



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE  
ALIMENTOS

Área de Concentração: Ciência de Alimentos

**VERIFICAÇÃO DA AUTENTICIDADE DE QUEIJO PRATO UTILIZANDO  
ESPECTROSCOPIA MIR ASSOCIADA À TÉCNICAS QUIMIOMÉTRICAS**

**MESTRANDO (A):** Isabel Cristina de Santana Alves

**ORIENTADOR (A):** Dr<sup>a</sup>. Sibelli Passini Barbosa Ferrão

**CO-ORIENTADOR:** Dr. Leandro Soares Santos

**ITAPETINGA-BA**

**MARÇO-2021**

ISABEL CRISTINA DE SANTANA ALVES

**VERIFICAÇÃO DA AUTENTICIDADE DE QUEIJO PRATO UTILIZANDO  
ESPECTROSCOPIA MIR ASSOCIADA À TÉCNICAS QUIMIOMÉTRICAS**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia como exigências para obtenção do Título de Mestre (a) junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, sob a orientação da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sibelli Passini Barbosa Ferrão.

**ITAPETINGA-BA**

**MARÇO-2021**

637.30287 Alves, Isabel Cristina de Santana.  
A479v Verificação da autenticidade de queijo prato utilizando espectroscopia MIR associada à técnicas quimiométricas. / Isabel Cristina de Santana Alves. – Itapetinga-BA: UESB, 2021.

63f.

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia como exigências para obtenção do Título de Mestre (a) junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Área de Concentração: Ciência de Alimentos. Sob a orientação da Profª. D. Sc. Sibelli Passini Barbosa Ferrão e coorientação do Prof. D. Sc. Leandro Soares Santos.

1. Queijo prato – Autenticidade. 2. Queijo prato - Análise multivariada. 3. Derivados lácteos - Autenticidade. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Programa de Pós-Graduação de Mestrado em Engenharia e Ciências de Alimentos, *Campus* de Itapetinga. II. Ferrão, Sibelli Passini Barbosa. III. Santos, Leandro Soares. IV. Título.

**CDD(21): 637.30287**

Catálogo na Fonte:

Adalice Gustavo da Silva – CRB 535-5ª Região  
Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para desdobramentos por Assunto:

1. Derivados lácteos – Caracterização físico-química
2. Queijo coalho - Propriedades tecnológicas
3. Espectroscopia MIR



Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB  
Recredenciada pelo Decreto Estadual  
Nº 16.825, de 04.07.2016



Itapetinga-BA, 31 de março de 2021.



Governo do  
Estado da Bahia

## DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

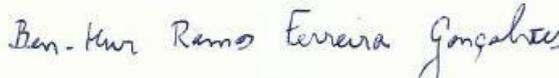
**Título:** VERIFICAÇÃO DA AUTENTICIDADE DE QUEIJO PRATO UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA MIR ASSOCIADA A TÉCNICAS QUIMIOMÉTRICAS.

**Autor (a):** ISABEL CRISTINA DE SANTANA ALVES

**Orientador (a):** Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sibelli Passini Barbosa Ferrão

**Coorientador (a):** Prof. Dr. Leandro Soares Santos

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de **MESTRE EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CIÊNCIA DE ALIMENTOS**, pela Banca Examinadora.

  
Prof. Dr. Ben-Hur Ramos Ferreira Gonçalves  
Membro Externo - UFSB

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Gabrielle Cardoso Reis Fontan  
UESB



Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sibelli Passini Barbosa Ferrão

Orientadora - UESB

Presidente da Banca

Itapetinga-BA, 31 de março de 2021.

*Á Deus*

*Aos meus pais*

*Ás minhas irmãs*

*Á João Lucas,*

*Dedico!*

## ***Agradecimentos***

*Primeiramente, à Deus por me dar vida e saúde para conseguir realizar mais essa etapa desejada na minha vida, e me dá ânimo em meio às dificuldades!!*

*Aos meus familiares, em especial aos meus pais José e Neide, por me darem a vida, sempre me apoiarem em minhas decisões e pelo amparo de sempre, às minhas irmãs, Erica e Franciele por estarem sempre comigo, me fornecendo seu afável amor, às minhas sobrinhas queridas, Sophia e Isadora, pelo brilho no olhar e pelo amor, isso me enche de amor e me fortalece para ser sempre uma pessoa melhor. Ao meu namorado João Lucas, por estar sempre comigo, por sempre me apoiar e ser meu melhor amigo, me dando amor e afeto, e sempre me colocando para cima, fazendo com que eu nunca desistisse, mesmo nos momentos de ansiedade, você foi e é um anjo que Deus me deu para a minha caminhada ser mais leve!!*

*À minha orientadora Dr<sup>a</sup>. Sibelli, pela confiança a mim depositada, pela orientação e sua forma de lidar com a gente, com amor preocupação e carinho, isso faz muita diferença no nosso crescimento!!*

*Aos professores Dr. Ben-Hur, pelas sugestões e colaborações no exame de qualificação e Defesa da dissertação, foram de muita relevância e acrescentou bastante para melhoria do trabalho, à professora Dr<sup>a</sup> Gabrielle Fontan, pelas colocações acerca da melhoria do trabalho, ao professor Dr. Leandro, pela co-orientação, amizade e todo apoio prestado para a melhoria da minha pesquisa!!*

*Aos meus amigos do GEL, em especial à Dani, Rebeca, Lucas, Lari, Lenara, Ingrid e minha enorme gratidão à minha grande amiga Jô, eu não tenho palavras para descrever o quanto você foi importante nesse trabalho o quanto me ajudou e me acolheu, te agradeço imensamente!!*

*À Amanda, pelo auxílio nas análises estatísticas, pela paciência e empenho! E também aos amigos que sempre estavam conosco no laboratório alegrando nossos dias, fazendo com que o trabalho fosse mais prazeroso!!*

*Agradeço a todos os funcionários da UESB, profissionais do serviço gerais, aos professores que contribuíram com meu aprendizado, desde o início do curso, aos meninos da guarita Gilberto e Tarcísio que por diversas vezes não mediram esforços para me ajudarem, vocês são demais!!*

*Aos meus amigos que fiz durante esses dois anos através da pós-graduação, Marcinha, Izis e Dayane, muito obrigada vocês são sensacionais! Todos aqueles que de alguma forma de ajudaram, que se fizeram presentes nos momentos bons e difíceis, meu muito obrigada!!*

*A FAPESB por concessão de bolsa, fazendo-se fundamental na minha permanência e possibilidade de cursar o mestrado!!*

*Enfim, à todos que de alguma forma me ajudou na realização deste trabalho, direta ou indiretamente, meus sinceros agradecimentos!!*

***Muito Obrigada!!***

*O conhecimento serve para encantar pessoas, não para humilha-las!!*  
*“Mário Sergio Cortella”*

## ÍNDICE

<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>10</b>
<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>11</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>16</b>
2.1 Produção de queijos, definição e classificação .....	16
2.2.1 Queijo Prato .....	17
2.2.2 Queijo Muçarela .....	19
2.2.3 Maturação .....	20
2.2 Propriedades Tecnológicas de Queijos.....	21
2.3 Fraude em Queijos.....	22
2.4 Métodos analíticos.....	23
2.4.1 Espectroscopia no infravermelho .....	24
2.4.1.1 Espectroscopia no Infravermelho Médio- MIR .....	25
2.5 Quimiometria.....	26
2.5.1 Análise de Componentes Principais-ACP .....	26
2.5.2 Análise Discriminante .....	27
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>30</b>
3.1 Objetivo Geral .....	30
3.2 Objetivos Específicos .....	30
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>31</b>
4.1 Amostragem .....	31
4.1.1 Processamento do queijo Prato .....	32
4.1.2 Processamento do queijo Muçarela .....	33
4.2 Composição química e características físico-química e índices da proteólise dos queijos produzidos .....	35
4.2.1 Composição química e características físico-química .....	35
4.2.2 Índices da Proteólise dos queijos produzidos .....	36
4.3 Propriedades tecnológicas dos queijos produzidos .....	36
4.3.1 Capacidade de Derretimento.....	36
4.3.2 Elasticidade.....	37

4.4	Aquisição dos espectros dos queijos produzidos e queijos comerciais.....	37
4.4.1	Infravermelho Médio (MIR).....	37
4.5	Análise estatística dos dados .....	38
4.5.1	Análise estatística dos dados de composição química, físico-química e propriedades tecnológicas dos Queijos Produzidos .....	38
4.5.2	Análise estatística multivariada dos espectros obtidos.....	38
4.5.2.1	Análise de Componentes Principais (ACP) .....	38
4.5.2.2	Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais-PLS-DA.....	39
4.5.2.3	Análise Discriminante convencional-AD.....	40
<b>5.</b>	<b>RESULTADO E DISCUSSÃO .....</b>	<b>42</b>
5.1	Composição química e características físico-química e índices da proteólise dos queijos produzidos.....	42
5.2	Propriedades tecnológicas dos queijos Prato e Muçarela produzidos.....	45
5.3	Caracterização espectral dos queijos produzidos por MIR .....	47
5.4	Análise de Componentes Principais-ACP.....	50
5.5	Análise Discriminante-AD.....	52
5.5.1	Análises Discriminantes por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA).....	52
5.5.2	Análise discriminante convencional-AD.....	53
<b>6.</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>56</b>
<b>7.</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>57</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1-</b> Composição química e características físico-químicas do queijo Prato .....	18
<b>Tabela 2-</b> Queijos comerciais e seus respectivos tempos de maturação. ....	31
<b>Tabela 3-</b> Valores médios em cada tempo de maturação, média externa, equações de regressão e coeficientes de regressão dos parâmetros da composição química e físico-químicos dos queijos produzidos e avaliados no tempo 0 e com 10, 15, 20, 25, 35, 45 e 60 dias de maturação.....	42
<b>Tabela 4 -</b> Número de ondas e grupos funcionais encontrados nos espectros dos queijos Prato e Muçarela.....	49
<b>Tabela 5-</b> Número de observações e percentuais de acertos nas etapas de treinamento e validação obtidos por meio de PLS-AD dos queijos Prato e Muçarela nos tempos diferentes tempos de maturação. ....	53
<b>Tabela 6-</b> Número de observações e percentuais de treinamento e validação obtidos por meio de AD dos queijos Prato e Muçarela nos tempos de maturação.....	54
<b>Tabela 7-</b> Classificação das amostras comerciais por dois métodos de discriminação: PLS-DA e AD. ....	54

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1-</b> Tipos de vibrações moleculares .....	25
<b>Figura 2-</b> Fluxograma da produção do queijo Prato .....	33
<b>Figura 3-</b> Fluxograma da produção do queijo Muçarela.....	35
<b>Figura 4-</b> Avaliação da capacidade de derretimento dos queijos produzidos no tempo 0 e com 10, 15, 20, 25, 35,45 e 60 dias de maturação. ....	45
<b>Figura 5–</b> Avaliação da elasticidade do queijos produzidos no tempo 0 e com 10, 15, 20, 25, 35, 45 e 60 dias de maturação.....	46
<b>Figura 6 a)-</b> Espectros de infravermelho médio (MIR) dos queijos Prato (linha contínua) e Muçarela (linha pontilhada) no tempo 0 e com 10, 15, 20, 25, 35, 45 e 60 dias de maturação; <b>b)</b> Espectro ampliado na região de $950\text{ cm}^{-1}$ a $1400\text{ cm}^{-1}$ .....	48
<b>Figura 7-</b> Dispersão das amostras de queijo Prato e Muçarela nos tempo 0 e com 10, 15, 20, 25, 35, 45 e 60 dias de maturação submetidos à Análise de Componentes Principais-ACP.....	50
<b>Figura 8-</b> Dispersão das amostras comerciais de queijo Prato em sobreposição de amostras de queijos Prato e Muçarela produzidas e armazenadas nos tempo 0 e com 10, 15, 20, 25, 35, 45 e 60 dias de maturação submetidos à Análise de Componentes Principais (ACP).....	52

ALVES, I.C.S. **Verificação da autenticidade de queijo Prato utilizando espectroscopia MIR associada a técnicas quimiométricas.** Itapetinga, BA: UESB 2021, 63p. (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos, Área de Concentração em Ciência de Alimentos).

## RESUMO

O queijo Prato é um dos queijos mais produzidos no Brasil, sendo maturado, o que lhe confere características peculiares, porém onera e delonga sua expedição das fábricas. No entanto, o queijo Muçarela apresenta algumas similaridades com o Prato e não necessita de maturação, o que pode levar produtores a adulterarem esses produtos, comercializando Muçarela como Prato. Objetivou-se verificar a autenticidade do queijo Prato por caracterização físico-química, propriedades tecnológicas e espectroscopia no Infravermelho Médio (MIR), associada à ferramentas quimiométricas. Para diferenciação e validação, foram produzidas 80 amostras de queijos, sendo 40 de Prato e 40 de Muçarela, e realizadas análises de caracterização físico-química (pH, acidez, umidade, gordura no extrato seco-GES, proteína, cinzas, extrato seco total-EST, cloretos e índices da proteólise), propriedades tecnológicas (derretimento e elasticidade) e análises espectrais por MIR nos tempos 0, e com 10, 15, 20, 25, 35, 45 e 60 dias de maturação. Foram obtidas 20 amostras comerciais de queijo Prato, de 12 marcas distintas, no mercado varejista para que fosse verificada sua autenticidade a partir dos modelos criados. As variáveis físico-químicas e propriedades tecnológicas foram analisadas por um sistema fatorial 2x8 (2 tipos de queijos e 8 tempos de maturações) utilizando teste F para verificar diferenças entre os tipos de queijos e análise de regressão para analisar o comportamento das variáveis dos queijos na maturação. Os dados obtidos por MIR foram analisados por Análises de Componentes Principais (ACP) e Análise Discriminante (AD e PLS-DA). A interação foi significativa para pH, acidez, derretimento e elasticidade, e seus comportamentos diante aos tempo, também foram significativas, sendo crescentes para acidez do queijo Prato, e o derretimento de ambos, decrescente para pH e quadrática para ambos, declinando mais rapidamente no queijo Prato do que no Muçarela ao longo do tempo. Os parâmetros umidade, EST, proteína, índice de extensão da proteólise-IEP e índice de profundidade da proteólise-IPP apresentaram diferenças significativas nas médias externas, e os índices da proteólise foram crescentes para dois tipos de queijos submetidos aos tempos de maturação. A aplicação da ACP possibilitou a separação dos queijos, observando-se a formação de dois grupos, sendo um somente de amostras de queijos Prato e outro somente de amostras de Muçarela. Em relação os queijos comerciais, 16 amostras ficaram em sobreposição das amostras de queijo Muçarela e 4 amostras em sobreposição ao queijo Prato. Os métodos discriminantes tiveram altos índices de capacidade de classificação, sendo maiores que 84%. Para os dois métodos as amostras comerciais foram classificadas em sua totalidade como queijo Muçarela, obtendo percentuais maiores que 82,5% de probabilidade de serem classificadas como Muçarela. As técnicas utilizadas foram eficientes na diferenciação e classificação das amostras, revelando que as amostras comerciais analisadas não foram autênticas para queijo Prato.

**Palavra-Chave:** Adulteração, Multivariada, Proteólise

ALVES, I.C.S. **Verification of the authenticity of Prato cheese using MIR spectroscopy associated with chemometric techniques.** Itapetinga, BA: UESB 2021, 63p. (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos, Área de Concentração em Ciência de Alimentos).

## **ABSTRACT**

Prato cheese is one of the most produced cheeses in Brazil, being matured, which gives it peculiar characteristics, but it burdens and delays its expedition from the factories. However, Muçarela cheese has some similarities with the dish and does not require maturation, which can lead producers to adulterate these products, selling Muçarela as a dish. The objective was to verify the authenticity of Prato cheese by physical-chemical characterization, technological properties and spectroscopy in the Middle Infrared (MIR), associated with chemometric tools. For differentiation and validation, 80 cheese samples were produced, 40 from Prato and 40 from Muçarela, and physical-chemical characterization analyzes were carried out (pH, acidity, moisture, fat in the GES dry extract, protein, ash, total dry extract -EST, chlorides and proteolysis indexes), technological properties (melting and elasticity) and spectral analyzes by MIR at times 0, and with 10, 15, 20, 25, 35, 45 and 60 days of maturation. Twenty commercial samples of Prato cheese, from 12 different brands, were obtained in the retail market to verify their authenticity based on the models created. The physical-chemical variables and technological properties were analyzed by a 2x8 factorial system (2 types of cheese and 8 maturation times) using the F test to verify differences between the types of cheese and regression analysis to analyze the behavior of the cheese variables in the maturation. The data obtained by MIR were analyzed by Principal Component Analysis (ACP) and Discriminant Analysis (AD and PLS-DA). The interaction was significant for pH, acidity, melting and elasticity, and their behaviors over time, were also significant, increasing for the acidity of Prato cheese, and the melting of both, decreasing for pH and quadratic for both, declining more quickly in Prato cheese than in Muçarela over time. The parameters moisture, EST, protein, proteolysis extension index-IEP and depth index of proteolysis-IPP showed significant differences in external averages, and the proteolysis indexes were increasing for two types of cheese submitted to maturation times. The application of ACP enabled the separation of cheeses, observing the formation of two groups, one only of samples of Prato cheeses and the other only of samples of Muçarela. Regarding commercial cheeses, 16 samples were in overlapping samples of Muçarela cheese and 4 samples were overlapping with Prato cheese. The discriminating methods had high indexes of classification capacity, being greater than 84%. For both methods, commercial samples were classified in their entirety as Muçarela cheese, obtaining percentages greater than 82.5% probability of being classified as Muçarela. The techniques used were efficient in differentiating and classifying the samples, revealing that the commercial samples analyzed were not authentic for Prato cheese.

**Keyword:** Adulteration, Multivariate, Proteolysis

## 1. INTRODUÇÃO

O início da produção do queijo Prato no Brasil ocorreu nos anos 20 do século passado, por imigrantes dinamarqueses inspirados em queijos genuínos de seu país como o Danho, Tybo, Fynbo, Elbo e Havarti (AMARANTE, 2011; FURTADO, 2019). É um dos queijos mais produzidos no Brasil, atrás apenas da Muçarela (ABIQ, 2019), sendo também um dos mais consumidos, principalmente para o preparo de sanduíches.

Suas características são provenientes de massa semicozida e lavada, o que explica sua consistência macia, sabor suave, massa fechada, podendo apresentar olhaduras (FURTADO, 2019). O processo de fabricação do queijo Prato apresenta etapas distintas que vão desde coagulação e corte da massa até a maturação (CRUZ et al., 2017), sendo muito similar ao do queijo Muçarela, distinguindo principalmente na etapa de filagem, adição de corante e o tempo de maturação, promovendo diferenças que vão definir características únicas para cada queijo (BRASIL, 1997a; BRASIL, 1997b).

A maturação é um processo em que ocorrem transformações bioquímicas desejáveis que vão alterar aspectos sensoriais e visuais, no entanto requer condições específicas de temperatura e umidade controladas demandando de câmaras especiais, se tornando um processo mais caro e lento, diminuindo assim o capital de giro do produtor por retardar a comercialização do produto (URZEDO, 2008). Neste contexto, as similaridades do queijo Prato e Muçarela proporcionam vulnerabilidade à fraudes, pois segundo Brasil (1997a) o queijo Prato requer um tempo mínimo de maturação de pelo menos 25 dias, e dessa forma especula-se que é ilegalmente vendido antes do tempo necessário, ou até mesmo fabricado como Muçarela com adição apenas do corante urucum, uma vez que no seu processo de filagem a Muçarela adquire propriedades visuais e de maciez muito semelhantes ao do Prato em poucos dias, além do prazo mínimo exigido de maturação ser apenas de 24 horas (BRASIL, 1997b).

