



## CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE QUEIJO MINAS COLONIAL EMPREGANDO LEITE FERMENTADO COM KEFIR COMO CULTURA “STARTER”

Anderson Eduardo da Silva, anderson.Silva.93@edu.unipar.br  
Luiz Gustavo de Freitas Vieira, luiz.169804@edu.unipar.br  
Camila Pereira Giroto, camilagiroto@prof.unipar.br  
Gilberto Alves, gilberto.alimentos@prof.unipar.br

**Resumo:** No atual cenário do mercado de alimentos aplicados à biotecnologia, o Kefir tem sido pouco utilizado para o desenvolvimento de novas pesquisas relacionadas à aplicação de seu uso em queijos, principalmente o “Queijo Minas Colonial”. Considerando tal premissa, o presente trabalho foi realizado para preencher esse campo pouco analisado, avaliando as propriedades físico-química, a fim de desenvolver alimentos cujas características funcionais sejam cada vez melhores, aprimorando a sua qualidade, preço e acessibilidade nas prateleiras. Dessa forma, destaca-se a grande importância da pesquisa voltada para esse campo, buscando aplicabilidade e desenvolvimento tecnológico de um possível produto inovador. O presente trabalho avaliou os efeitos da utilização de Kefir de leite em diferentes concentrações como cultura starter nas características físico-químicas do queijo Minas Colonial durante armazenamento em até 14 dias em temperatura de refrigeração. Os dados encontrados mostraram variações significativas na composição das características físico-químicas do queijo Minas Colonial durante a fabricação e armazenamento em temperatura de refrigeração em período de 1, 7 a 14 dias.

**Palavras-chave:** Queijo, Colonial, Kefir, Físico-Químicas, Starter.

### 1. INTRODUÇÃO

O primeiro indício da formação de queijos catalogada pela história ocorreu entre o período dos milênios 4000 a.C. a 2000 a.C. Registros arqueológicos encontrados em escritas sumérias e babilônicas descrevem que a descoberta do queijo se deu por alguns fatores fortuitos, em que o leite armazenado em recipientes de couro coagulava em contato com enzimas encontradas em seu interior. Na época dos nômades era comum os recipientes serem preparados com bexigas e estômagos de ruminantes (Marques, 1997).

O queijo é produzido a partir da coagulação do leite, que se dá o nome de coalho sendo oriunda de uma enzima (quimosina). Ocorre na presença de culturas lácteas como lactobacilos que provém da glicólise obtida a partir da quebra de uma molécula de lactose. O subproduto obtido a partir desse processo fermentativo e da quebra enzimática que ocorre nas pontas das proteínas do leite é considerado um dos alimentos mais saudáveis e nutritivos, pois em suas propriedades apresentam elevados teores de proteínas, carboidratos, lipídios e nutrientes importantes ao organismo humano, ricos em cálcio e vitaminas (Perry, 2004 *apud* Marques, 1997).

No Brasil, destaca-se a produção do queijo Minas Colonial, obtido por meio da coagulação enzimática do leite com coalho, ou pela aplicação de enzimas coagulantes apropriadas com a

utilização, ou não de bactérias lácticas específicas. Trata-se de um queijo de massa crua, com teor levemente ácido e de baixa capacidade de conservação, sendo classificado como um queijo “semi-gordo”, de alta umidade, e deve ser consumido fresco (Brasil, 2004).

Silva (2005) descreve os procedimentos da fabricação de queijo em geral. Já Kozechen *et al.* (2014) *apud* Paula; Carvalho; Furtado (2013), apresentam parâmetros específicos das etapas de fabricação do queijo Minas Colonial realizada em escala industrial.

Além do uso de bactérias lácticas, pode-se fazer o uso diretamente do Kefir para a produção do queijo. A bebida Kefir é obtida a partir da adição de grãos de Kefir ao leite para promover a fermentação. Sua produção também pode ocorrer em água, que consiste na adição dos grãos de Kefir em uma mistura de água e açúcar mascavo. Por ser considerado artesanal, e mantendo sua tradição, os grãos de Kefir são geralmente adquiridos por doações (Santos F. L. *et al.*, 2012 *apud* Wszolek *et al.*, 2006).

A aplicação do Kefir de leite como agente láctico na produção do queijo Minas Colonial apresenta qualidades efetivas e promissoras perante a biotecnologia. O uso do Kefir é benéfico à saúde de seus consumidores, por se tratar de um produto que contém probióticos, melhorando o sistema imunológico (Brasil, 2007).

Kurozawa *et al.*, (2017 *apud* Adler-Nissen, 1985), consideram que a lactose hidrolisada reduz o processamento e aumenta a vida útil dos subprodutos oriundos da fabricação de lácteos. A hidrólise proteica consiste na clivagem das moléculas enzimáticas em pequenos peptídeos e, em subsequência, sua transformação em aminoácido pode ser obtida por meio da hidrólise química ou enzimática. A hidrólise de característica enzimática é empregada na solubilização da proteína tendo como objetivo sua separação em duas partes distintas, sendo elas: solúveis, utilizados em rações para animais, e insolúveis, incorporadas a produtos alimentícios, pois possui proteína hidrolisada e baixos teores de lipídios (Kurozawa, 2017 *et al.*, *apud* Adler-Nissen, 1985).

