA, P.; BUNKOVA, L. The effect of elevated temperature on ripening of dutch type cheese. **Food Chemistry**. v. 132, p. 1846-1854, 2012

PARENTE, E.; COGAN, T. M.; *Starter Cultures: General Aspects*. In: FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H.; COGAN, T. M.; GUINEE, T. P.; **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology - Volume 1: General Aspects**. 3 ed. London: Chapman & Hall, 2004.

PÉRES, C.; BEGNAUD, F.; BERDAGUÉ, L. J. Fast characterizations of Camembert cheeses by static headspace –mass spectrometry. **Sensors and Actuators B**. v.87, p. 491- 497, 2002.

PEREIRA, J. C. **Vacas Leiteiras: Aspectos Práticos da Alimentação**. Viçosa. MG, Editora Aprenda fácil, 2000.

PEROTTI, M. C.; BERNAL, S. M.; MEINARDI, C. A.; ZALAZAR, C. A. Free fatty acid profiles of Reggianito Argentino cheese produced with different starters. **International Dairy Journal**. v. 15, p. 1150- 1155, 2005.

PERRY, S. P. Queijos: Aspectos Químicos, Bioquímicos e Microbiológicos. **Química Nova**. v. 27, n. 2, p. 2993-300, 2004.

PICQUE, D.; LECLERCQ- PERLAT, M. N.; CORRIEU, G. Effects of atmospheric composition on respiratory behavior, weight loss, and appearance of camembert-type cheeses during chamber ripenig. **International Dairy Journal**. v. 89, p. 3250-3259, 2006.

PIRAINO, P.; UPADHYAY, K. V.; ROSSANO, R.; RICCIO, P.; PARENTE, E.; KELLY, L.A.; McSWEENEY P. L. H.. Use of mass spectrometry to characterie proteolysis in cheese. **Food Chemistry**. v. 101, p. 964- 972, 2007.

POLLARD, A.; SHERKAT, F.; SEURET, M. G.; HALMOS, A. L. Textural changes of natural cheddar cheese during the maturation process. **Journal of Food Science**. v. 68, n. 6, p. 2011- 2016, 2003.

PITT, J. I.; CRUICKSHANK, H. R.; LEISTNER, L. *Penicillium commune*, *P. camemberti*, the origin of white cheese moulds, and the procuction of cyclopiazonic acid. **Food Microbiology**. v.3, p. 363-371, 1986.

REZENDE, M. A morfologia e classificação dos fungos. IN: **Microbiologia Média do Curso de Graduação de Medicina**. UFMG. Minas Gerais, 2006.

REIS, C. **Camembert um Ilustre Francês**.2012. Disponível em: <<http://oquedoqueijo.com/2012/12/09/camembert-um-ilustre-frances/>> Acesso em: jul, 2012.

RIBEIRO, J. C. B. avaliação da qualidade de queijos maturados por *Penicillium candidum*. (Dissertação) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2012.

RICHARD, L.; ZADI, H.; Inventaire de la flore bactérienne dominante des Camemberts fabriqués avec du lait cru. **Le Lait**. v. 63, p. 25-42, 1983.

ROCHA, A. M. C. N.; MOTA, C. C. A. R.; MORAIS, A. M. M. B.; Physico-chemical qualities of minimally processed carrot stored under vacuum. **Journal of Foodservice**, Oxford, 18, 23 e 30, Blackwell Publishing Journal compilation. 2007.

ROMANI, S.; SACCHETTI, G.; PITTIA, P.; PINNAVAIA, G. G.; ROSA, S. Physical, chemical, textural and sensorial changes of portioned parmigiano reggiano cheese packed under different conditions. **Food Science and Technology International**. v.8, p. 203-211, 2002.

ROPARS, L.; CRUAUD, C.; LACOSTE, S.; DUPONT, J. A taxonomic and ecological overview of cheese fungi. **International Journal of Food Microbiology**. v. 155, p. 199-210, 2012.

ROTURIEI, J. M.; BARS LE, D.; GRIPON, J. C.; Separation and identification of hydrophilic peptides in dairy products using FMOC derivatization. **Journal of Chromatography A**. v. 696, p. 209- 217, 1995.

SANTILLI, J. Geographical Indications for Agrobiodiversity Products: case studies in France, Mexico and Brazil **Agrobiodiversity and the Law: Regulating Genetic Resources, Food Security and Cultural Diversity**, Earthscan, London. 2012.

SCHMIDT, J. L.; BAROILLER, C. Contribution à l'étude de l'origine des levures du fromage de Camembert. **Le Lait**. v. 70, p. 67-84, 1990.

SCOTT, R. **Fabricación de queso**. Zaragoza, España, Editora Acribia, 1991.

SICARD^a, M.; BAUDRIT, C.; LECLERCQ- PERLAT, M. N.; WUILLEMIN, P. H. Expert knowledge integration to model complex food processes. Application on the camembert cheese ripening process. **Expert Systems with Applications**. v.38, p. 11804 – 11812, 2011.