O conhecimento das etapas de processamento de queijos é necessário para que se utilizem técnicas como forma de verificar a autenticidade deste alimento, pois a idoneidade da fabricação de produtos lácteos vem sendo bastante discutida. Com o advento de um consumo cada vez “mais consciente”, o consumidor está à procura de alimentos que não atendam somente aos requisitos do ponto de vista higiênico-sanitário e características sensoriais mas também por outras peculiaridades que se tornaram importantes ao longo do tempo na escolha de um alimento, tais como seu valor nutritivo e sua autenticidade (LEITE et al., 2019).

Diversas técnicas analíticas identificam a composição dos alimentos, que podem ser correlacionados a informações acerca dos processos tecnológicos utilizados nos diversos produtos. Dentre essas técnicas, a Espectroscopia no Infravermelho Médio (MIR) se destaca por ser robusta,

rápida e não requer utilização extensiva de reagentes químicos, além de não exigir preparos mais complexos das amostras. A partir do espectro infravermelho gerado é obtido um número expressivo de variáveis correlacionadas e se tem informações ao longo de todo espectro sendo necessário que seja realizada associação de ferramentas de calibração multivariadas para que o analista consiga fazer interpretações dos resultados (LEITE et al., 2019).

Silva et al.(2019), Leite et al. (2019), Conceição et al. (2018), Gonçalves et al.(2020) e Jesus et al. (2020) realizaram estudos precisos e confiáveis aplicando as ferramentas de espectroscopia no infravermelho associadas às técnicas multivariadas para verificar ações fraudulentas em produtos lácteos para verificação de mistura de leite de diferentes espécies, na adição de ingredientes para aumentar a retanbilidade em queijos e verificação do cumprimento do tempo adequado de maturação de queijos artesanais.

Neste contexto, visando a verificação da autenticidade do queijo Prato, objetivou-se com a execução deste trabalho utilizar a espectroscopia MIR aliado a análises quimiométricas para verificar da autenticidade do queijo Prato.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Produção de queijos, definição e classificação**

Pode-se dizer que a produção de queijos iniciou-se por acaso, a partir da domesticação de animais produtores de leite. Quando se obtinha na ordenha mais leite que o necessário, a sobra era deixada em depósito para o consumo posterior. Com isso, constatou-se que o leite se dividia em duas partes, uma sólida (coalhada) e uma líquida (soro). Retirando-se o soro, obtinha-se a matéria-prima que, separada e salgada é usada até hoje na fabricação de qualquer tipo de queijo (ROBERT, 2007). Mesmo que o processo de produção de queijos seja comum a todos, há algumas variações, sejam essas na origem do leite, nas técnicas de processamentos ou no tempo de maturação, gerando uma imensa variedade do alimento, cerca de mais de dois mil tipos (PERRY, 2004).

No Brasil, a definição de queijo é descrita como o produto fresco ou maturado obtido pela separação do soro do leite ou pela reconstituição integral, parcial ou até totalmente desnatado, podendo ser também obtido a partir de soros lácteos, coagulados por meio da ação física do coalho, de ação de bactérias específicas, de combinações de ácidos orgânicos ou isolados, todos devendo apresentar qualidade apta para consumo alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias como especiarias, condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes (BRASIL, 2017).

Um levantamento realizado em 2017 pela Associação Brasileira das Indústrias de Queijos (ABIQ) e pela Associação Brasileira de Supermercados (ABRAS) revelou que o Brasil ocupa a terceira posição no ranking mundial de produção de queijos, com cerca de 1,2 milhões de toneladas/ano, ficando atrás de países como Estados Unidos que produziu 5,3 milhões de toneladas/ano e Alemanha com 2,2 milhões de toneladas/ano. Praticamente todo queijo que é produzido no Brasil é consumido no país, uma pequena parcela é exportada, sendo que esse consumo foi em média de 5,4 kg de queijos/habitante/ano em 2017, com perspectiva de chegarem a 7,5 kg para o ano de 2020, e em 2030 atingir a meta de média de 9,6 kgde queijo por habitante/ano (ABRAS, 2019).

O queijo é considerado uma importante fonte nutricional por possuir em sua composição nutrientes como proteínas, fósforo, cálcio e alguns micronutrientes. De acordo com Brasil (1996), os queijos podem ser classificados de acordo sua composição em gordura e umidade. Dessa maneira, queijos com no mínimo 60% de gordura na matéria seca são queijos extra gordos ou duplo creme, de 45 a 59,9% são os queijos gordos, de 25 a 44,9% são os semigordos, de 10 a 24,9% são os considerados magros e aqueles que apresentam menos de 10% de gordura no extrato seco são os classificados como queijos desnatados. Em relação à umidade dos queijos, aqueles que apresentam até 35,9% de umidade são os de baixa umidade, de 36 a 45,9% são de média umidade, de 46 a 54,9% são os de alta umidade

e por fim, aqueles que têm em sua composição no mínimo 55% umidade são denominados de muita alta umidade.

O Brasil produz uma grande variedade de queijos, que refletem a sua própria formação cultural. Há queijos mais tipicamente brasileiros e há outros inspirados nos conhecimentos queijeiros trazidos ao país por franceses, dinamarqueses, italianos e, aqueles queijos introduzidos por hábitos alimentares ingleses e americanos. Atualmente os queijos mais produzidos e consumidos no Brasil são os queijos Muçarela e o queijo Prato, seja como aperitivo ou na culinária (ABIQ, 2019).

### **2.2.1 Queijo Prato**

O Prato é um queijo, destinado ao consumo puro, em sanduíches, saladas e aperitivos (ABIQ, 2019). Segundo Brasil (1997a), entende-se por queijo Prato o queijo maturado que se obtém por coagulação do leite por meio do coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não pela ação de bactérias lácticas específicas. Tem por características distintas a obtenção de uma massa semicozida, com remoção parcial do soro e lavada por adição de água quente, pré-prensada, sob soro moldada, prensada, salgada e maturada. Apresenta diversas variedades com diferentes formas sendo elas: queijo Prato-lanche ou Sandwich (paralelepípedo de seção transversal retangular), queijo Prato-cobocó (cilíndrico), queijo Prato-esférico ou bola (esférico). O peso destes queijos varia de 0,4 a 5 kg de acordo com sua variedade correspondente.

Para garantir segurança do alimento e qualidade, no processo de produção do queijo Prato é obrigatório que ocorra um processo de pasteurização ou tratamento térmico equivalente, para assegurar fosfatase alcalina residual negativa. O processo da pasteurização causa insolubilização do cálcio, com isso se faz necessária a utilização do mesmo, em que se encontra na forma de cloreto de cálcio, em termos práticos, serve para dar firmeza à coalhada e reduzir o tempo de coagulação (BRASIL, 1997a).

A fabricação do queijo Prato é feita com a adição de culturas lácteas que são bactérias importantes na fermentação da lactose e acidificação do leite. Essas bactérias, por sua vez, favorecem a atividade da renina, contribuem para a expulsão de soro da massa e auxiliam na prevenção do desenvolvimento de outras bactérias indesejáveis (FOX et al., 2000). A cultura láctea utilizada para o queijo Prato é composta por bactérias *Lactococcus lactis* e *Lactococcus cremoris*, microrganismos homofermentativos que não produzem gases e são muito proteolíticos (FOX et al., 2000; ROBERT, 2007; FURTADO, 2019). A cor amarelada desse queijo é adquirida por uma substância carotenóide chamada *norbixina*, contida na semente da *Bixaorellana*, vegetal comumente conhecido no Brasil como urucum, utilizado unicamente para atribuir um visual atrativo ao produto (FURTADO, 2019). Em sequência é adicionado o coalho ou agente coagulante que tem como função coagular a caseína

presente no leite, podendo ser utilizada tanto coalhos quanto enzimas coagulantes apropriadas, com objetivo de quebra da ligação peptídica Phe105 – Met106, além de promover efeito no processo proteolítico (BRASIL, 1997a; PERRY, 2004; De PAULA et. al., 2009). Após essas etapas é obtida a massa coalhada que é cortada, agitada e aquecida à uma temperatura média de 42°C. Por fim, ao adquirir o ponto de massa a mesma é prensada, salgada, embalada e maturada (ROBERT, 2007).

De forma geral, esse queijo pode apresentar algumas olhaduras lisas, brilhantes e redondas, sendo a tecnologia de fabricação do queijo Prato adaptada às condições locais, o que explica as diferenças de sabor e abertura de massa observadas no Prato em relação aos queijos que lhe deram origem (SPADOTI et al., 2003).

O queijo Prato é classificado como como gordo (45 a 59,9% de matéria gorda no extrato seco) e de média umidade (36 e 46%) (BRASIL,1997a). Alguns dos parâmetros físico-química desse queijo estão apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1-**Composição química e características físico-químicas do queijo Prato

<b>Parâmetros</b>	<b>Valores</b>
Umidade (%)	39,6-44,0
Gordura (%)	27,8-29,0
EST (%)	41,0-60,3
GES (%)	49,0-52,0
Proteína (%)	22,6-22,9
pH	5,03-5,13
Sal (%)	1,68-2,16

EST=extrato seco desengordurado total; GES=gordura no extrato seco.

**Fonte:** Alves et al. (2013); Chaves e Gigante, (2016); Baptista et al. (2017).

Os valores médios dos parâmetros umidade, gordura, EST, GES, pH e sal são encontrados em trabalhos como os de Alves et al. (2013), Chaves e Gigante (2016) e Baptista et al. (2017). Esses parâmetros são importantes para composição do queijo, de forma que o caracteriza. A gordura por exemplo, é participante de diversos funções no queijo, como aspectos sensoriais de sabor, cremosidade, aroma e sensações de saciedades, além de outros aspectos, como maciez, suculência contribuindo nas sensações de texturas do alimento (GARCIA e PENNA, 2010).

O pH do queijo Prato é influenciado diretamente pelo processamento utilizado de lavagem da massa, sendo utilizadas duas opções: com lavagem e sem lavagem da massa. Quando se realiza a

lavagem da massa essa etapa é chamada de delactosagem, que consiste na retirada do soro e adição de água quente em torno de 80 °C, adicionada aos poucos aumentando 1°C a cada 3 minutos até que a temperatura da massa chegue em 40 a 42°C. Quando no processamento não se utiliza a lavagem o aquecimento ocorre de forma direta, em que não se retira o soro e se chega na mesma temperatura. A lavagem da massa retira parcialmente o soro e, conseqüentemente, uma quantidade de lactose, ficando o queijo com menor teor de lactose, o que leva a menor taxa de degradação da lactose em ácido láctico, fazendo com que o pH do produto apresente valores mais altos na saída da linha de produção (CRUZ et al., 2017).

Chaves e Gigante (2016) avaliaram a viabilidade de culturas lácteas probióticas *Lactobacillus acidophilus La5* e *Bifidobacterium Bb12*, separadamente ou em combinação no amadurecimento do queijo Prato, não utilizaram a delactosagem para não ter perdas em suas culturas e verificaram menores valores de pH (5,03) no tratamento controle com *Lactococcus lactis* e *Lactococcus cremoris*.

### **2.2.2 Queijo Muçarela**

Introduzido no Brasil por imigrantes italianos, o queijo Muçarela era feito a partir do leite de búfala, e com o tempo foi se popularizando e hoje é utilizado em muitos pratos da culinária brasileira, passando a ser produzido com o leite de vaca que é mais abundante. É o queijo de maior produção e consumo nacional, e devido a uma vasta tecnologia de produção desse queijo, há uma grande variação em sua qualidade final (ABIQ, 2019). Enquadra-se dentro dos queijos de pasta-filada, desta maneira necessita que sua massa seja fermentada para que posteriormente seja submetida a um tratamento térmico e assim obter plasticidade, conferindo uma estrutura de característica fibrosa, em que as fibras são paralelas e sobrepostas, resultado do processo da filagem (FURTADO, 2016).

É classificado segundo seu regulamento como um queijo de média, alta ou muito alta umidade, podendo apresentar até 60% de umidade, e quanto ao teor de gordura em extra-gordo, gordo a semigordo, com o mínimo de 35%. Em seu processamento é realizada a filagem de uma massa acidificada em que é precisamente o produto intermediário obtido por coagulação de leite por meio de coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não pela ação de bactérias lácticas específicas e o tempo mínimo de estabilização/maturação exigido é de 24 horas (BRASIL, 1997b).

O processo de filagem caracteriza-se por esticagem da massa fermentada em água com temperaturas entre 55 a 80 °C com objetivo de fundir a massa e ocorrer o alinhamento paralelo das fibras (BÄHLER et al. 2016; NGUYEN et al., 2017). A filagem é um procedimento em que auxilia na determinação das propriedades tecnológicas do queijo, pois fatores como fermentação é uma etapas

que a precede, acarretam em abaixamento do pH, que pode variar de 4,80 a 5,10 e, por consequência, desmineraliza a massa, fazendo com que o queijo obtenha maior capacidade de derretimento e elasticidade em comparação à queijos de pasta não filadas em menos tempo de maturação, além de maior maciez, pelo anranjo da posição de suas fibras (FURTADO, 2016; GONÇALVES, 2016; CRUZ et al., 2017).

### 2.2.3 Maturação

A maturação é um processo importante para melhoria das características dos queijos. É a última fase da fabricação, podendo variar de semanas a até mais de dois anos, dependendo do queijo produzido. Durante esse período, sob a ação de enzimas lipolíticas e proteolíticas, uma série de fatores de ordem biológica, química e bioquímica acontecem numa sucessão complexa (COSTA JÚNIOR et al., 2014). A forma como acontecem essas alterações está diretamente relacionada ao tempo de maturação e também pelas condições do ambiente em que ocorre o processo, como a umidade relativa do ar que controla a desidratação dos queijos, a temperatura que quanto mais alta mais acelera a maturação, fatores intrínsecos do queijo como umidade da massa e pH, além de microrganismos e enzimas endógenas do leite (GALLI et al., 2016).

A maturação gera alterações de sabor, aroma e textura em função da ação de diversas enzimas, entre elas proteases que atuam sobre a textura e na liberação de aminoácidos que são transformados em compostos de *flavour* (aldeídos, aminas e ácidos) (KOBBLITZ, 2008). Os queijos maturados sofrem diversas alterações, em grande parte devido ao processo denominado proteólise. O queijo Prato é um queijo maturado por no mínimo 25 dias, logo, a proteólise desempenha um papel importante na formação das características do produto final (BRASIL, 1997a; BAPTISTA, 2016).

Entre as transformações geradas pela proteólise está a quebra das proteínas a peptídeos, e a partir deles são formados os aminoácidos e por meio da degradação dos aminoácidos podem ser formados os compostos como aldeídos, aminas, ácidos orgânicos, álcoois secundários e compostos sulfurados (UPADHYAY et al., 2004; KOBBLITZ, 2010). Os peptídeos formados apresentam importância no impacto do sabor e aroma de queijos maturados. Entretanto, acredita-se que a principal contribuição da proteólise para formação do sabor dos queijos é a liberação de aminoácidos que atuam como precursores de complexas reações de catabolismos que propiciam a formação de compostos voláteis (McSWEENEY, 2004).

A proteólise do queijo é indicada pela elevação da extensão e da profundidade que ocorre ao passar do tempo. O índice de extensão está especificamente relacionado com as proteinases naturais do leite e do agente coagulante, as quais degradam a proteína em peptídeos de alta massa molecular. Já o índice de profundidade está principalmente relacionado com as atividades das endoenzimas e

exoenzimas da cultura láctea utilizadas na produção do queijo e também de possíveis contaminantes que podem degradar os peptídeos de alto peso molecular e de baixo peso molecular (NARIMATSU et al., 2003).

No queijo Prato esse processo acarreta em mudanças na textura, por meio da hidrólise da matriz protéica, aumentando a capacidade de retenção de água devido à quebra das ligações peptídicas, levando a menor firmeza tornando-o mais macio (DE RENSIS, et al., 2009). Baptista et al. (2016) verificaram diminuição da dureza em amostras de queijo Prato com 30 dias de maturação. Silva et al. (2017) também verificaram comportamentos semelhantes para o mesmo período de tempo. Além disso, o efeito da proteólise também causa alteração em outros atributos sensoriais do queijo Prato, como observado por Garcia e Penna (2010) ao estudarem os atributos sensoriais em amostras de queijos Prato em relação ao tempo de maturação de 30 e 60 dias, verificando que com o passar do tempo os queijos tiveram maiores pontuações que indicaram uma melhora na cor e na aparência do produto, apontando maior apreciação pelos provadores após 30 dias de maturação.

## **2.2 Propriedades Tecnológicas de Queijos**

As etapas de fabricação dos queijos são aspectos importantes na sua composição e formação final, sendo essas etapas pontos críticos para determinação do produto que se almeja obter. Queijos que para sua caracterização necessitem ou não de maturação tem particularidades específicas e cruciais para suas propriedades tecnológicas. O queijo Prato por sua vez, apresenta particularidades nessas propriedades em relação ao seu processamento e ao tempo de maturação que ele deve ser submetido (FURTADO, 2019).

As propriedades tecnológicas do queijo, também denominadas de acordo com Furtado (2019) de propriedades funcionais, são aquelas que o fazem ter capacidade de derreter ou de apresentar boa elasticidade quando submetido à temperatura de fusão, além de se não separar demasiadamente da gordura e sem mudar drasticamente sua cor, em condições de calor intenso. Desse modo, há uma grande procura dos consumidores por produtos que apresentem características tradicionais de sabor, aroma e textura.

A textura, segundo a Associação Brasileira de Normas Técnicas, é definida como todas as propriedades reológicas e estruturais geométricas e de superfície de um alimento que são perceptíveis pelos receptores mecânicos, táteis e eventualmente pelos receptores auditivos e visuais (ABNT, 1993). Assim, a composição química inicial dos queijos e suas etapas de processamento são fatores responsáveis por influenciarem a textura desse produto. Deve-se então ter o controle dos parâmetros que podem afetar a textura, para que assim se consiga produzir queijos que vão de mais macios até

aqueles mais duros, pois a disparidade do produto original pode influenciar diretamente a qualidade e satisfação do consumidor (REN et al., 2013; SILVA et al., 2015). Segundo Furtado (2019), o teor de cálcio é que regula em grande parte a textura, desse modo, queijos duros apresentam mais cálcio e geralmente menos umidade, enquanto os semiduros, como é caso do Prato, possuem menos cálcio e maior umidade, entretanto apresentam textura flexível e com boa elasticidade, o que é devido ao seu processamento.

O derretimento acontece quando o queijo é aquecido a uma dada temperatura, gerando uma mudança de fase. A gordura presente está em seu estado sólido, com o calor passa desse estado para o estado líquido e as moléculas de caseína também sofrem uma reorganização física. À medida que a água do queijo começa a evaporar são formadas bolhas junto à matriz proteica, dessa maneira, o derretimento pode ser afetado por todo tratamento que interfere nessa matriz (FURTADO, 2016). O aumento na capacidade de derretimento durante o armazenamento pode estar relacionado mais à hidrólise secundária da proteína do que à hidrólise inicial (GARCIA e PENNA, 2010). Segundo Narimatsu et al. (2003), quanto maior for a proteólise maior será o derretimento, ou seja, queijos que apresentam maturação em suas etapas de fabricação são mais propensos ao derretimento. Esses mesmo autores encontraram diferenças significativas no derretimento de queijos Pratos com mais tempo de maturação que passaram por processo de ultrafiltração.

Outro comportamento que a temperatura aplicada no queijo pode desempenhar é a elasticidade, que é a resistência do estiramento quando submetidos ao calor durante o processo de amassamento do queijo, em outras palavras, se refere à resistência das fibras do queijo quando o mesmo é esticado (OLIVEIRA, 2009). A elasticidade é dependente tanto do nível da relação de cálcio e fosfato quanto da proteólise, dessa maneira, os ingredientes e a condução do processamento são fundamentais nesse aspecto. Desse modo, o valor do pH, a cultura láctea e o coalho presentes são determinantes na maior ou menor elasticidade, pois pH mais elevados, significa menor desmineralização, conseqüente menor elasticidade, bem como, menores células viáveis de cultura láctea e coalho fazem com que a proteólise seja mais tardias e elasticidade menos intensas (FURTADO, 2016).

De Rensis et al. (2009) analisando o processo de maturação de queijos Prato nos tempos de 30 e 60 dias, constataram que com o tempo o queijo foi ficando menos elástico, correlacionando este fato com a proteólise primária, pois ao passo que esta acontece, ocasiona diminuição na firmeza e na elasticidade, conseqüentemente tornam-se mais macios.

### **2.3 Fraude em Queijos**

Alimentos fraudados são aqueles que têm sido privados, parcialmente ou totalmente, de seus componentes, sendo substituídos ou não por outros, que pouco alterem a aparência e o sabor do produto (FILHO et al., 2013). Os casos de fraudes em alimentos no Brasil são agravados pelas recorrentes descobertas de adulteração de vários tipos de alimentos, sobre tudo em leite e seus derivados (CRUZ et al., 2018).

Os relatos de fraudes de queijos no Brasil são movidos normalmente por razões econômicas (EGITO et al., 2006). Ribeiro et al. (2012) avaliaram nove marcas diferentes de queijo tipo Parmesão comercializados em Ponta Grossa-PR, e identificaram adulteração com adição de amido em uma das marcas analisadas. Jesus et al. (2020) estudaram o tempo de maturação de queijos típicos da cultura mineira e constataram que de 12 amostras comerciais estudadas, 58% apresentaram diferentes tempos de maturação ao que foi indicado no rótulos de suas embalagens.

Segundo Urzedo (2008), as fraudes associadas com o tempo da maturação de queijos podem ser explicadas porque a maturação é um processo lento que demanda tempo, câmaras especiais com umidade e temperatura controladas, o que por consequência reduz o capital de giro do produtor pela demora na comercialização do produto, fazendo com que produtores descumpram esses prazos da fabricação e vendam seus queijos antes do tempo adequado de maturação, gerando uma descaracterização no produto.

Considerando-se o queijo Prato, que requer pelo menos 25 dias de maturação para atingir suas características específicas (BRASIL, 1997a), devido a esse custo de produção e espera do tempo de maturação para retorno financeiro, especula-se que é vendido queijo Muçarela como queijo Prato, pela semelhança da produção, do produto final e pelo fato do curto tempo que a Muçarela é expedida, além de este ser o queijo mais produzido e consumido no país, dessa forma seu processamento está presente praticamente todos os dias na linha de produção das fábricas (ABIQ, 2019).

As ações fraudulentas por parte de produtores de alimentos estimulam o desenvolvimento de novos procedimentos analíticos, afim de monitorar e garantir a segurança alimentar humana (NASCIMENTO et al., 2017).

## **2.4 Métodos analíticos**

A determinação da composição química e físico-química por métodos tradicionais ainda é amplamente utilizada, entretanto demandam de muito tempo, são onerosos além de causar danos ao meio ambiente por descartes indevidos de resíduos químicos (MADALOZZO, 2009).

Segundo Madalozzo (2009), as técnicas tradicionais para análises de composição podem trazer riscos ao técnico do laboratório, devido aos reagentes utilizados que podem apresentar riscos à saúde, além do tempo que é necessário para realização das análises.

No entanto, para priorizar o suprimento de alimentos seguros, uniformes e com qualidade é necessário que o sistema produtivo mantenha o controle rigoroso de qualidade, que atenda os critérios dos órgãos de fiscalização e a demanda do mercado consumidor. Para que isso ocorra de maneira eficiente é preciso priorizar a adoção de métodos que sejam eficientes e rápidos. Por consequência, as metodologias que utilizam técnicas instrumentais como a espectroscopia no infravermelho (IR) tem sido muito utilizadas nos últimos anos, objetivando a redução do tempo de análise e gastos com reagentes, de modo que a eficiência e a confiabilidade das metodologias tradicionais sejam mantidas (SAUER-LEAL et al., 2008).

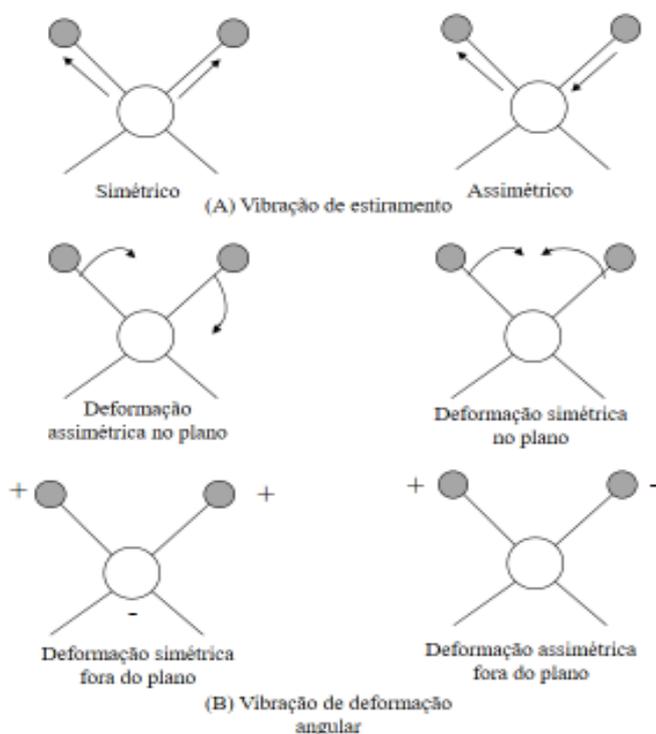
Sauer-Leal et al. (2008) estudaram a composição físico-químico do queijo Prato por métodos tradicionais frente à IR associados a análises quimiométricas e verificaram que a utilização da espectroscopia propiciou resultados exatos, precisos e coerentes aos dos métodos tradicionais para as determinações dos componentes do queijo como gordura, proteína, umidade, extrato seco, cinzas e pH.

#### **2.4.1 Espectroscopia no infravermelho**

A descoberta do infravermelho foi feita pelo astrônomo alemão Willian Herschel no ano de 1800, quando tentava medir com um termômetro de mercúrio a temperatura das cores vindas do espectro de um cristal de vidro ele notou que a temperatura tendia a aumentar além do espectro vermelho da luz visível, nomeando essa região de “raios caloríficos”, e com o tempo essa região passou a se chamar “região de infravermelho” (PASQUINI, 2003). A região do infravermelho de vibração emprega raios eletromagnéticos compreendidos na faixa de  $12.800\text{cm}^{-1}$  a  $10\text{cm}^{-1}$ , situando-se na faixa de 780 e 1000.000nm em termos de comprimentos de ondas, estando então esta parte do espectro abrangida entre a luz visível e as micro-ondas (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002).

A matéria física possui átomos, que por sua vez não se encontram estáticos e sim em uma série de movimentos vibracionais, translacionais e rotacionais, existindo dois tipos de vibrações moleculares, estiramento e de deformação angular (SKOOG et al., 2002). Nas vibrações de estiramentos ocorrem deformações axiais que podem variar a direção denominando-se de simétrica ou assimétrica se forem, respectivamente, em mesma direção ou direções diferentes. Já na deformação angular a vibração ocorre em relação ao eixo de uma molécula, alterando o ângulo da mesma, podendo ser de quatro formas: tesoura, balanço, sacudida e torção (Figura 1) (SKOOG et al., 2002; SOARES, 2006).

**Figura 1**-Tipos de vibrações moleculares



Fonte: SKOOG et al. (2002).

Convencionalmente a região do infravermelho é dividida em três: região do infravermelho próximo (12800 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ ), infravermelho médio (4000 a 200  $\text{cm}^{-1}$ ) e infravermelho distante (200 a 10  $\text{cm}^{-1}$ ) (SKOOG, 2009).

#### 2.4.1.1 Espectroscopia no Infravermelho Médio- MIR

O infravermelho médio (MIR) é uma técnica em que se observa a faixa de número de onda entre 4000 $\text{cm}^{-1}$  e 400 $\text{cm}^{-1}$  e pode ser empregada para detectar a qualidade dos alimentos, como os produtos lácteos. Sendo utilizado no controle do processo de maturação, verificação de aminoácidos, investigação da autenticidade e denominação de origem do queijo (LEITE et al., 2019). Atualmente são disponibilizados no mercado vários instrumentos para utilização da espectroscopia de infravermelho, uma delas é a espectroscopia no infravermelho médio com Transformada de Fourier com Reflexão Total Atenuada – FTIR-ATR (HRUZICOVA et al., 2012). Segundo Lohumi et al. (2015), o FTIR-ATR se destaca por ser uma técnica de fácil execução, rápida, precisa e que se utilizam quantidades muito pequenas das amostras, oferecendo vantagens em relação a outras técnicas convencionais, fornecendo resultados sem a necessidade da utilização de reagentes químicos, evitando prejuízos aos manipuladores e ao meio ambiente, associado ao pouco ou nenhum pré-tratamento das amostras de interesse, oferecendo mais segurança ao analista.

Em uma matriz, as moléculas encontram-se sempre em movimento em frequência natural, sendo movimentos vibracionais, translacionais e rotacionais. O momento dipolo intrínseco desse movimento associado a ligações químicas podem sofrer variações. Existe uma radiação que incide sobre o material a ser analisado, e se as oscilações de frequências de determinada radiação forem as mesmas do momento dipolar das moléculas desse material, estes interagem e a energia de radiação incidente é absorvida via ressonância acarretando em aumento da amplitude da vibração molecular (SKOOG et al., 2006; SALA, 2008). Os átomos das moléculas vibram compativelmente com a região do espectro eletromagnético correspondente ao infravermelho (LIMA et al., 2015).

Os espectros obtidos na região do MIR correspondem a um avanço computacional, que fornece informações químicas características de cada composto gerando grande número de variáveis que dificultam a sua interpretação. Como alternativa, os métodos quimiométricos aplicados a esses dados podem extrair informações bastantes relevantes ( TOZETTO et al., 2007; SMITH, 2011).

## **2.5 Quimiometria**

A quimiometria é utilizada para interpretar, classificar e maximizar as informações extraídas de um conjunto de dados, utilizando como ferramenta a aplicação da estatística multivariada (HAIR et al., 2009). As análises multivariadas dos dados é utilizada para tentar encontrar possíveis relações entre as amostras analisadas e as variáveis estudadas, com o objetivo de diminuir a complexidade dos dados de um experimento, estando relacionada com as técnicas estatísticas que realizam análises de várias medidas simultaneamente (MINGOTI, 2007; HAIR et al., 2009).

Os métodos de análises multivariadas podem ser divididos em três classes: análise exploratória de dados, modelos qualitativos de classificação e construção de modelos quantitativos de calibração (FERREIRA et al., 1999). Na área de alimentos, quando utilizada com métodos instrumentais, como a espectroscopia no infravermelho as informações de composição, propriedades físicas e sensoriais são agrupadas de acordo com as características mais pertinentes das amostras, ou seja, de acordo com suas similaridades.

Leite et al. (2019) verificaram que a análise de espectros de infravermelho aliada à análise multivariada possibilitou a identificação e a quantificação de fraudes em queijos manteiga, uma vez que as análises físico-químicas não foram suficientemente decisivas na detecção de alterações feitas por substituição de óleo de manteiga por óleo de soja, verificando uma diminuição da intensidade da absorvância de bandas relacionadas a proteínas e de até 70% de fraudes em bandas relacionadas a lipídeos.

### **2.5.1 Análise de Componentes Principais-ACP**

A Análise de Componentes Principais (ACP) é uma das análises multivariadas mais usadas, definida como uma avaliação estatística que visa descrever e entender a correlação entre múltiplas variáveis, de modo que as n-variáveis originais geram, baseadas em combinações lineares e no princípio da ortogonalidade, os componentes principais (CP's), sendo utilizada para visualizar a estrutura dos dados, encontrar similaridades entre amostras e detectar amostras anômalas (*outliers*). Além de está associada à ideia de redução da dimensionalidade do conjunto de dados com menor perda possível de informações, permite a realização de uma análise rigorosa dos dados, a fim de encontrar as relações entre as variáveis medidas, agrupando-as e detectando variáveis que pouco contribuem para o estudo. Assim, um conjunto original que é n-dimensional é reduzido para um conjunto bidimensional ou tridimensional no qual os indivíduos são agrupados de acordo com suas variâncias, ou seja, segundo seu comportamento dentro da população e correlacionadas a reduzidos números de componentes principais (NETO e MOITA, 1998; MINGOTI, 2007).

Com o uso da ACP se deseja que as informações da dispersão amostral das populações esteja representada em um menor número de componentes principal possível, dessa forma, é esperado que o componente principal 1 detenha a combinação linear com maior variância do que o componente principal 2, e que este seja maior que o 3, e assim por diante (MINGOTI, 2005; SOUZA e POPPI, 2012). Dessa maneira, espera-se que quase toda informação das variáveis originais encontre-se nos primeiros componentes principais, possibilitando uma simplificação estrutural dos dados, promovendo ainda o máximo das informações originais (PEREIRA e PEREIRA, 2004; PACHECO et al., 2013).

Guerreiro et al. (2013) utilizaram a ACP para verificar a autenticidade queijos em Portugal de acordo a denominação de origem (DOP), buscando determinar fraudes em termos de misturas de leites e tempos de maturação, por meio do perfil proteolítico associadas a técnicas cromatográficas e eletroforéticas, encontraram resultados visualizados na ACP com agrupamentos de amostras por similaridades do perfil proteolítico.

Jesus et al. (2020) também usaram a APC em suas amostras de queijos artesanais de regiões mineiras produtoras afim de se verificar o cumprimento do prazo da maturação desses queijos, e conseguiram verificar pela análise quimiométrica associada ao MIR que os queijos se dividiram em meia cura e curados, sendo de 0 aos 21 dias e 28 aos 60 dias de maturação respectivamente.

### **2.5.2 Análise Discriminante**

A Análise Discriminante (AD) é uma das técnicas multivariadas utilizadas para discriminar e classificar elementos de uma amostra ou população separando-as em dois ou mais grupos previamente definidos. Nessa técnica busca-se relacionar uma variável dependente com várias variáveis

independentes, através da criação de índices que identificam similaridade ou dissimilaridade entre os grupos formados, obtendo-se uma função discriminante das variáveis observadas que permitirá classificar novas amostras nos grupos que foram previamente definidos (MINGOTI, 2007; HAIR et al., 2009).

Dentre os métodos discriminantes pode-se citar a análise discriminante por quadrados mínimos parciais (PLS-DA), que segundo Ballabio e Consonni (2013) é uma análise de regressão que se baseia na classificação linear que combina as propriedades de regressão de mínimos quadrados parciais com o poder de discriminação.

Se baseia em algoritmos de regressão (PLS1 ao lidar com uma variável  $Y$  dependente e PLS2 na presença de várias variáveis  $Y$  dependentes) em que se faz uma procura por variáveis latentes com uma covariância máxima com as variáveis  $Y$ . A PLS-DA tem como principal vantagem as fontes relevantes de variabilidade dos dados de modelagem das chamadas variáveis latentes (LVs), que por sua vez são combinações lineares das variáveis originais e, conseqüentemente, é permitida a visualização gráfica e compreensão das diferentes padrões de dados e relações por escores e *carreamentos* LV.

Quando se lida com PLS-DA, o vetor classe (contendo a associação das amostras às classes  $G$ ) é então transformado em uma matriz  $Y$ , simulada, com  $n$  linhas (amostras) e colunas  $G$  que representam as informações da classe. Cada entrada  $y_{ig}$  de  $Y$  representa a associação da  $i$ -ésima amostra à  $g$ -ésima classe expressa com um código binário (1 ou 0). Portanto, o vetor de classe  $n$ -dimensional é transformado em uma matriz binária  $Y$  constituída por  $n$  linhas e  $G$  colunas (BALLABIO e CONSONNI, 2013).

É calculada uma probabilidade para cada classe e a classificação das amostras é realizada escolhendo a classe que teve a maior probabilidade de valor estimado previamente, contudo, as amostras sempre serão atribuídas a uma classe, mas há um limite que pode ser definido para cada uma se  $y^{calc}_{ig}$  for maior que o limite definido para a  $g$ -ésima classe, então a  $i$ -ésima amostra é atribuída à  $g$ -ésima classe, caso contrário, não. O limite selecionado no ponto de falsos positivos e falsos negativos é minimizado (BALLABIO e CONSONNI, 2013).

A função discriminante é uma combinação linear das variáveis originais e é utilizada para prever o grupo que a amostra em estudo pertence. A classificação consiste em estabelecer um valor crítico para classificação (MINGOTI, 2007). A análise discriminante vem sendo muito utilizada na área de alimentos, e associada à espectroscopia poderia ser considerada uma ferramenta confiável para discriminar e identificar a autenticidade de queijos de acordo com diferentes regiões agrícolas, período

de produção e sistema de alimentação dos animais (COZZI et al. 2009; OTTAVIAN et al.,2012 ; ANDUEZA et al., 2013).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral:**

Verificar a autenticidade do queijo Prato utilizando espectroscopia MIR associada a técnicas quimiométricas.

#### **3.2 Objetivos Específicos:**

- a. Produzir amostras de queijos Prato e Muçarela e maturá-las por 60 dias;
- b. Realizar a caracterização físico-química, índices da proteólise e propriedades tecnológicas dos queijos produzidos no tempo 0 e com 10, 15, 20, 25, 35, 45, 60 dias de maturação;
- c. Obter amostras comerciais de queijos Prato para verificação de sua autenticidade;
- d. Obter os dados de absorvâncias a partir da espectroscopia no infravermelho médio (MIR) das amostras produzidas e amostras comerciais obtidas;
- e. Aplicar a ACP em amostras produzidas e em amostras comerciais afim de verificar a separação das amostras quanto ao tipo de queijo;
- f. Aplicar a AD em produzidas e gerar funções discriminantes capazes de classificar adequadamente as amostras comerciais quanto ao tipo de queijo.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Amostragem

Foram processados 80 queijos para diferenciação nas análises físico-químicas, propriedades tecnológicas, espectroscopia MIR e validação de modelos quimiométricos. Destas, 40 eram amostras de queijo Prato e 40 de queijo Muçarela, preparadas em dias consecutivos e escala piloto em um laticínio local na cidade de Itapetinga, BA. Posteriormente foram adquiridas 20 amostras comerciais de queijo Prato, de 12 marcas, respeitando-se lotes distintos, em estabelecimentos comerciais de diferentes cidades do estado da Bahia e de Minas Gerais, todas com Selos de Inspeção Oficial. As amostras adquiridas apresentavam tempos que variaram de 10 a 60 dias de maturação (informação obtida a partir da leitura da data de fabricação contida no rótulo) os mesmo estão especificados na tabela 2.