SICARD^b, M.; PERROT, N.; LECLERCQ-PERLAT, M. N.; BAUDRIT, C.; CORRIEU, G. Toward the integration of expert knowledge and instrumental data to control food processes: application to Camembert-type cheese ripening. **Journal of Dairy Science**. v. 94, n. 1, p. 1- 13, 2011.

SINGH, A.; GUIZANI, N.; AL-ALAWI. A.; CLAEREBOUDT, M.; RAHMAN, S. M. Instrumental texture profile analysis (TPA) of date fruits as function of its physico-chemical properties. **Industrial Crops and Products**. v. 50, p. 866- 873, 2013.

SPINNLER, H. E.; GRIPON, J. C. Surface Mould-ripened Cheeses. In: FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H.; COGAN, T. M.; GUINEE, T. P. **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology** - Volume 2: Major Cheese Groups. 3 ed. London: Chapman & Hall, 2004.

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

STONE, H.; BLEIBAUM, R.; THOMAS, H. A. **Sensory evaluation practices**. Academic press, 2012.

TANIWAKI, M. H.; PITT, J. I.; HOCKING, A. D.; FLEET, G. H. Comparison of hyphal length, ergosterol, mycelium dry weight and colony diameter for quantifying growth of fungi from foods. **Advances in Experimental Medicine and Biology**. v. 571, p. 49– 67, 2006

TOLENTINO, M. C. *Desenvolvimento e caracterização de queijo de massa semidura recoberto com alecrim (Rosmarinus officinalis L.)*. 2013.120f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2013.

TREVISI, E.; ZECCONI, A.; COGROSSI, S.; RAZZUOLI, E.; GROSSI, P.; AMADORI, M. Strategies for reduced antibiotic usage in dairy cattle farms. **Research in Veterinary Science**. v. 96, n.2, p. 229-233, 2014.

UPADHYAY, K. V.; McSWEENEY, P. L. H.; MAGBOUL, A. A. A.; FOX, F. P. Proteolysis in Cheese during Ripening In: FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H.; COGAN, T. M.; GUINEE, T. P. **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology - Volume 1: General Aspects**. 3 ed. London: Chapman & Hall, 2004.

VAHCIC, N.; HRUSKAR, M.; MARKOVIC, K.; BANOVIC, M.; BARIC, I. C. Essential minerals in milk and their daily intake through milk consumption. **Mljekarstvo**. v. 60, n. 2, p. 77-85, 2010.

VAKALERIS, D. G.; PRINCE, W. V.; A rapid spectrophotometric method for measuring cheese ripening. **Journal of Dairy Science**, v. 42, p. 264-276, 1959.

VASCONCELOS, M. P.; ARAÚJO, K. G. L.; VERRUMA, B. M. R. Efeito do pH de coagulação do leite e do tipo de coalho sobre o rendimento de massa na produção de queijo. **Revista Brasileira Agrociência**. v. 10, n. 4, p. 499-502, 2004.

VERNAM, A. H.; SUTHERLAND, J. A. **Leche y productos lácteos**. Zaragoza, Espanha, Editorial Acribia, S. A., 1995.

VITOVA, E.; LOUPANCOVA, B.; ZEMANIVA, J.; STOUDEKOVÁ, H.; BREZINA, P.; BABAK, L. Solid- phase microextractions for analysis of mould cheese aroma. **Czech Journal of food Sciences**. v. 24, n. 6, p. 268-274, 2006.

VOIGT, D. D.; PATTERSON, M. F.; LINTON, M.; KELLY, A. L. Effect of high-pressure treatment of milk prior to manufacture on ripening of Camembert cheese. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. v. 12, p. 1- 5, 2011.

WATKINSON, P.; COKER, C.; CRAWFORD, R.; DODDS, C.; JOHNSTON, K.; MCHENNA, A.; WHITE, N. Effect of cheese pH and ripening time on model cheese textural properties and proteolysis. **International Dairy Journal**. v. 11, p. 455-464, 2001.

WATKINSON, P.; BOSTON, G.; CAMPANELLA, O.; COKER, C.; JOHNSTON, K.; LUCKAMN, M.; WHITE, N. Rheological properties and maturation of New Zealand Cheddar Cheese. **Le Lait**. p. 109-120, 2007.

WOLF, V. I.; PEROTTI, C. M.; BERNAL, M.S.; ZALAZAR, A.C. Study of the chemical composition, proteolysis, lipolysis and volatile compounds profile of commercial Reggiano Argentino cheese: characterization of Reggiano Argentino cheese. **Food Research International**. v.43, p. 1204-1211, 2010.

YANG, Y.; WANG, J.; YUAN, T.; BU, D.; YANG, J.; ZHOU, L.; SUNA, P.; ZHANG, J. Impact of region on the composition of milk fatty acids in China. **Journal oh the Science of Food and Agriculture**. v.93, p. 2864-2869, 2013.

YVON, M.; RIJNEN, L. Cheese flavour formation by amino acid catabolism. **International Dairy Journal**. v.11, n.4-7, p.185-201, 2001.

ZHANG, Y.; LI, P.; CHENG, L. Developmental changes of carbohydrates, organic acids, amino acids, and phenolic compounds in 'Honeycrisp' apple flesh. **Food Chemistry**. v.123, n.4, p.1013-1018, 2010.