**Tabela 2-** Queijos comerciais e seus respectivos tempos de maturação.

Queijo comercial	Tempo de maturação (dias)
C1	25
C2	60
C3	24
C4	15
C5	38
C6	31
C7	35
C8	48
C9	60
C10	44
C11	10
C12	15
C13	20
C14	25
C15	35
C16	45
C17	10
C18	15
C19	20
C20	25

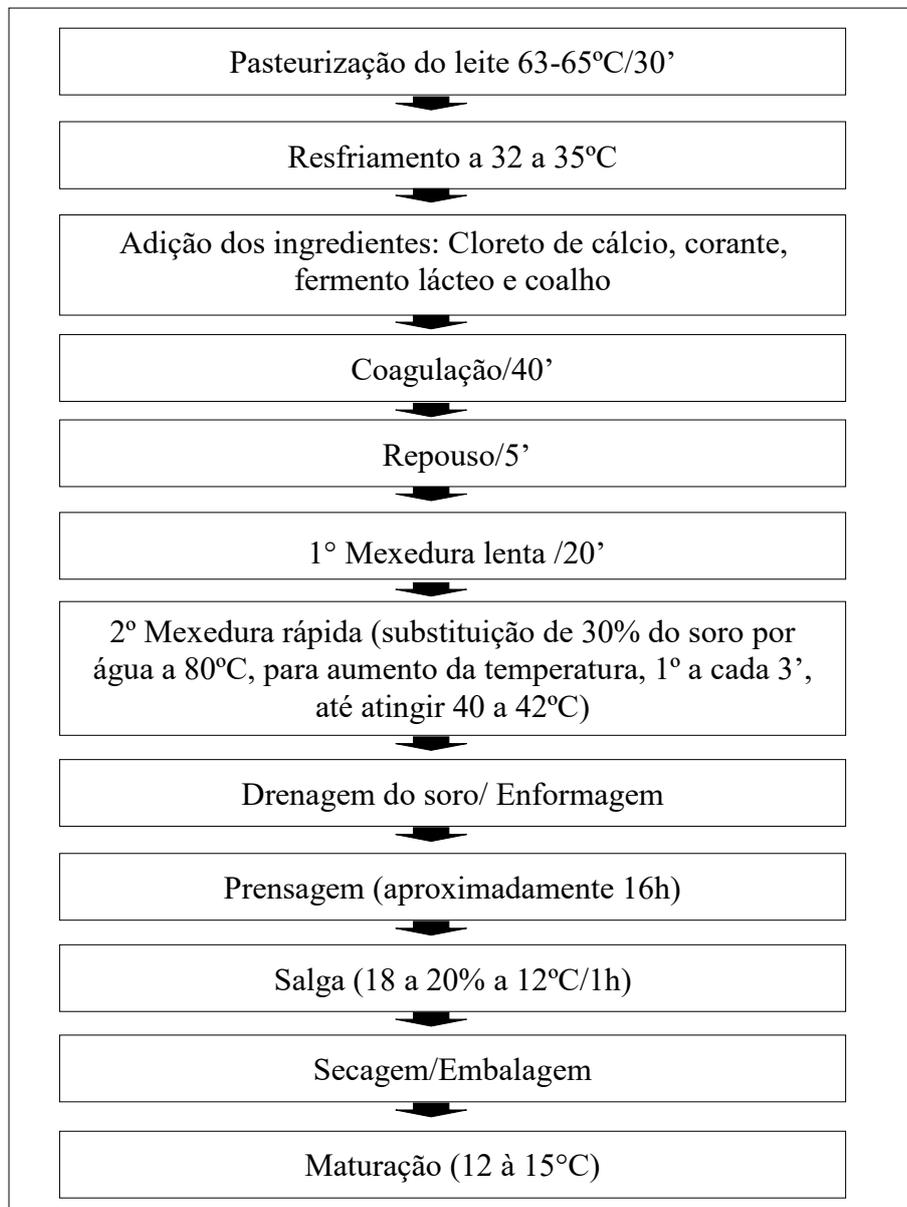
C=Comercial

Após a obtenção, as mesmas foram imediatamente congeladas a uma temperatura de -18 °C, a fim de se minimizar as reações de proteólise.

#### 4.1.1 Processamento do queijo Prato

Os queijos Prato foram produzidos (Figura 2), com adaptações, de acordo com Cruz et al. (2017). Foram utilizados em cada produção 10 litros de leite integral, filtrado e pasteurizado a 63-65°C/30 min., resfriado a 32-35°C e em seguida adicionados os seguintes ingredientes: 1%(ml/L) de cultura lactéa mesófila contendo *Lactococcus lactis* e *Lactococcus cremoris* (Fermento 704, Christian Hansen, Brasil), 4 mL de solução de cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>) 50% (v/v) (Coalhopar, Coalhos Bio Paraná LTDA, Alto Piquiri, PR, Brasil), 5 mL de corante vegetal urucum (Kava Industria e Comércio de Ingredientes para Alim. Ltda, MG, Brasil) e coalho na proporção de 4 mL (HÁ-LA®, Brasil – Chr Hansen – força 1:3000) diluído em 40 mL de água potável. O leite foi agitado e deixado em repouso por um período de 40 min. Em sequência foi efetuado o corte, primeiramente com a liras no sentido horizontal, seguido por liras no sentido vertical (grãos com cerca de 0,3 a 0,5cm<sup>3</sup> de aresta). Após o corte a massa foi deixada em repouso por 5 min. e em seguida foi realizada a primeira mexedura de maneira vagarosa, com duração de 20 min. Substituiu-se cerca de 30% de soro por água filtrada aquecida a 80°C, adicionada aos poucos, para aumentar 1°C a cada 3 min, até que a massa atingisse em média 40°C a 42°C, procedendo-se a segunda mexedura que foi executada de maneira mais rápida para que houvesse maior separação dos grãos. Esse procedimento foi realizado até que se atingisse o ponto da massa (agregação dos grãos) com duração média de 30 min. Ao atingir esse ponto, o soro foi drenado e a massa foi colocada em forma plástica, para assim adquirir formato do queijo (tipo lanche) e remoção do excesso de soro. O queijo foi prensado em prensa mecânica sob blocos de aço equivalente a 10 vezes ao seu peso, realizada a viragem da peça após 4h para fornecer prensagem adequada às duas faces durante 16 horas até atingir pH entre 5,10 a 5,30, medidos feitas inserindo os eletrodos do pHmetro (pHmetro, pH/ mV/C/°C HANNA Instruments, São Paulo-SP) em três pontos no centro da massa. Logo após foi desenformado e fracionados em 8 partes iguais de aproximadamente 150g cada e colocados em salmoura à 18% (m/v) com temperatura de 12°C por 1h e 20min (viragem em 40 min.), com posterior secagem em câmara fria à 12 °C, por 12h. Em seguida os queijos foram embalados à vácuo (BS 320, R. Baião, Vila Casal 69 Ubá-MG, Brasil) em embalagens plásticas termoencolhíveis e acondicionados em B.O.D. (B.O.D. Incubadora Refrigerada B.O.D. LUCA-161/01, São José do Rio Preto-SP) com temperatura de 12 a 15°C e umidade relativa do ar de 85%, controlados por meio de termohigrometro Digital (J.Prolab, Ind.Com. de Produtos para Laboratório LTDA, Águas Belas, São José dos Pinhais - PR), armazenados por até 60 dias para maturação. As frações dos queijos foram aleatoriamente escolhidos para serem utilizados para as análises no tempo 0 e com 10, 15, 20, 25, 35, 45 e 60 dias de maturação afim de se obter uma ampla variação para amostras comerciais. As amostras foram retiradas para análise no seus respectivos tempos de maturação, e após isso foram armazenadas em congelamento à -18°C, a fim de minimizar reações de proteólise.

**Figura 2-**Fluxograma da produção do queijo Prato



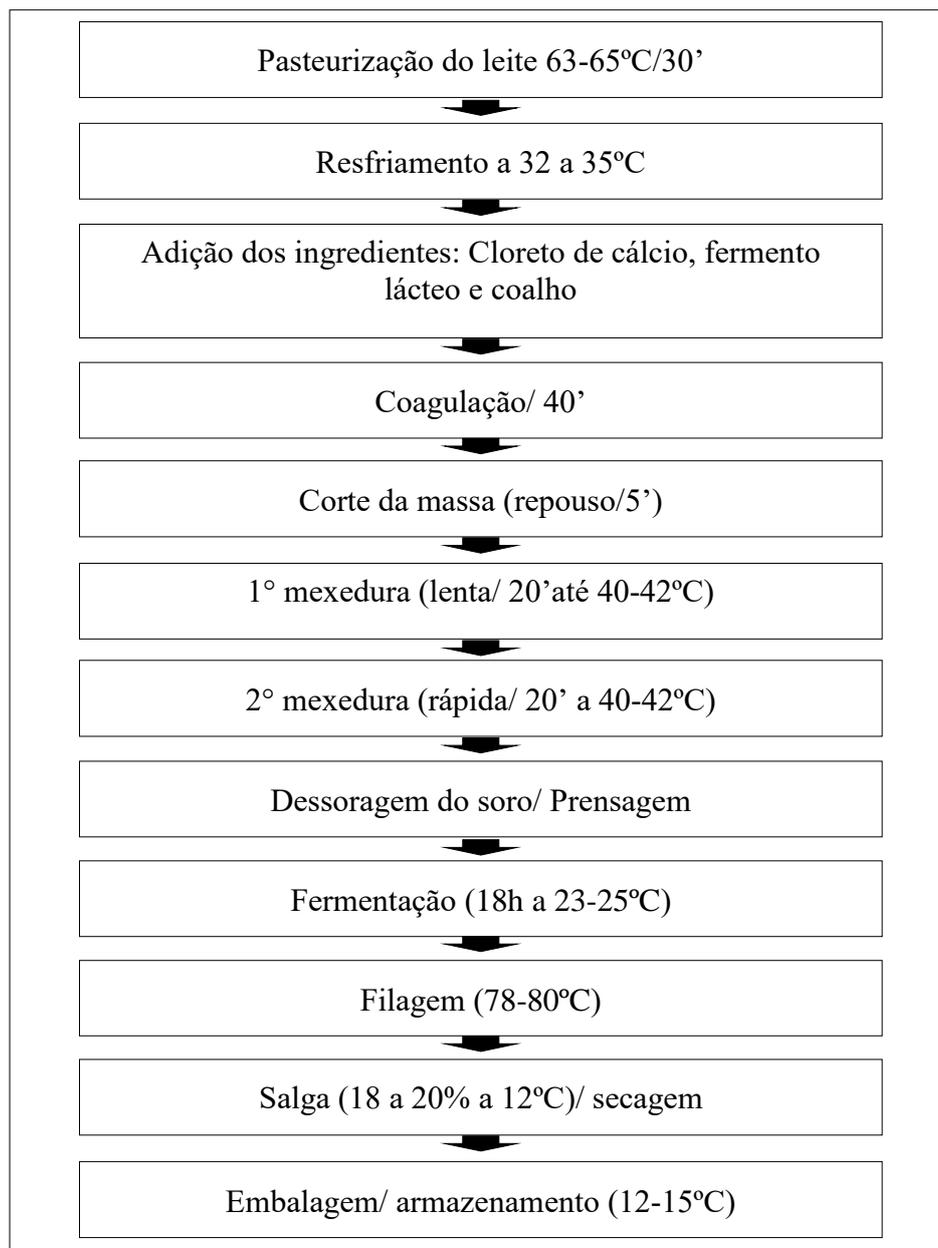
**Fonte:** Cruz et al. (2017), adaptado.

#### 4.1.2 Processamento do queijo Muçarela

O queijo Muçarela foi produzido (Figura 3) segundo metodologia descrita por Gonçalves et al. (2016), com adaptações. Foram utilizados para cada processamento 10 litros de leite integral filtrado e pasteurizado a 63-65 °C/30 min, sob agitação constante, com posterior resfriamento à 32-35°C. Em seguida, foi realizada a adição dos seguintes ingredientes: 1% de cultura láctica mesofílica (Fermento DVS-R704 Chr Hansen, Brasil), constituída pelas espécies *Lactococcus lactis* e *Lactococcus cremoris*, 4 mL de cloreto de cálcio a 50% (v/v) (Coalhopar, Coalhos Bio Paraná LTDA, Alto Piquiri, PR, Brasil)

e 4 mL de coalho (coagulante líquido HA-LA® do Brasil - Chr Hansen - força 1:3:000) diluído em 40 mL de água potável. Após homogeneização e repouso de 40 min. até a ocorrência da formação do coágulo (massa), o mesmo foi cortado (cerca de 1,0 cm<sup>3</sup> a 1,5cm<sup>3</sup> de aresta) no sentido vertical e depois horizontal com o auxílio de liras. Após o corte, a massa foi deixada em repouso por 5 min. e em seguida foi realizada lentamente a primeira mexedura da massa por 20 min. com elevação da temperatura até 40-42 °C e depois a segunda mexedura mais intensa por 20 min., em que se manteve a mesma temperatura para se obter uma massa cozida e firme. Foi efetuada a dessoragem e a fermentação por 18 horas em temperatura de 18°C-20 °C, até a massa atingir pH 4,9-5,1 sendo essa medida realizada inserindo os eletrodos do pHmetro (pHmetro, pH/ mV/C/°C HANNA Instruments São Paulo-SP) em três pontos no centro da massa. Após esse período a massa foi fatiada em tiras finas, e fracionadas em 8 porções de pesos de 150 g aproximadamente, após isso foram filadas em água à 78-80 °C, cortada e moldada em formas próprias (afim se obter tamanhos semelhantes ao queijo Prato produzido) até remoção do soro, sendo viradas inicialmente de 10 em 10 min, por 4 vezes. A salga dos queijos foi realizada em salmoura 18 % (m/v) com temperatura de 12 °C por 1h e 20 min (viragem em 40 min.), com posterior secagem em câmara fria à 12 °C, por 12h. Os queijos foram embalados a vácuo (BS 320, Ubá, MG, Brasil) em embalagens plásticas termoencolhíveis e mantidos em B.O.D. (Incubadora Refrigerada MOD. LUCA-161/01, São José do Rio Preto-SP) com temperatura de 12-15°C e umidade relativa do ar de 85% controlada por termohigrometro Digital (J.Prolab, Ind.Com. de Produtos para Laboratório LTDA, Águas Belas, São José dos Pinhais - PR) por até 60 dias. Os queijos foram aleatoriamente escolhidos para análises no tempo 0 e com 10, 15, 20, 25, 35, 45 e 60 dias de maturação afim de se obter uma ampla variação para amostras comerciais. As amostras foram retiradas para análise no seus respectivos tempos de maturação, e após isso foram armazenados em congelamento à -18°C, a fim de minimizar reações de proteólise.

**Figura 3-** Fluxograma da produção do queijo Muçarela



**Fonte:** Gonçalves et al. (2016), adaptado.

## **4.2 Composição química e características físico-química e índices da proteólise dos queijos produzidos**

### **4.2.1 Composição química e características físico-química**

As determinações da caracterização físico-química foram realizadas nos queijos Prato e Muçarela no tempo 0 e com 10, 15, 20, 25, 35, 45 e 60 dias de maturação. Foram realizadas análises em triplicata para a determinação de umidade (código 926.08), cinzas (código 935.42), gordura no extrato seco (GES) (código 920.125), proteína (código 920.123), extrato seco total (EST), pH e acidez (código

920.124), de acordo com metodologias descritas pela AOAC (2016). Os cloretos foram determinados utilizando o resíduo da análise de cinzas por titulação com nitrato de prata 0,1N (BRASIL, 2006).

#### 4.2.2 Índices da Proteólise dos queijos produzidos

Os índices da Proteólise dos queijos Prato e Muçarela produzidos foram realizados em triplicata no tempo 0 e com 10, 15, 20, 25, 35, 45 e 60 dias de maturação. A determinação do nitrogênio total (NT), nitrogênio não protéico (NNP) e nitrogênio não caseinoso (NNC) foi realizada pelo método de Kjeldahl, conforme metodologia descrita por IAL (2008). A proteólise foi indicada pelos índices de extensão e profundidade, obtidos conforme Equações 1 e 2 (PEREIRA et al., 2001; ANDREATTA, 2006):

$$I. E. P. = \frac{\% \text{ de nitrogenio nao caseoso (NNC)} \times 100}{\text{nitrogenio total (NT)}}$$

Eq.1

$$I. P. P. = \frac{\% \text{ de nitrogênio nao proteico (NNP)} \times 100}{\% \text{nitrogenio total (NT)}}$$

Eq.2

Onde: IEP= índice de extensão da proteólise e IPP=índice de profundidade da proteólise.

### 4.3 Propriedades tecnológicas dos queijos produzidos

#### 4.3.1 Capacidade de Derretimento

A análise da capacidade de derretimento (CD) foi realizada em triplicata nos queijos Prato e Muçarela tempo 0 e com 10, 15, 20, 25, 35, 45 e 60 dias de maturação, determinada pelo método de Schreiber's adaptado, descrito por Kosikowski e Mistry (1997). As dimensões utilizadas foram de 7 mm de altura e 36mm de diâmetro para não haver interferência na avaliação. Cada um dos cilindros foi colocado em placa de Petri e deixados a temperatura de 25°C por 1 h. Após esse período as placas foram levadas à estufa (FANEM, estufa de secagem e esterilização modelo 315, SE, São Paulo, Brasil) com circulação de ar forçada à 100°C/7 min. Em seguida foram retiradas, deixadas à temperatura de 25 °C por 30 min. e determinado o diâmetro do queijo derretido em quatro direções diferentes separadas por um ângulo de 45°. Esse diâmetro foi medido em cm, calculada a média e a partir desta foi calculada a porcentagem de derretimento das amostras de queijo, segundo a Equação 3:

$$\%CD = \frac{Df^2 - Di^2 \times 100}{Di^2} \quad \text{Eq. 3}$$

Onde:  $D_i$  = Diâmetro médio inicial da amostra (pré-derretimento);  $D_f$  = Diâmetro médio final da amostra (pós-derretimento).

### **4.3.2 Elasticidade**

A elasticidade dos queijos Prato e Muçarela foi avaliada em triplicata no tempo 0 e com 10, 15, 20, 25, 35, 45 e 60 dias de maturação utilizando a metodologia descrita por Furtado (2016), em que 8g de cada queijo foi ralado e distribuído sobre uma massa de pizza de 10 cm de diâmetro. Em seguida foram assadas em forno elétrico (Mini Forno Elétrico 650W Tostador 8 Litros Epv-819 Vicini, Osasco, SP) à temperatura de 280°C por 5 min. Esperou-se esfriar por 1 min, quando então o queijo derretido foi puxado verticalmente com auxílio de um garfo e medido a extensão do fio até seu rompimento, com auxílio de uma régua.

## **4.4 Aquisição dos espectros dos queijos produzidos e queijos comerciais**

### **4.4.1 Infravermelho Médio (MIR)**

Foram feitas as análises espectrais nas amostras de queijos Prato comerciais e nas amostras de queijos Prato e Muçarela produzidos no 0 e com 10, 15, 20, 25, 35, 45 e 60 dias de maturação. Os espectros foram obtidos em equipamento Cary 630 FTIR (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA), equipado com célula de Reflectância Total Atenuada (ATR) e detector de sulfato de triglicindeuterado (DTGS), sob a faixa do infravermelho médio (MIR), sendo empregado o número de onda de 4000 a 600  $\text{cm}^{-1}$ . Foram obtidos espectros no modo de absorbância com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ , varredura de 64 scans (indica quantas vezes o infravermelho incide sob a amostra e realiza uma média). Durante a análise, a temperatura foi mantida em torno de 20°C  $\pm$  2 °C o ambiente. Antes de cada coleta foi realizada uma leitura do espectro de fundo (*background*), e a geração do espectro foi realizado a partir da amostras (aproximadamente 0,5 g) obtidas da parte interior do queijo e colocadas no cristal ATR. As máximas absorbâncias associadas à sua faixa de número de onda foram utilizadas como variáveis de estudos para análise estatística. O software para aquisição dos espectros foi o Agilent Micro Lab PC software. Após a obtenção dos espectros por MIR, as amostras de queijo Prato, Muçarela e amostras comerciais de queijo Prato foram organizadas em conjunto de dados numéricos que foram tratados por meio do Microsoft Office Excel, além disso, foram calculadas as médias das repetições dos tempos de maturações, para geração das representações gráficas, feitas no programa *Sigma Plot* 11. Posteriormente foram realizadas as análises estatísticas multivariadas utilizando o programa estatístico Statistical Analysis System (SAS)® Studio (SAS Enterprise Miner 13.1. SAS Institute Inc., Cary, NC).

## 4.5 Análise estatística dos dados

### 4.5.1 Análise estatística dos dados de composição química, físico-química e propriedades tecnológicas dos Queijos Produzidos

A caracterização físico-química e comportamentos tecnológicos foram realizadas em três repetições e em triplicada, analisadas no tempo 0 e com 10, 15, 20, 25, 35, 45 e 60 dias de maturação, utilizando um delineamento inteiramente casualizado (DIC). Os dados foram analisados por um sistema fatorial 2x8 em que foi avaliada a diferença entre os 2 tipos de queijos (Prato e Muçarela) nos 8 diferentes tempos (tempo 0 e com 10, 15, 20, 25, 35, 45 e 60 dias) afim de se verificar interação significativas entre esses fatores. O comportamento dos queijos em relação à maturação foi verificado e interpretado por análise de regressão levando-se em consideração a significância para modelos de regressão ( $p \leq 0,05$ ), a não significância da falta de ajuste do modelo ( $p > 0,05$ ) e coeficientes de determinação. E a diferença entre os queijos foi realizada por teste F, ao nível de 5% de significância para as médias externas, em que essa era levada em consideração quando não havia a existência de interações significativas. Para esses procedimentos foi utilizado o programa Statistical Analysis System (SAS)® Studio (SAS Enterprise Miner 13.1. SAS Institute Inc., Cary, NC).

### 4.5.2 Análise estatística multivariada dos espectros obtidos

A estatística da análises de componentes principais e análises discriminantes foram realizadas nos dados espectrais das amostras no tempo 0 e com 10, 15, 20, 25, 35, 45 e 60 dias de maturação dos queijos produzidos e nos dados espectrais das amostras comerciais adquiridas.

A análise de componentes principais foi aplicada afim de se verificar a separação das amostras produzidas quanto ao tipo de queijo e analisar o comportamento das amostras comerciais adquiridas no comércio varejista. E as análises Discriminantes foram aplicadas afim de se produzir funções discriminantes para serem utilizadas na definição da classificação de amostras comerciais.

Para isso foi utilizado o programa Statistical Analysis System (SAS)® Student e o programa *Sigma Plot* 11 para verificar a dispersão das amostras quando necessário.

#### 4.5.2.1 Análise de Componentes Principais (ACP)

A ACP foi obtida através de dados não padronizados a partir do conjunto de dados foi obtida a matriz de variância e covariância (S), e a partir destas foi obtida a equação característica da matriz S, Equação 4, contendo autovalores com  $\lambda_1 > \lambda_2 > \dots > \lambda_p$ .

$$|S - \lambda I| = 0 \quad \text{Eq.4}$$

Onde: S: matriz de variância e covariância;  $\lambda_i$ : Autovalor; I: Matriz Identidade.

Para cada autovalor ( $\lambda_i$ ) foi determinado um autovetor  $a^*i$  a partir da solução da Equação.5:

$$|S - \lambda I| a_i^* = \emptyset \quad \text{Eq.5}$$

Onde: S: matriz de variância e covariância;  $\lambda_i$ : Autovalor; I: Matriz Identidade;  $a^*i$ : Autovetor e  $\emptyset$ : conjunto vazio

Os vetores ( $a_i^*$ ) foram normalizados ( $a_i$ ) através da Equação 6:

$$a_i = \frac{1}{\sqrt{a_{i1}^2 + a_{i2}^2 + a_{i3}^2 + \dots + a_{in}^2}} \begin{bmatrix} a^*i1 \\ a^*i2 \\ \vdots \\ a^*in \end{bmatrix} \quad \text{Eq. 6}$$

Onde:  $a_i$ : Autovetor normalizado;  $a^*i1, a^*i2 \dots, a^*in$ , autovetores não normalizados correspondentes aos grupos estudados.

Usando os elementos do vetor  $a_i$  foram determinados os coeficientes dos CPi, onde, o i-ésimo CP é obtido pela combinação linear entre as variáveis padronizadas e os autovetores (Equação 7):

$$CP_i = a_{i1}Z_1 + a_{i2}Z_2 + \dots + a_{in}Z_n \quad \text{Eq. 7}$$

Onde:  $i = 1, 2, \dots, n$ , em que: CPi: i-ésimo componente principal;  $a_{i1}, a_{i2}, \dots, a_{in}$ , elementos do i-ésimo autovetor ( $a_i$ ) normalizado, associado ao i-ésimo autovalor ( $\lambda_i$ ) do i-ésimo componente principal (CPi).

O critério de escolha de números de componentes principais foi dos fatores interpretáveis que determina o número de CP'S que retém juntos uma proporção de mais de 70 % da variância. Para visualização gráfica da dispersão dos coeficientes de correlação entre as variáveis e os os CP's foram realizados no programa *Sigma Plot*, versão 11.0, no espaço bidimensional.

#### 4.5.2. Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais-PLS-DA

Visando a obtenção da classificação dos queijos Prato e Muçarela foi empregada a PLS-DA, que é um caso especial de regressão por mínimos quadrados parciais (*Partial least squares regression - PLSR*) para variáveis categóricas e não quantitativas (Pérez-Enciso e Tenenhaus, 2003). O conjunto de dados foi dividido em uma parte para treinamento, e para isso foi determinada uma taxa de 70 % e 30% para dados de validação, utilizando o algoritmo de Kennard-Stone, em que o treinamento consistiu de uma primeira etapa de análise exploratória, sendo que a validação serviu para avaliar a eficiência da calibração.

Foram coletadas 2609 (OH, 3498- 2996  $\text{cm}^{-1}$ ;  $\text{C}\equiv\text{C}$ , 2942-2911 $\text{cm}^{-1}$  e COOH 1197-1125  $\text{cm}^{-1}$  respectivamente) medidas de absorvância para cada queijo e submetidas à regressão PLS-DA, onde o efeito da colinearidade dos dados do modelo pode ser reduzido com maior eficiência e tem-se uma maximização da correlação entre as medidas de absorvância preditoras e a variável resposta. A regressão por mínimos quadrados parciais é descrita pela equação 8, descrita por Geladi e Kowalski, (1986) e Ye et al. (2008)

$$X = TP' + E$$

$$Y = UQ' + F \quad \text{Eq. 8}$$

onde: X é a matriz preditora; Y é a matriz resposta; T=X-scores; U=Y-scores; P=X-sobre ajustes; Q=Y- sobre ajustes; E=X-resíduos; e F=Y-resíduos

Para minimizar erros da regressão PLS-DA ajustada foi selecionado o número de componentes principais de acordo com a taxa de erro de classificação (*Classification error rate*), prevista pelo processo de validação cruzada por *leave-one-out*.

A acurácia do modelo de regressão PLS-DA foi obtida pela razão simples entre o número de cada categoria de queijo classificados acertadamente pelo total de queijos analisados. As análises foram realizadas com o emprego do programa *Chemoface version 1.64*.

#### 4.5.2.3 Análise Discriminante convencional-AD

Foram selecionados 16 picos os quais apresentaram máximas absorvâncias no espectros do MIR das amostras produzidas, além disso as mesmas foram divididas em dois grupos de treinamento e validação utilizando o olgarismo de Kennard-Stone, assim como descrito no tópico anterior.

O treinamento consistiu em uma primeira etapa exploratória da análise, onde tentou-se identificar características capazes de discriminar as amostras em dois grupos previamente definidos, gerando a Função Discriminante de Fisher, cujo objetivo é promover a separação de duas populações.

A função discriminante de Fisher consistiu em uma combinação linear das variáveis originais utilizadas no estudo, a fim de maximizar a razão entre as classes e minimizar a dispersão dentro de cada grupo obtido, conforme a Equação 9:.

$$Y = \beta + \beta_1 * a_1 + \dots + \beta_2 * a_2 \quad \text{Eq. 9}$$

Onde:  $Y$ : Função linear discriminante;  $\beta$ : Constante da função linear discriminante;  $\beta_1 \dots \beta_n$ , são coeficientes das variáveis utilizadas no estudo;

A partir das equações obtidas na etapa de treinamento, os dados de validação foram aplicados a essas equações (equações lineares), a fim de verificar a validade dos modelos discriminantes na separação das amostras nos seus respectivos grupos. Após a verificação da capacidade de treinamento e validação das amostras produzidas foi aplicado o modelo criado às amostras comerciais e assim verificou-se sua classificação quanto ao tipo de queijo.

## 5. RESULTADO E DISCUSSÃO

### 5.1 Composição química e características físico-química e índices da proteólise dos queijos produzidos

Os valores médios da composição físico-química e índices da proteólise dos queijos Prato e Muçarela produzidos e avaliados no tempo 0 e com 10,15, 20, 25, 35, 45 e 60 dias de maturação estão apresentados na tabela 3, em que foi analisado diferenças significativas nos parâmetros das amostras, em dois fatores (tipo de queijo e tempo de maturação), e assim avaliado a existência de interações. Bem como, análise de médias externas dos parâmetros dos queijos quando não verificado interações significativas, também foi avaliado os comportamentos dos queijos sob os tempos de maturação estudados.

**Tabela 3-** Valores médios em cada tempo de maturação, média externa, equações de regressão e coeficientes de regressão dos parâmetros da composição química e físico-químicos dos queijos produzidos e avaliados no tempo 0 e com 10, 15, 20, 25, 35, 45 e 60 dias de maturação.

Parâmetro	Queijo	Tempo de maturação								Média	Equações de Regressão	R <sup>2</sup>
		0	10	15	20	25	35	45	60			
Umidade	Prato	45,98	45,92	45,43	45,23	45,64	45,97	45,86	46,22	<b>45,78<sup>b</sup></b>	$\hat{Y}=Y=45,78$	ns*
	Muçarela	47,79	48,16	48,01	48,08	48,8	47,29	47,75	46,92	<b>47,85<sup>a</sup></b>	$\hat{Y}=Y=47,85$	ns*
GES (%)	Prato	51,42	54,63	52,27	52,97	53,55	54,95	53,39	52,92	<b>53,26<sup>a</sup></b>	$\hat{Y}=Y=53,26$	ns*
	Muçarela	49,62	51,81	50,93	53,12	54,08	51,56	53,29	53,88	<b>52,29<sup>a</sup></b>	$\hat{Y}=Y=52,29$	ns*
EST (%)	Prato	54,02	54,08	54,57	54,77	54,36	54,03	54,14	53,78	<b>54,22<sup>a</sup></b>	$\hat{Y}=Y=54,22$	ns*
	Muçarela	52,21	51,84	51,99	51,92	51,2	52,71	52,25	53,08	<b>52,15<sup>b</sup></b>	$\hat{Y}=Y=52,15$	ns*
Proteína (%)	Prato	26,54	22,08	27,9	26,62	27	26,42	26,57	26,44	<b>26,20<sup>b</sup></b>	$\hat{Y}=Y=26,20$	ns*
	Muçarela	27,79	29,05	28,65	30,34	28,69	31,51	28,68	29,62	<b>29,29<sup>a</sup></b>	$\hat{Y}=Y=29,29$	ns*
Cinzas (%)	Prato	3,51	2,83	2,77	2,66	2,74	2,97	2,79	2,83	<b>2,89<sup>a</sup></b>	$\hat{Y}=Y=2,89$	ns*
	Muçarela	2,81	2,73	2,88	2,71	2,61	2,85	2,68	2,73	<b>2,75<sup>a</sup></b>	$\hat{Y}=Y=2,75$	ns*
Cloretos (%)	Prato	0,98	1,00	0,99	0,99	1,00	1,06	1,12	1,14	<b>1,03<sup>a</sup></b>	$\hat{Y}=Y=1,03$	ns*

	<b>Muçarela</b>	1,19	1,2	1,21	1,21	1,2	1,22	1,24	1,25	<b>1,22<sup>a</sup></b>	$\hat{Y}=Y=1,22$	<b>ns*</b>
<b>IEP (%)</b>	<b>Prato</b>	13,31	13,25	13,24	13,63	14,08	14,16	14,44	14,62	<b>13,84<sup>a</sup></b>	$\hat{Y}= 0,2182x + 12,858$	<b>0,92</b>
	<b>Muçarela</b>	8,12	9,48	10,21	10,61	10,75	11,36	12,71	12,8	<b>10,75<sup>b</sup></b>	$\hat{Y}= 0,6251x + 7,9417$	<b>0,95</b>
<b>IPP (%)</b>	<b>Prato</b>	8,51	8,7	8,91	8,87	8,87	9,01	9,2	9,37	<b>8,93<sup>a</sup></b>	$\hat{Y}= 0,105x + 8,4558$	<b>0,90</b>
	<b>Muçarela</b>	6,4	7,68	7,8	7,87	7,89	8,03	9,01	9,01	<b>7,96<sup>b</sup></b>	$\hat{Y}= 0,3051x + 6,5876$	<b>0,82</b>
<b>Acidez (% em acido láctico)</b>	<b>Prato</b>	0,40 <sup>a</sup>	0,58 <sup>a</sup>	0,58 <sup>a</sup>	0,65 <sup>a</sup>	0,65 <sup>a</sup>	0,79 <sup>a</sup>	0,87 <sup>a</sup>	0,94 <sup>a</sup>	<b>0,68</b>	$\hat{Y}= 0,0696x + 0,3683$	<b>0,94</b>
	<b>Muçarela</b>	0,39 <sup>a</sup>	0,39 <sup>b</sup>	0,39 <sup>b</sup>	0,36 <sup>b</sup>	0,36 <sup>b</sup>	0,48 <sup>b</sup>	0,51 <sup>b</sup>	0,52 <sup>b</sup>	<b>0,42</b>	$\hat{Y}=Y= 0,42$	<b>ns*</b>
<b>pH</b>	<b>Prato</b>	5,22 <sup>b</sup>	5,18 <sup>b</sup>	5,10 <sup>b</sup>	5,00 <sup>b</sup>	5,00 <sup>b</sup>	4,99 <sup>b</sup>	4,97 <sup>b</sup>	4,96 <sup>b</sup>	<b>5,05</b>	$\hat{Y}= -0,0379x + 5,2229$	<b>0,85</b>
	<b>Muçarela</b>	5,62 <sup>a</sup>	5,67 <sup>a</sup>	5,62 <sup>a</sup>	5,6 <sup>a</sup>	5,58 <sup>a</sup>	5,55 <sup>a</sup>	5,51 <sup>a</sup>	5,49 <sup>a</sup>	<b>5,58</b>	$\hat{Y}= -0,0231x + 5,6839$	<b>0,88</b>

\*Médias externas seguidas de mesma letra subscrita na linha não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste F

\*Médias seguidas de mesma letra subscrita na coluna não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste F; ns\*- não significativo.

Os queijos foram classificados adequadamente segundo suas legislações, sendo o Prato classificado como gordo apresentando valores entre 44,99 e 59,99% de média umidade, com valores entre 36 a 45,99% e a Muçarela classificada como um queijo gordo e alta umidade com valores entre 46 a 54,99% (BRASIL,1996; BRASIL,1997a; BRASIL 1997b), demonstrando processamento tecnológico adequado.

Somente a acidez e o pH dos queijos, tiveram interações significativas em relação ao tipo de queijo e o tempos de maturação, além disso, esses parâmetros também tiveram comportamentos significativos quando submetidos aos tempo de maturações analisados, com exceção do comportamento da acidez da Muçarela que não se diferenciou nesse tempo. Com relação às médias externas, os dois tipos de queijos não se diferenciaram para os parâmetros GES, cinzas e cloretos, entretanto foram significativamente diferentes para umidade, EST, proteína, IEP e IPP, sendo os comportamentos desse dois últimos parâmetros significativos, no Prato e na Muçarela, ou seja, o comportamento dos IEP e IPP foram influenciados pelos tempos de maturações.

Nos processamentos dos dois tipos de queijo a coalhada é submetida à etapa de corte, para drenagem do soro, sendo que no processamento do queijo Prato é feito com liras mais estreitas, resultando em grãos menores, com cerca e 0,5 a 0,3cm<sup>3</sup> de aresta, já para a Muçarela, são obtidos grãos maiores com 1,0 a 1,5cm<sup>3</sup>, que conseqüentemente retém mais umidade (CRUZ et al., 2017; GONÇALVES, et al., 2016). No presente estudo os cortes foram realizados

desta forma e podem ter influenciado o parâmetro de umidade, que foi maior para Muçarela (47,85 %) do que para queijo Prato (45,78%). No entanto, para os dois tipos de queijos não houveram diferenças significativa com relação ao comportamento desse parâmetro, desse modo a maturação não alterou o valor da umidade.

A filagem é um processo em que se utiliza altas temperaturas na massa, sendo nesse contexto, uma etapa restrita apenas à Muçarela, nela pode haver diminuição dos resíduos de coagulante além de propiciar menor quantidade de células viáveis do cultivo lácteo, o que remete em menor proteólise, com menor degradação de caseína, sugerindo maior quantidade de proteína intacta no queijo (FURTADO, 2016). Dessa maneira, a Muçarela tende a apresentar maiores teores de proteína quando comparado ao queijo Prato, fato que aconteceu no presente estudo para essa variável, em que mesmo não havendo interação para esse parâmetro, a Muçarela apresentou média externa de 29,29% enquanto que o Prato apresentou 26,20%. No entanto seus comportamentos permaneceram iguais, pois o tempo de maturação não influenciou significativamente para alteração da proteína tanto do Prato quanto da Muçarela.

Não houve interação significativa para os índices da proteólise, no entanto as médias externas foram, demonstrando que os valores dos índices foram maiores no queijo Prato, revelando que o coalho e a cultura láctea agiram mais em sua matriz proteica, em que o IEP foi de 13,84% e 10,75% e o IPP de 8,93% e 7,96% para o Prato e a Muçarela, respectivamente. Esses índices fornecem informações das reações de hidrólise que ocorrem durante a maturação do queijo, em que há quebra da proteína a peptídeos de alto e médio peso molecular no IEP e de médio peso à baixo peso molecular no IPP, quando alterações de sabor e aromas começam a surgir mais intensamente (NARIMATSU et al., 2003). É possível observar pelas equações de regressão (tabela 3) que o comportamento dos dois queijos foram lineares crescentes, apresentando  $R^2$  altos de 0,92, e 0,95 para IEP e 0,90 e 0,82 para IPP, da Muçarela e Prato, respectivamente, influenciados pelos tempos de maturações. Sendo assim é possível afirmar que a matriz proteica dos queijos sofreram reações de hidrólises no decorrer dos tempos avaliados.

Houve interação significativa para o parâmetro de acidez, mesmo que queijos não se diferenciaram no tempo 0, os mesmos foram diferentes nos demais tempos (10 ao 60 dias de maturação), sendo que os valores médios do queijo Prato a partir do tempo 10 foram sempre maiores que o queijo Muçarela. Somente a acidez do Prato apresentou comportamento linear crescente significativo ( $R^2$  0,94) influenciado pelo tempo de maturação, já para a Muçarela manteve-se igual no decorrer dos tempos analisados. Apesar da cultura láctea utilizada para os dois tipos de queijos no presente estudo ter sido mesofílica, composta por *Lactococcus lactis* e *Lactococcus cremoris*, que segundo Furtado (2016) possui baixo poder acidificante, no presente estudo exerceu influência na

acidez do queijo Prato, mas para Muçarela isso não ocorreu, possivelmente devido ao processo de filagem contribuir para Reduzir o teor de lactose e a eliminar parte do fermento, atenuando o processo de acidificação.

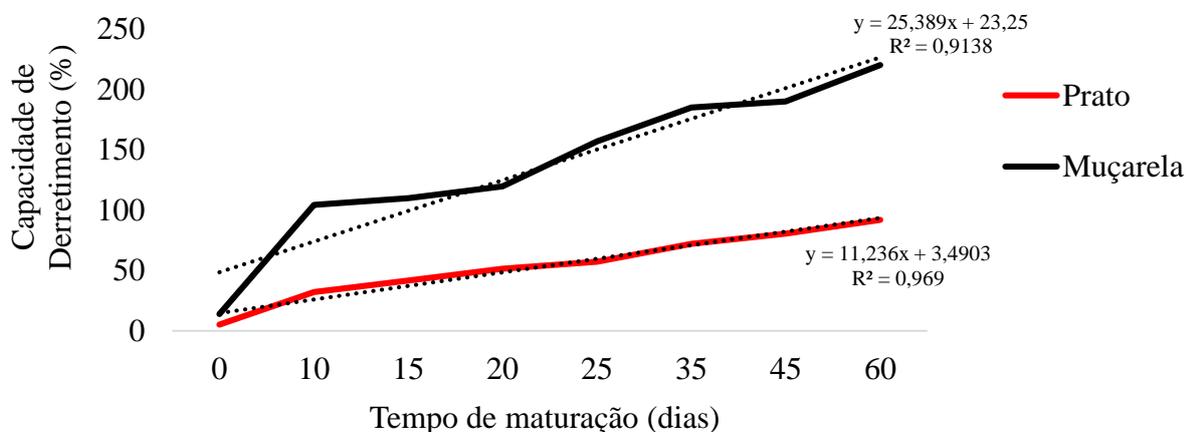
As interações foram significativas para o pH, diferenciando os queijos em todos os tempos analisados, dessa maneira observou-se que valores médios do pH do queijo Muçarela apresentaram-se estatisticamente maiores que o queijo Prato em todos os tempos, Fato que pode está relacioando à filagem, que funciona como uma lavagem da massa, fazendo com os valores de pH sejam maiores para a Muçarela. Em relação aos comportamentos do pH dos queijos quando submetidos à maturação, tanto o Prato quanto a Muçarela, apresentaram comportamentos lineares decrescentes significativos ( $R^2$  0,85 e  $R^2$  0,88 ) em seus pH, ou seja diminuiu com o tempo, esses resultados eram esperados, pois segundo Silva et al. (2019) o pH do queijo tende diminuir com o tempo de armazenamento, até que haja estabilização do mesmo.

## 5.2 Propriedades tecnológicas dos queijos Prato e Muçarela produzidos

A capacidade de derretimento (CD) apresentou interação significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os queijos e o tempo de maturação a partir do tempo de 10 dias de armazenamento, desse modo a partir desse tempo o queijo Muçarela apresentou-se sempre com as maiores médias, portanto tendo maior capacidade de se derreter em relação ao queijo Prato, quando submetidos a altas temperaturas.

O derretimento para os queijos foi progressivo ao longo do tempo, apresentando um comportamento linear crescente ( $p \leq 0,05$ ) com valores altos de  $R^2$  91,3% e 96,9%, respectivamente, para queijos Muçarela e Prato (Figura 4).

**Figura 4-** Avaliação da capacidade de derretimento dos queijos produzidos no tempo 0 e com 10, 15, 20, 25, 35,45 e 60 dias de maturação.

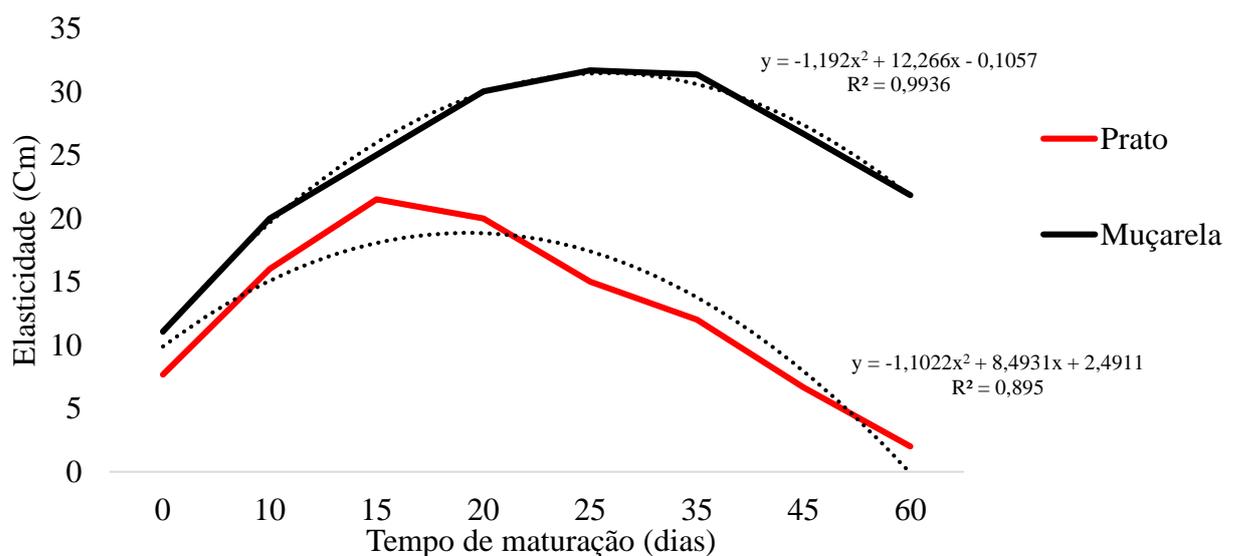


Com exceção do tempo 0, o queijo Muçarela apresentou maiores percentuais de derretimento em relação ao queijo Prato, o que provavelmente ocorreu por se tratar de queijo de pasta filada com tendência de maior derretimento, uma vez que a desmineralização da massa é mais acentuada, onde os valores de pH na fermentação devem atingir a faixa de 4,9 a 5,10, provocando maior flexibilidade e deslizamento em suas fibras, enquanto para o queijo Prato essa faixa é de 5,10 a 5,30 (GONÇALVES, 2017; FURTADO, 2019). Esse parâmetro pode servir de referência para diferenciação entre esses dois tipos de queijos, em que a Muçarela tende a ter maior capacidade de se derreter a partir de 10 dias de maturação.

Analisando o comportamento da CD do queijo Prato, que necessita de pelo menos 25 dias de maturação, determinado por sua legislação (BRASIL, 1997a), é possível destacar pelos resultados encontrados que seu derretimento é afetado quando o mesmo é comercializado antes desse prazo, visto que sua CD aumentou cerca de 52% nesse período, dessa forma o consumidor fica em desvantagem uma vez que essa característica é desejável em preparos culinários, tornando essa propriedade funcional um requisito de aceitação.

Em relação a elasticidade (Figura 5), também foi verificada interação significativa, em que os queijos produzidos apresentaram diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) a partir de 10 dias de maturação, apresentando comportamento quadrático ( $p \leq 0,05$ ) e valores altos de  $R^2$  de 89,5% e 99,3%, respectivamente, para os queijos Prato e Muçarela.

**Figura 5**– Avaliação da elasticidade do queijos produzidos no tempo 0 e com 10, 15, 20, 25, 35, 45 e 60 dias de maturação.



Para queijo o Prato observou-se um decréscimo nessa propriedade funcional a partir do 15º dia de maturação, já para a Muçarela esse efeito foi verificado com 35 dias de maturação, comportamento

esperado uma vez que a diminuição da elasticidade se deve à proteólise primária que provoca redução da firmeza e, conseqüentemente, na elasticidade dos queijos, tornando-os mais macios e menos elásticos (FOX, 1989).

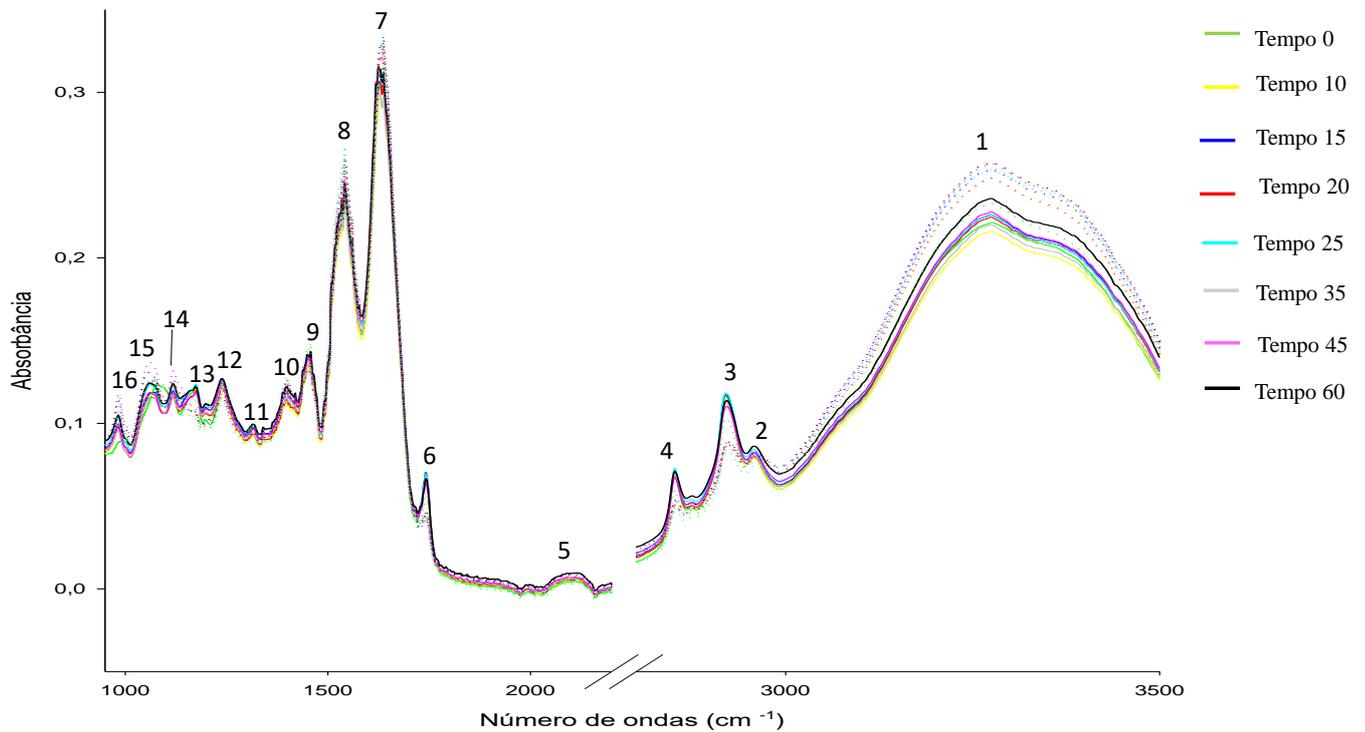
A proteólise secundária também foi responsável por esse acontecimento, observando-se no presente trabalho que os índices da proteólise foram crescentes, o que indica ação das proteinases sobre a matriz proteica do queijo, levando à fragilização das mesmas. O IEP e IPP da Muçarela foram menores que os do Prato, fazendo com que sua fragilização fossem mais tardias e tornando as fibras da Muçarela mais resistentes por mais tempo.

No presente trabalho verificou-se que a Muçarela permaneceu alongando-se bem até os 35 dias de maturação, já no estudo de Silva et al. (2019) observou-se declínio da elasticidade no queijo Muçarela aos 40 dias de maturação, provavelmente devido à temperatura de armazenamento, que foi menor (7°C), e no presente trabalho foi utilizada a mesma temperatura recomendada para maturação do queijo Prato (12 a 15°C), o que favorece o crescimento e ação do resíduo do coalho e bactérias lácteas, que promoveram mais rapidamente o enfraquecimento da matriz protéica.

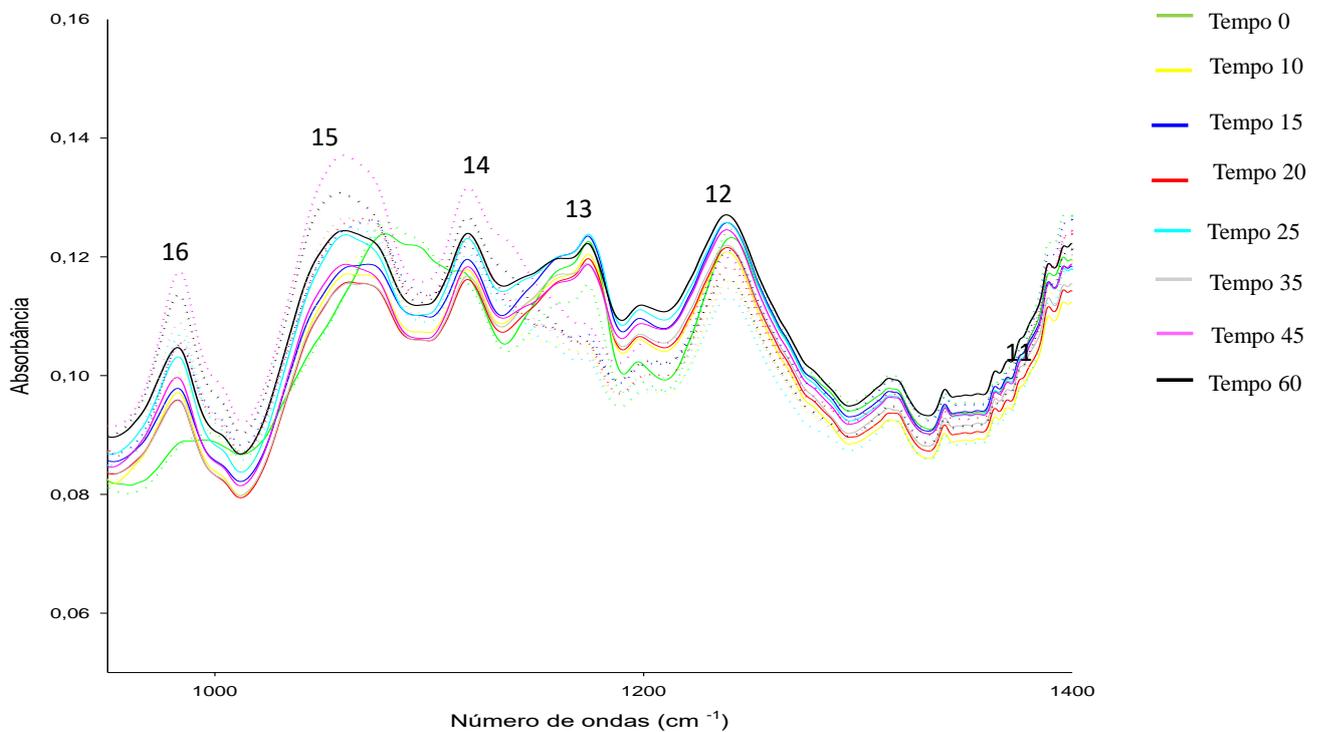
### **5.3 Caracterização espectral dos queijos produzidos por MIR**

Foram obtidos os espectros por meio do MIR dos queijos Prato e Muçarela produzidos no tempo 0 e com 10, 15, 20, 25, 35, 45 e 60 dias de maturação (Figura 6 a ). Foi possível identificar 16 bandas com máximas absorbâncias no perfil espectral analisado. As regiões espectrais encontradas (Tabela 4) foram identificadas de acordo com os principais modos vibracionais das funções orgânicas encontradas na composição dos queijos, com base nas informações de BARBOSA (2007), SAUER-LEA (2008) e PAX et al. (2019).

**Figura 6 a)-** Espectros de infravermelho médio (MIR) dos queijos Prato (linha contínua) e Muçarela (linha pontilhada) no tempo 0 e com 10, 15, 20, 25, 35, 45 e 60 dias de maturação; **b)** Espectro ampliado na região de 950  $\text{cm}^{-1}$  a 1400  $\text{cm}^{-1}$ .



**b)**



**Tabela 4** -Número de ondas e grupos funcionais encontrados nos espectros dos queijos Prato e Muçarela.

Absorbâncias	Número de onda $\text{cm}^{-1}$	Função orgânica
1	3689-3028	-OH
2	2996-2948	-CH
3	2941-2884	-CH
4	2863-2835	-CH
5	2136-2052	-C=C
6	1755-1734	-C=O
7	1700-1577	N-H/C=O
8	1565-1480	N-H
9	1412-1364	C=O
10	1343-1301	C=O/C-H/C=C
11	1276-1216	H-N-C=O
12	1276-1216	C-NH
13	1187-1145	C-CO-C
14	1126-1099	C-CO-C
15	1097-1024	C-CO-C
16	1005-950	CH

**Fonte:** Barbosa (2007); Sauer-Lea (2008); Pax et al. (2019).

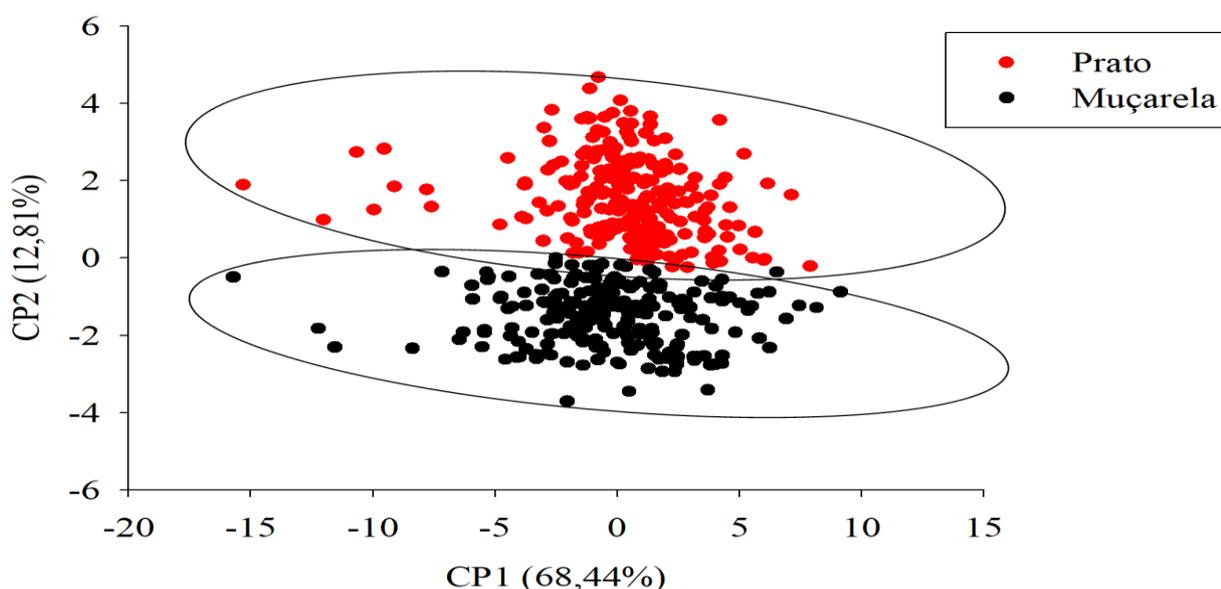
A faixa de número de onda compreendida entre  $3500 \text{ cm}^{-1}$  a  $3100 \text{ cm}^{-1}$  está relacionada a vibrações -OH e -CH associadas à água e lipídeos, já as ligações entre C=O/ -CH/C=C, que estão relacionados aos lipídeos, H-C-C=O associadas às amidas II e III de proteínas e às vibrações C-C/ C-O-C relacionadas a cetonas e aldeídos de carboidratos presentes nas regiões compreendidas entre  $1700 \text{ cm}^{-1}$  a  $950 \text{ cm}^{-1}$ .

O perfil espectral foi semelhante para os dois tipos de queijos, demonstrando visivelmente que algumas bandas tiveram intensidades diferentes (1, 3,13 e 15) ao longo do tempo de maturação. No entanto para se exprimir uma análise mais criteriosa dos dados e assim observar separação e classificação das amostras foram aplicadas análises multivariadas de ACP e AD.

#### 5.4 Análise de Componentes Principais-ACP

O gráfico da dispersões dos dados espectrais das amostras de queijo Prato e Muçarela produzidas submetidos ao estudo dos Componentes Principais (CP's) está disposto na Figura 7, onde as amostras foram agrupadas em relação ao tipo de queijo.

**Figura 7-** Dispersão das amostras de queijo Prato e Muçarela nos tempo 0 e com 10, 15, 20, 25, 35, 45 e 60 dias de maturação submetidos à Análise de Componentes Principais-ACP.



Nota-se que o somatório dos dois primeiros CP's foi maior que 70% para explicar a variância total dos dados obtidos através da análise MIR, admitindo-se assim confiança pela escolha e atribuição destes. O CP1 apresentou 68,44% para explicação das variáveis e correlacionou-se de forma positiva e significativa ( $p \leq 0,05$ ) com as variáveis  $-\text{OH}$  ( $3273 \text{ cm}^{-1}$ ) associada à água;  $\text{CH}$  ( $2959 \text{ cm}^{-1}$ ),  $-\text{CH}$  ( $2917 \text{ cm}^{-1}$ ),  $-\text{CH}$  ( $2848 \text{ cm}^{-1}$ ) e  $-\text{C}\equiv\text{C}$  ( $2115 \text{ cm}^{-1}$ ) associados aos lipídeos;  $\text{NH}/\text{C}=\text{O}$  ( $1630 \text{ cm}^{-1}$ ) e  $\text{NH}$  ( $1538 \text{ cm}^{-1}$ ) associados às proteínas;  $\text{C}=\text{O}$  ( $1462 \text{ cm}^{-1}$ ) e  $\text{C}=\text{O}/\text{C}-\text{H}/\text{C}=\text{C}$  ( $1396 \text{ cm}^{-1}$ ) associados aos lipídeos;  $\text{NH}-\text{C}=\text{O}$  ( $1316 \text{ cm}^{-1}$ ) e  $\text{CH}-\text{NH}$  ( $1237 \text{ cm}^{-1}$ ) associados às proteínas;  $-\text{C}-\text{CO}-\text{C}$  ( $1176 \text{ cm}^{-1}$ ),  $-\text{C}-\text{CO}-\text{C}$  ( $1121 \text{ cm}^{-1}$ ) e  $-\text{C}-\text{CO}-\text{C}$  ( $1079 \text{ cm}^{-1}$ ) associados aos carboidratos e  $-\text{CH}$  ( $983 \text{ cm}^{-1}$ ) associados à lipídeos.

Já o CP2 apresentou 12,81% da explicação das variáveis e foi o que melhor representou a distribuição dos dados para os tipos de queijos analisados, ou seja, foi o responsável pela distinção entre os dois queijos. Esse componente correlacionou-se significativamente ( $p \leq 0,05$ ) e de forma negativa com as variáveis  $-\text{OH}$  ( $3273 \text{ cm}^{-1}$ ) atribuída à água;  $\text{C}\equiv\text{C}$  ( $2115 \text{ cm}^{-1}$ ) atribuído aos lipídeos;

C-NH ( $1237\text{ cm}^{-1}$ ) associado às proteínas, e correlacionando-se de forma positiva com COOH ( $1176\text{ cm}^{-1}$ ) associado aos carboidratos. Essas observações sugerem que o CP2 descreve que a composição dos constituintes majoritários que compõem a matriz dos queijos são fundamentais para separação dos mesmos em grupos distintos, sendo importante ressaltar as etapas específicas que integram cada processamento podem ser contribuir para esta separação.

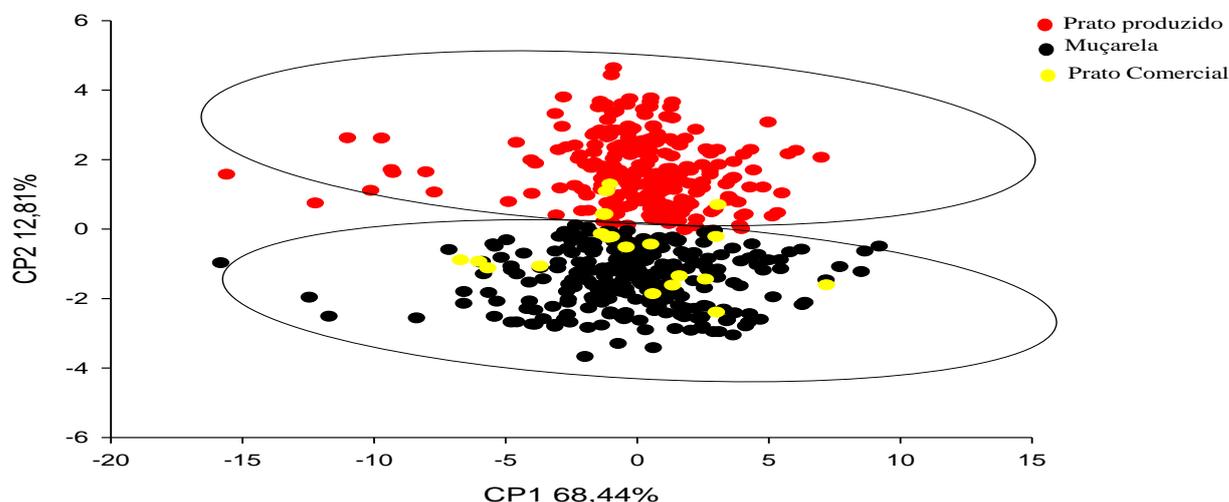
As informações mais relevantes estão presentes no CP2, que apresentou combinações entre gordura, proteína e água, relacionadas à escala negativa do gráfico, já a escala positiva está correlacionada com os carboidratos, atribuindo medidas superiores desta variável para o queijo Prato, e conseqüentemente separação das amostras em dois grupos distintos. Dessa maneira esses grupos funcionais são fundamentais na determinação da separação dos dois tipos de queijos.

É possível observar que no espectro (Figura 6b) ocorre uma perda de intensidade da banda representada pelo número 13, levando à redução da mesma para o queijo Muçarela a partir do 10º dia. Essa banda pode ser atribuída ao grupo funcional C-CO-C ( $1176\text{cm}^{-1}$ ) relacionada à lactose que é metabolizada pela ação das bactérias lácteas presentes na cultura láctea adicionada durante a produção dos queijos (MARTÍN-DEL-CAMPO et al., 2007). Tal fato pode ser explicado devido o queijo Muçarela ser submetido ao processo de fermentação em que a lactose é decomposta rapidamente, reduzindo o pH da massa em torno de 4,9 a 5,1 (GONÇALVES, 2015), enquanto no queijo Prato a redução do pH da massa ocorre de maneira menos brusca e mais lenta (CRUZ et al., 2017), o que acarreta maior teor de lactose no queijo Prato e, por conseqüência, essa variável correlacionou-se de forma positiva ao escore do CP2, e as amostras do queijo Prato tenderam ir para a direção positiva do gráfico (Figura 7).

Com base nos resultados encontrados, os diferentes tipos de queijos foram agrupados pela ACP, sendo que nenhum dos tempos de maturação dos queijos Prato foi agrupado como Muçarela, o mesmo também não acontecendo para o queijo Muçarela, em que não foram agrupadas como queijo Prato, sendo o MIR já se mostrando como um bom indicativo de técnica para verificar a autenticidade do queijo Prato.

Com a necessidade de averiguação da autenticidade de queijos Prato comerciais, foi obtido o gráfico da dispersão de 20 queijos de 12 marcas distintas em sobreposição das amostras de queijo Prato e Muçarelas produzidas (Figura 8).

**Figura 8-** Dispersão das amostras comerciais de queijo Prato em sobreposição de amostras de queijos Prato e Muçarela produzidas e armazenadas nos tempo 0 e com 10, 15, 20, 25, 35, 45 e 60 dias de maturação submetidos à Análise de Componentes Principais (ACP).



Diante das observações realizadas a partir da análise da ACP, foi possível verificar a dispersão das amostras comerciais, onde 16 amostras comerciais tendenciaram a se posicionarem em sobreposição às amostras de queijos Muçarela, evidenciando que as características dessas se assemelharam mais ao queijo Muçarela do que ao queijo Prato, fortalecendo a hipótese de que são comercializados queijos Muçarela como queijo Prato. Diante disso, para reforçar essas observações e confirmar a separação das amostras estudadas foi realizada a aplicação da análise discriminante nos dados, para minimizar os erros de classificação, fazendo com que uma amostra não fosse classificada em um grupo de maneira errônea.

## 5.5 Análise Discriminante-AD

### 5.5.1 Análises Discriminantes por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA)

Para a análise de PLS-DA foram selecionadas no espectro as bandas associadas a ligações de água, lipídeos e carboidratos ( $\text{OH}$ ,  $3498\text{-}2996\text{ cm}^{-1}$ ;  $\text{C}\equiv\text{C}$ ,  $2942\text{-}2911\text{ cm}^{-1}$  e  $\text{COOH}$   $1197\text{-}1125\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente), sendo visualizadas diferenças de intensidade entre os espectros para os tipos de queijo e também maiores correlações da análise de CP com as variáveis dos queijos. Os resultados da PLS-DA estão dispostos na Tabela 5.

**Tabela 5-** Número de observações e percentuais de acertos nas etapas de treinamento e validação obtidos por meio de PLS-AD dos queijos Prato e Muçarela nos tempos diferentes tempos de maturação.

<b>Queijo</b>	<b>Treinamento</b>	<b>Validação</b>	<b>total</b>
<b>Prato</b>	91,66%	84,04%	320
<b>Muçarela</b>	99,52%	93,61%	320

Com a aplicação PLS-DA nos dados espectrais se obteve classificação satisfatória, em que na etapa de treinamento do queijo Prato a taxa de classificação foi de 91,66%, enquanto a taxa de classificação na etapa de validação foi de 84,04%. Já para a Muçarela a taxa de capacidade de classificação na etapa de treinamento foi de 99,52%, sendo que apenas 2 amostras não foram classificadas corretamente, e na etapa de validação de 93,61%.

Essas taxas são consideradas altas, uma vez que a maturação dos queijos variou de 0 a 60 dias, indicando que para todos os períodos analisados os tipos de queijos apresentaram características específicas que os diferenciaram, sendo assim o modelo gerado pode ser utilizado para classificação de novas amostras.

As bandas atribuídas (relacionadas à água, lipídeos e carboidratos) nessa análise contribuíram para classificação satisfatória, uma vez que essas fazem menção a grupos funcionais que são essencialmente fundamentais na diferenciação desses queijos, visto que situação semelhante foi constatada anteriormente nas análises de ACP, em que os grupos funcionais (relacionados à água, lipídios, proteína e carboidratos) foram responsáveis na distinção das amostras de queijos Prato e Muçarela.

### **5.5.2 Análise discriminante convencional-AD**

Para a análise discriminante convencional foram selecionados 16 bandas de máximas absorvâncias (Figura 6 a) no espectros do MIR das amostras produzidas.

A AD gerou 2 funções discriminantes que serviram para classificar os queijos produzidos, em que suas utilizações obtiveram ótimos resultados de treinamento e de validação dos dados amostrais (Tabela 6 ). As amostras foram classificadas de forma satisfatória, obedecendo a classificação dos dados originais.

**Tabela 6-** Número de observações e percentuais de treinamento e validação obtidos por meio de AD dos queijos Prato e Muçarela nos tempos de maturação.

<b>Amostra</b>	<b>Treinamento</b>	<b>Validação</b>	<b>Total</b>
<b>Prato</b>	93,89%	91,50%	320
<b>Muçarela</b>	92,59%	89,23%	320

Na etapa de treinamento do queijo Prato a taxa de classificação foi de 93,89%, enquanto a taxa de classificação na etapa de validação foi de 91,5%. Para a Muçarela a taxa de capacidade de classificação na etapa de treinamento foi de 92,59% e na etapa de validação de 89,23%.

Para a AD convencional, onde se utilizou apenas os dados que descrevem as máximas absorvâncias dos espectros, também se obteve bons resultados, pois foi possível a obtenção de taxas altas de classificações das amostras de queijos Prato e Muçarela. Pois, essas máximas absorvâncias demonstraram a existências de diferenças de intensidades entre as amostras dos queijos e consequentemente a separação entre eles e a possibilidade de classificação.

Desse modo, as funções geradas foram capazes de classificar amostras comerciais adquiridas. Os resultados da aplicação dos métodos discriminantes se encontram na Tabela 7, em que se observa a classificação dos queijos comerciais nos grupos de queijo Prato e Muçarela.

**Tabela 7-** Classificação das amostras comerciais por dois métodos de discriminação: PLS-DA e AD.

<b>Amostras comerciais</b>	<b>PLS-DA</b>		<b>AD</b>	
	<b>Prato</b>	<b>Muçarela</b>	<b>Prato</b>	<b>Muçarela</b>
C1		x		x
C2		x		x
C3		x		x
C4		x		x
C5		x		x
C6		x		x
C7		x		x
C8		x		x
C9		x		x
C10		x		x
C11		x		x
C12		x		x
C13		x		x
C14		x		x
C15		x		x
C16		x		x
C17		x		x
C18		x		x
C19		x		x
C20		x		x

C= Queijo Prato Comercial

Os dois métodos apresentaram resultados semelhantes para os dados das amostras comerciais, em que as mesmas foram classificadas em sua totalidade para todos os tempos estudados, como queijos Muçarela. Desta forma, a AD convencional indicou probabilidade de cada queijo pertencer a um determinado grupo, onde os queijos comerciais obtiveram probabilidades maior que 82,5% chegando até 100% de se classificarem como Muçarela, indicando que estas amostras apresentaram mais características de seus grupos funcionais semelhantes à Muçarela do que de queijo Prato.

Os modelos gerados com utilização do MIR em associação à quimiometria refletiram uma precisão e velocidade nas práticas laboratoriais de rotina, sobretudo na verificação de fraude sendo eficaz para revelar que as amostras comerciais analisadas não foram autênticas para queijo Prato. Esses resultados revelam a realidade de amostras que são comercializadas fraudadas no comércio varejista, indicando um dolo ao consumidor que está adquirindo um produto que não condiz com sua integridade, e que muitas vezes é comercializado por um preço elevado e que não correspondem com as exigências do processamento utilizado.

## 6. CONCLUSÃO

As amostras de queijos Prato e Muçarela diferenciaram entre si para os parâmetros de umidade, EST, proteína e índices de extensão e de profundidade da proteólise. A acidez, pH, derretimento e elasticidade tiveram interação em relação ao tipo de queijo e o tempo de maturação, tendo comportamento crescente para todos esses parâmetros e decrescente para pH do queijo Prato, exceto a elasticidade que teve efeito quadrático, declinando mais primeiro para o queijo Prato

A técnica MIR associada à ACP permitiu a diferenciação dos tipos de queijos em grupos distintos, o que propiciou a classificação das amostras, separadas principalmente pelas diferenças em relação aos teores de água, gordura e proteínas, correlacionadas com as absorvâncias das bandas dos espectros dos queijos nos tempos analisados. A maior parte das amostras comerciais se comportou de forma semelhante ao queijo Muçarela, se distribuindo em sobreposição do mesmo.

A associação do MIR com os dois métodos de AD foi eficiente na classificação das amostras dos queijos Prato e Muçarela, obtendo altos índices de classificação das amostras em seus respectivos grupos. As amostras comerciais de queijo Prato foram 100% classificadas por essas análises como queijo Muçarela, revelando agilidade e eficiência das técnicas.

## 7. REFERÊNCIAS

- ABIQ. Associação Brasileira De Das Industrias De Queijos. **Queijo prato**. 2019. Disponível em:<[https://www.abiq.com.br/queijos\\_ler.asp?codigo=1929&codigo\\_categoria=16&codigo\\_sucategoria=37](https://www.abiq.com.br/queijos_ler.asp?codigo=1929&codigo_categoria=16&codigo_sucategoria=37)>. Acesso 15 de junho de 2019.
- ABRAS. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRAS DE SUPERMERCADOS. **Com 25% da produção nacional, mg aposta no queijo como saída para crise e geração de renda**. 2019, disponível em <<https://www.abras.com.br/clipping.php?area=1&clipping=67836>> acesso em: 05 de agosto de 2020.
- ALVES, L.S.; MERHEB-DINI, C.; GOMES, E.; DA SILVA, R.; GIGANTE, M.L. Yield, changes in proteolysis and sensory quality of Prato cheese produced with different coagulants. **Journal of Dairy Science**, v.96, p. 7490 – 7499, 2013.
- AMARANTE, J.O.A. Queijo Prato. **Amarante, a grife do vinho do gim e do queijo**, 2011. Disponível em:<<https://www.amarantevinhos.com.br/queijo%20%20outra%20paix%C3%A3o/queijo-prato/>>. Acesso em 29 de maio de 2019.
- ANDREATTA, E. **Avaliação da qualidade dos queijos Minas Frescal e tipo Mussarela produzidos com leite contendo diferentes níveis de células somáticas**. 2006. 110p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.
- ANDUEZA, D.; AGABRIEL, C.; CONSTANT, I.; LUCAS, A.; MARTIN, B. Using visible or near infrared spectroscopy (NIRS) on cheese to authenticate cow feeding regimes. **Food Chemistry**, v. 141, p. 209-214, 2013.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT. **Análise sensorial dos alimentos e bebidas: terminologia**. 1993. 8 p.
- AUGUSTO, M. M. M. **Influência do tipo de coagulante e do aquecimento no cozimento da massa na composição, rendimento, proteólise e características sensoriais do queijo Prato**. 2003. 190f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos-FEA. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.
- BÄHLER, B.; RUF, T.; SAMUDRALA, R.; SCHENKEL, P.; HINRICHS, J. Systematic approach to study temperature and time effects on yield of pasta filata cheese. **International Journal of Dairy Technology**, v. 69, n. 2, p. 184–190, 2016.
- BALLABIO D., CONSONNI, D., **Royal Society Of Chemistry**, Revisão do tutorial, v. 5 , p.3790-3798, 2013.

- BALDINI, V. L. S. et al. Alterações das características químicas e textura do queijo tipo Prato ao longo do processo de maturação. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 15., 1998, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: ILCT p. 300, 1998.
- BAPTISTA, D. P.; ARAÚJO, F.D. S.; EBERLIN, M. N. , GIGANTE, M. L. The 25% reduction in salt in Prato cheese does not affect proteolysis and a sense of acceptance. **International Dairy Journal**. V. 75, p. 101-110, 2017.
- BARBOSA, L.C.A. **Espectroscopia no Infrvermelho: Na caracterização de compostos orgânicos**. Ed. UFV, 2007, 189p.
- BRASIL. DEPARTAMENTO DE INSPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL-DIPOA, Portaria Nº 146 De 07 De Março De 1996. (\*), Aprovar os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos em anexo. **Diário Oficial da República do Brasil**, de 11 de março de 1996.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. Portaria nº 358, de 04 de Setembro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Queijo Prato. **Diário Oficial da República do Brasil**, Brasília, 08 set. 1997 Seção 1, P.19690, 1997a.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria Nº 366, De 04 De Setembro De 1997. Regulamento Técnico Para Fixação de Identidade e Qualidade de Massa Para Elaborar Queijo Mozzarella (Muzzarella Ou Mussarela). **Diário Oficial da República do Brasil**, 04 de Setembro 1997b.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 68, de 12 de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos, **Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília**, 14 de dezembro de 2006.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Aprovar os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos em anexo. **Diário Oficial da República do Brasília**, 29 de março de 2017.

- CHAVES, K.S.; GIGANTE, M.L. Prato cheese as suitable carrier for *Lactobacillus acidophilus* La5 and *Bifidobacterium* Bb12. **International Dairy Journal**, v. 52, p. 10-18, 2016.
- COROLIAN, A.; TRIF, M.CORIAN, C.O.; MIRESAN, V.; RĂDUCU, C.; DĂRĂBAN, S. Qualitative evaluation of buffalo cheese using FTIR spectroscopy. **International Journal of the Bio flux Society**, v. 4, n.2, p.66-70, 2012.
- CONCEIÇÃO, D. G.; R. F.; GONÇALVES, B. R. F.; DA HORA. F. F.; FALEIRO S. A.; SANTOS L. S.; FERRÃO, P. B. S. Use of ftir-atr spectroscopy combined with multivariate analysis as a screening tool to identify adulterants in raw milk. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, v. 30, p. 780-785, 2018.
- COSTA JUNIOR, L. C. G.; Moreno, V. J.; Magalhães F. A. R.; Costa R. G. B.; , Resende, E. C.; Carvalho, K. B. A. Maturação do queijo minas artesanal da microrregião campo das vertentes e os efeitos dos períodos seco e chuvoso **Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora**, v. 69, n. 2, P. 111-120, 2014.
- CRUZ, A.G; ZOORCHERCO, P.B; OLIVEIRA, C.A.F; COROSSIN, C.H. Processamento de produtos lácteos: Queijos, leites fermentados, bebidas lácteas, manteiga, creme de leite, doce de leite, soro em pó e lácteos funcionais. 1ªed. Rio de Janeiro: **Elsevier**, 2017.
- CRUZ, F. T.; RUIZ, E. N. F. ; GERHART, T. E. . Problematizando o risco e as incertezas diante da alimentação: diversidade, segurança alimentar e políticas públicas em debate. In: Marilise Oliveira Mesquita; Deise Lisboa Riquinho; Tatiana Engel Gerhart; Eliziane Nocolodi F. Ruiz. (Org.). Saúde coletiva, desenvolvimento e (in) sustentabilidades no rural. 1ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2018, v. 1, p. 205-221.
- OLIVEIRA, Valdomiro Jardim; LOBATO, Verônica; DE ABREU, Luiz Ronaldo. Estudo sobre a elasticidade do queijo mozzarella para pizza, elaborado com leite de búfala (*Bubalus bubalis*). **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 64, n. 370, p. 18-21, 2009.
- DE RENSIS, C. M. V. B.; PETENATE, A. J.; VIOTTO, W. H. Caracterização físico-química, reológica e sensorial de queijos tipo Prato com teor reduzido de gordura. **Food Science and Technology**, v. 29, n. 3, p. 488-494, 2009.
- DIEZHANDINO, I. et al. Rheological, textural, colour and sensory characteristics of a Spanish blue cheese (Valdeóncheese). **Food Science and Technology**, v. 65, p. 1118-1125, 2016.

- EGITO A. S., Método Eletroforético Rápido Para Detecção da Adulteração do Leite Caprino Com Leite Bovino **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.5, p.932-939, 2006.
- FERREIRA, M. M. C.; ANTUNES, A. M.; MELGO, M. S.; VOLPE, P. L. O. Quimiometria I: Calibração multivariada, um tutorial. **Revista Química Nova**. v. 22, p.724–731, 1999.
- FILHO, A.B. M., ARGÉLIA; SILVA, M. A. D., VASCONCELOS, M A. S., Análises Físico-Químicas dos Alimentos: Produção Alimentícia. **Rede e-Tec Brasil**. Universidade Federal Rural de Pernambuco –UFRPE. 143p 2013.
- FOX, P. F. Proteolysis During Cheese Manufacture and Ripening. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 6, p. 1379-1400, 1989.
- FOX, P. F.; GUINEE, T. P.; COGAN, T. M.; McSWEENEY, P. L. H. Fundamentals of Cheese Science. Maryland: **Na Aspen Publication**, 2000. 587p.
- FURTADO, M.M. **Muçarela, Fabricação & Funcionalidade**: 1º ed. - São Paulo: Setembro, 2016, 256 p.
- FURDADO M.M. **Queijos Semiduros**: 1º ed. São Paulo: Setembro, 2019, 301p.
- GARCIA, G. A. C.; PENNA, A. L. B. Queijo prato com teor reduzido de gordura adicionado de enzima proteolítica: características físicas e sensoriais. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, p. 346-357, 2010.
- GELADI, P.; KOWALSKI, B.R. Partial least-squares regression: A tutorial. *Analytica Chimica Acta*, v.185, p.1–17, 1986.
- GUERRA, J. Produção de queijos no Brasil deve ultrapassar 1,0 milhão de toneladas em 2013. **Scot consultoria**. Disponível em: <<https://www.scotconsultoria.com.br/noticias/artigos/28592/producao-de-queijos-no-brasil-deve-ultrapassar-10-milhao-de-toneladas-em-2013.htm>> acesso em 19 de junho de 2019.
- GONCALVES, BH. R. F; SILVA, J. S.; DE JESUS, J. C.; CONCEIÇÃO, D.G.; SANTOS, L.S.; FERRÃO, P. B. S. Verificação rápida da autenticidade do leite de búfalo por espectroscopia de infravermelho médio, medições analíticas e calibração multivariada. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**. São Paulo, v. 31, n. 7, pág. 1453-1460, julho de 2020.

- GONÇALVES, B.R.F; SILVA, G.J.; PONTES, S.F.O.; FONTAN, R.C.I.; EGITO, A.S.; FERRÃO, S.P.B. Evaluation of the peptide profile with a view to authenticating buffalo mozzarella cheese. **Intentional Journal of Food Science**, v.51, p.1586-1593, 2016.
- GUERREIRO, J. S.; BARROS, M.; FERNANDES, P.; PIRES, P.; BARDSLEY, R. Principal component analysis of proteolytic profiles as markers of authenticity of PDO cheeses. **Food Chemistry**, v. 136, n. 3-4, p. 1526-1532, 2013.
- GUNASEKARAN, S.; AK, M.M. **Cheese Rheology and Texture**. CRC Press LLC, Florida, 2003, 637p.
- GUTIERREZ, E. M. R.; DOMARCO, R. E.; SPOTO, M. H. F.; BLUMER, L.; MATRAIA, C. Efeito da radiação gama nas características físico-químicas e microbiológicas do queijo prato durante a maturação. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 4, p. 596-601, 2004.
- HAIR, J. F.; BLACK, W. C.; BABIN, B. J.; ANDERSON, R. E. **Análise multivariada dedados**. 6 ed., Porto Alegre: Bookman, 688 p., 2009.
- HLA SILVA C.F. BALTHAZAR E.A. ESMERINO A.H. VIEIRA L.P. CAPPATO R.PC NETO S. V ERRUCK R.N. CAVALCANTI J.B. PORTELA M.M. ANDRADE J. MORAES R.M. FRANCO M.IB TAVARES E.S. PRUDENCIO M.Q. FREITAS J.S. NASCIMENTOM.C. SILVA R.SL RAICESA.G. CRUZ Efeito da redução de sódio e adição de intensificador de sabor no processamento de queijo Prato probiótico. **Food Research International**, Vol. 99, p. 247-255, 2017.
- HRUZICOVA, J. MILDE D.; KRAJANCOVA P.; RANC V. Discrimination of cheese products of authenticity control by infrared spectroscopy. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, vol 60, n. 7, p. 1845-1849, 2012.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4.ed. 1ª Edição São Paulo: Digital, 2008. 1020p.
- JESUS, J. C.; SILVA, G. J.; GONCALVES, B. R. F.; SOUSA, M. R.; SANTOS, L. S.; FERRÃO, S.P.B. Quick Identification of the Time of Maturation of Artisanal Minas Cheese by FTIR ATR Spectroscopy and Multivariate Techniques. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, v. 00, p. 1-12, 2020.
- JØRGENSEN, K.; NAES, T. The use of LS-PLS for improved understanding, monitoring and prediction of cheese processing. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 93, n. 1, p. 11-19, 2008.

- KOBLITZ, M. G. B. **Bioquímica de alimentos: Teoria e aplicações Práticas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koonga, 2008.
- KOBLITZ, M. G. B., **Bioquímica de alimentos: teoria e aplicações práticas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koonga, 2010.
- LEITE A. I. N.; PEREIRA, C. G.; ANDRADE, J.; VICENTINIC N. M.; BELL, M. J.V.; VIRGÍLIO, A. FTIR-ATR spectroscopy as a tool for therapid detection of adulterations in butter cheeses. **Food Science and Technology**. v.109, p. 63-69, 2019.
- LIMA, A.; BAKKER, J. Espectroscopia no infravermelho próximo para a monitorização da perfusão tecidual. **Revista Brasileira Terapia Intensiva**, São Paulo , v. 23, n. 3, p. 341-351, 2011.
- LIMA, A. C.; GOULART, V.P.; CORREIA, L.; PEREIRA, T. Cássio et al. Espectroscopia ATR-FTIR para a avaliação de alterações bioquímicas na pele devido ao carcinoma de células escamosas cutâneo. **International Journal of molecular sciences**, v. 16, n. 4, p. 6621-6630, 2015.
- LOHUMI, S. H.; LEE, H.; CHO, B-K. A review of vibrational spectroscopy techniques for the detection of food authenticity and adulteration. **Trends in Food Science & Technology**, v. 46, p. 85- 98, 2015.
- ALVES, L.S.; MERHEB-DINI, C.; GOMES, E.; DA SILVA, R.; GIGANTE, M.L. Yield, alterações na proteólise e qualidade sensorial do queijo Prato produzido com diferentes coagulantes. **Journal of Dairy Science**, v.96, p. 7490 – 7499, 2013.
- MACHADO, A. R. T.; DA SILVA, A C., Regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) e espectroscopia no UV/Vís para quantificação de corantes: agilidade e eficiência para estações de tratamentos de efluentes têxteis. **Revista Eletrônica Produção e Engenharia**, v. 4, n. 2, p. 427-432, 2013.
- MARTÍN-DEL-CAMPO, S. T.; PICQUE, D.; COSÍO-RAMÍREZ, R.; CORRIEU, G. Middle infrared spectroscopy characterization of ripening stages of Camembert-typecheeses. **International Dairy Journal**, v. 17, p. 835–845, 2007.
- MARTINS, J. M.; FURTADO, M. M. ; VIANA, G. A. Mussarela semifundida: uma nova alternativa de produção. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 57, p. 107-110, 2002.
- MCSWEENEY, P. L. H. Biochemistry of cheese ripening. **International Journal of Dairy Technology**, v.57, n.2/3, p. 127-144, 2004.
- MELLING, J. M.; THOMPSON, M. Fiber-optic probes for midinfrared spectrometry. In Handbook of Vibrational Spectroscopy. Chichester UK: ed. John Wiley&Sons, 2002.

- MINGOTI, S. A. **Análise de dados através de métodos de estatística multivariada: uma abordagem aplicada.** Belo Horizonte: Editora UFMG, 2007.
- MORENO, I. et al. Propriedades Físicas e Composição Química e Bioquímica Durante a Maturação de Queijo Prato de Diferentes Origens. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Torres**, v. 57, p.270-273, 2002.
- MADALOZZO, E. S. ; CORDEIRO, G. A.; CALAÇA, G. N.; STETS, S.; SAUER LEAL, E.; NAGATA, N. Determinação de Gordura e Proteína em Ricota via Espectroscopia no Infravermelho e Método de Calibração Multivariada. **In: 8o. Simpósio Latino Americano de Ciências de Alimentos, 2009, Campinas. Ciência de Alimentos no Mundo Globalizado: Novos Desafios, Novas Perspectivas**, v. 1. p. 1-1. 2009.
- NARIMATSU, A.; DORNELLAS, J. R. F.; SPADOTI, L. M.; PIZAIA, PATRÍCIA D.; ROIG, S. M. Avaliação da proteólise e do derretimento do queijo prato obtido por ultrafiltração. **Ciência e Tecnologia Alimentar**, v. 23, p. 177-182, 2003.
- NASCIMENTO, C. F.; SANTOS, P. M; PEREIRA-FILHO, E.R.;ROCHA F.R.P. Recent advances on determination of milk adulterants. **Food chemistry**, v. 221, p. 1232-1244, 2017.
- NETO, J. M. M.; MOITA G. C. Uma introdução à análise exploratória de dados multivariados. **Revista Química Nova**. v. 21, p. 467-469, 1998.
- NGUYEN, H. T. H.; ONG, L.; LOPEZ, C.; KENTISH, S. E; GRAS, S. L. Microstructure and physico chemical properties reveal differences between high moisture buffalo and bovine Mozzarella cheeses. **Food Research International**, v. 102, p. 458-467, 2017.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. (2016). Official Methods of Analysis. (18<sup>th</sup> ed.), Washigton: AOAC.
- OLIVEIRA, R. R.; SOUZA, M. I. A.; SILVA, C.H.; PRADO, C. S.; Rezende, C. S. M.; LAGE, M. E. Determinação do caseino macropeptídeo em leite UAT por espectroscopia no infravermelho próximo e regressão por mínimos quadrados parciais. **Arquivo Brasileiro De Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v. 70, p. 946-956, 2018.
- OLIVEIRA, SHEILA; FERNANDES D. S. D.; VÉRAS, G. Overview of Analytical Techniques Associated with Pattern Recognition Methods in Sugar cane Spirits Samples. **Critical Reviews In Analytical Chemistry**, v. 49, p. 477-487, 2019.
- OTTAVIAN, M.; FACCO, P.; BAROLO, M.; BERZAGHI P. Near-infrared spectroscopy to assist authentication and labeling of Asiago d'allevio cheese. **Journal of Food Engineering**, v.113, p. 289-298, 2012.

- PACHECO, J.; CASADO, S.; PORRAS, S. Exact methods for variable selection in principal component analysis: Guide functions and pre-selection. *Computational Statistics and Data Analysis*, v.57, p. 95–111, 2013.
- PASQUINI, C. Espectroscopia de infravermelho próximo: fundamentos, aspectos práticos e aplicações analíticas. **Revista da Sociedade Brasileira de Química**, v.14 n.2, 2003.
- PAX, A.P.; ONG, A.L.; VONGSVIVUT, J.; TOBINC, M.J.; KENTISH, S.E.; GRASA, S.L. The characterisation of mozzarella cheese microstructure using high resolution synchrotron transmission and ATR-FTIR microspectroscopy. **Food Chemistry**, v.291 p. 214–222, 2019
- PEREIRA, D. B. C.; SILVA, P. H. F. DA; COSTA JR, L. C. G.; OLIVEIRA, L. L. DE. **Físico-Química do leite e derivados: Métodos Analíticos**. 2ed., Juiz de Fora: EPAMIG, 2001. 234p.
- PEREIRA, E. B. B.; PEREIRA, M. B. Um critério para o descarte de variáveis na análise de componentes principais. *Revista Universidade Rural, Série Ciências Exatas e da Terra*. v.23, p. 1-7, 2004.
- PERRY, K. S. P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 02, p. 293-300, 2004.
- REN, D.; CHEN, B.; CHEN, Y.; MIAO, S.; LIU, J. The effect of  $\kappa$ -casein polymorphism on the texture and functional properties of mozzarella cheese. **International Dairy Journal**, v.31 p.65-69, 2013.
- RIBEIRO, J. C. B.; CARDOSO, C. R.; ESMERINO, L. A.; SANTOS R. D.; DEMIATE I. M. NOGUEIRA, A. Qualidade físico-química e microbiológica do queijo parmesão ralado comercializado em Ponta Grossa, Paraná. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, n. 387, p. 21-29, 2012.
- ROBERT, N. T. F. Fabricação de queijo os especiais a partir do leite de vaca. **Dossiê Técnico**. 2007.
- RUSCHEL, C. F. C. et al . Análise exploratória aplicada a espectros de reflexão total atenuada no infravermelho com transformada de Fourier (ATR-FTIR) de blendas de biodiesel/diesel. **Química Nova**, São Paulo , v. 37, n. 5, p. 810-815, June 2014.
- SALA, O. **Fundamentos da espectroscopia Raman e no Infravermelho**. 2nd. Ed. São Paulo: Editora Unesp, 2008.p.276.

- SAUER-LEAL, E.; OKADA, F. M.; PERALTA-ZAMORAI P. Caracterização físico-química de queijo prato por espectroscopia no infravermelho e regressão de mínimos quadrados parciais. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1621-1625, 2008.
- SERRANO, L. E. F. Utilização de diferentes culturas lácteas na fabricação da mussarela de leite de búfala. 66 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. 2008.
- SHUHONG, D.; FATANG, J.; NAGENDRA, P. S.; , HAROLD, C. Functional and pizza bake properties of Mozzarella cheese made with konjac glucomannan as a fat replacer. **Food Hydrocolloids**, v 92, p 125-134, 2019.
- SILVA, L.; GONÇALVES, B. ; DA HORA, F. ; SANTOS, L. ; FERRÃO, S. MÉTODO espectroscópico (ftir-atr) e ferramentas químicas para detectar a adição de leite de vaca ao leite de búfalo. **Revista Mexicana de Ingeniería Química** , v. 19, n. 1, pág. 11-20, 11 jun. 2019.
- SILVA, T. E.; SILVA, T. E.; GARCIA, L. G. C.; DOS SANTOS, P. A. Estudo do comportamento de queijo Mussarela durante armazenamento refrigerado. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.74 p135-148. 2019.
- SILVA, F.T. Queijo Prato, **Embrapa**, 2005. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/11887/2/00076230.pdf>> acesso em 19 de junho de 2019.
- SOUZA, A. M.; POPPI, R. J. Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: um tutorial, parte 1. **Revista Química Nova**, v. 35, p. 223-229, 2012.
- SOARES, L. V. **Curso Básico de Instrumentação para Analistas de Alimentos e Fármacos**. Manole, Barueri, 2006.
- SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. Bookman, 5 ed., 2002.
- SMITH, B. C. **Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy**. 2ed. Boca Raton: CRC Press, 2011.
- SOUZA, J. S.; FERRAO, M. F. Aplicações da espectroscopia no infravermelho no controle de qualidade de medicamentos contendo diclofenaco de potássio. Parte I: dosagem por regressão multivariada. **Revista Brasileira Ciência Farmácia**, v. 42, n. 3, p. 437-445, 2006 .

- SPADOTI, L. M., et al., Queijo Prato. **TecnoLat** 2011. Disponível em:< [http://www.ital.sp.gov.br/tecnolat/arquivos/artigos/queijo\\_prato.pdf](http://www.ital.sp.gov.br/tecnolat/arquivos/artigos/queijo_prato.pdf) > acesso em 22 de junho de 2019
- SPADOTI, L. M.; DORNELLAS, J. R. F.; PETENATE, A. J.; ROIG, S. M. Avaliação do rendimento do queijo tipo Prato por modificações no processo tradicional de fabricação. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 3, p. 429-499, 2005.
- SPINK, J.; MOYER, D. Defining the public health threat of food fraud. **Journal of Food Science**. Vol. 76, Nr. 9, 2011.
- TEKIN, A.; GULER, Z. Glycolysis, lipolysis and proteolysis in raw sheep milk Tulum cheese during production and ripening: Effecto fripening materials. **Food Chemistry**, Hatay Turquia, v. 286 , p. 160-169, 2019.
- TOZETTO, A.; DEMIATE,.M. ; NAGATA, N. Análise exploratória de adoçantes de mesa via espectroscopia no infravermelho (FTIR) e análise por componentes principais (ACP). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, p. 723-728, 2007.
- UPADHYAY, V. K.U.; McSWEENEY, P. L. H.; MAGBOUL, A. A. A.; FOX, P.F. Proteolysis in Cheese during Ripening. In: FOX P. F.; McSWEENEY, P. L. H.; COGAN, T. M.; GUINEE, T. P. (Ed.). Cheese – chemistry, physics, and microbiology – vol. 1 – General Aspects. 3ª ed. London, 2004.
- URZEDO, A. C. B.; MOURA, C. J. ; OLIVEIRA, M. B. ; HENRIQUES, S. C. ; LIMA, M. B. R. ; BUENO, P. R. M. . Aceitação de queijo Pecorino produzido com leite de vaca e lipases de cabrito e cordeiro. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 63, p. 09-12, 2008.
- VIANA, L. F.; SILVA, T. E. ; SANTOS, P. A. ; SILVA, T. E. ; FURTADO, D. C. Proteólise em queijo mussarela tipo pizza chesse. In: iv congresso de pesquisa e pos graduação do campus rio verde do ifgoiano, 2015, Rio Verde. **Iv Congresso de Pesquisa e Pós-Graduação do Campus Rio Verde do Ifgoiano**, 2015.
- YE, X.; SAKAI, K.; SASAO, A.; ASADA, S. Potential of airborne hyperspectral imagery to estimate fruit yield in citrus. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v.90, p.132-144, 2008.