Sendo assim, para o queijo Minas Colonial à medida que o tempo passa as enzimas presentes no coalho e nas bactérias do Kefir atuam nas proteínas do queijo, as caseínas. Essa atuação das enzimas proteolíticas causa a hidrólise de ligações peptídicas; essas hidrólises vão alterando a textura do queijo e o seu sabor, portanto é uma forma de verificar a atuação das enzimas das bactérias do Kefir, e suas respectivas alterações sobre as proteínas do queijo Minas Colonial (Kurozawa, 2017 *et al.*, *apud* Adler-Nissen, 1985).

Com isso, a hidrólise da lactose pode ser favorável e aumenta a percepção do sabor ácido dos queijos Minas Colonial. Tendo em vista a importância da produção de queijos, o uso do Kefir como agente de fermentação e sua importância na hidrólise proteica, o presente trabalho tem em vista avaliar os efeitos da utilização de Kefir de leite em diferentes concentrações como cultura starter nas características físico-químicas e sobre a hidrólise das proteínas do queijo Minas Colonial durante armazenamento em até 14 dias em temperatura de refrigeração.

## **2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **2.1 Procedimentos da fabricação de queijos em geral**

Os queijos em geral possuem diferentes processos de fabricação, podendo ser frescos ou maturados. Esses são obtidos por separação parcial do soro do leite, ou de leite reconstituído, podendo ser coagulados pela utilização de uma mistura de enzimas. Para tanto, utiliza-se o coalho, por ser um produto de fácil acesso, ou por enzimas que possuem características coagulantes com a ação de bactérias lácticas (Brasil, 1996).

Silva (2005) descreve que o procedimento de fabricação se dá inicialmente pela pasteurização para garantir um leite isento de microrganismos prejudiciais à saúde e no preparo do leite para coagulação, procedimento necessário para coagular a caseína (proteína do leite). Para que haja a

coagulação é necessária a adição de um agente fermentativo que tem como finalidade a produção de ácido láctico, a redução de microrganismos, diminuindo sua acidez (Silva, 2005).

Quando a massa obtém um aspecto final de coagulação inicia-se o tratamento de dessora, que consiste na iniciação do corte da coalhada, procedimento que promove a retirada do soro (Silva, 2005). É importante que o corte seja realizado quando a massa ganha um aspecto verde-amarelado. Isso porque um corte prematuro pode acarretar perda de caseína e de gordura, afetando assim o rendimento e a qualidade da massa do queijo.

Após o corte ainda na etapa de dessora a massa se divide em duas fases sendo uma de maior densidade e outra aquosa. Para evitar perdas da massa inicia-se o procedimento de agitação e eliminação do soro, evitando que massa se precipite de forma compacta tornando os grãos da massa mais firme e consistente (Silva, 2005).

A enformagem visa a moldar as características da massa do queijo, além de ser um procedimento utilizado para a eliminação do soro retido nos grãos da massa. Ademais, não há necessidade de prensagem, pois o próprio peso exerce levemente pressão sobre sua massa (Silva, 2005). E, por fim tem-se a salga, que permite uma melhor extração do soro, evitando formar um soro leitoso pela perda de caseína e gordura, mantendo a consistência e evitando que os grãos sejam danificados. Assim, encerra-se o processo de fabricação do queijo (Silva, 2005).

Silva (2005) ressalta que após fabricado o queijo pode ser embalado e armazenado sobre refrigeração em temperatura baixa para inibir o crescimento microbiológico de contaminantes. Todo procedimento de preparo, fabricação, embalagem e armazenamento do queijo está representado no fluxograma na Figura 1.

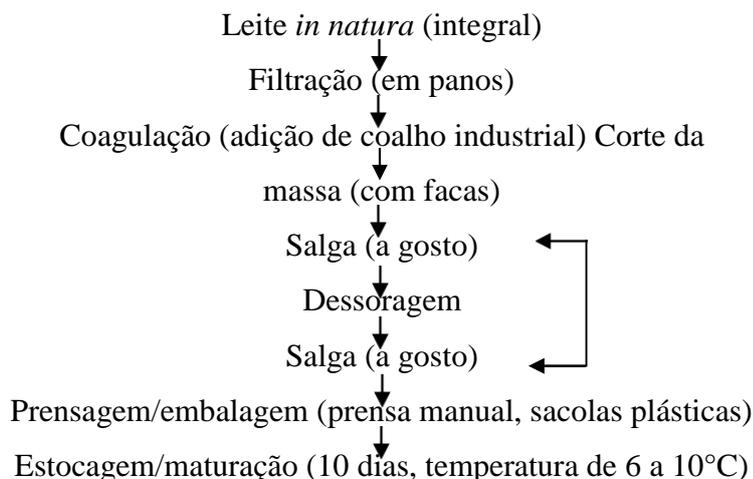


Figura 1 – Etapas de produção de fabricação de queijo.

## 2.2 Benefícios do uso do queijo para a saúde humana

Dentre os principais derivados lácteos no Brasil, destaca-se o queijo, considerado um dos alimentos mais saudáveis e nutritivos do mundo. Sua composição apresenta elevado teor de proteínas, carboidratos, lipídios e nutrientes importantes como cálcio e vitaminas (Perry, 2004).

Os queijos, em geral, trazem diversos benefícios à saúde humana por se tratar de um alimento que possui um alto teor de proteína e cálcio, além de bactérias probióticas que auxiliam na regulação do intestino. Essa característica engloba uma das tendências na área da Ciência e Tecnologia de Alimentos: o desenvolvimento de produtos considerados alimentos funcionais. No cenário atual da aplicação da biotecnologia voltada ao mercado brasileiro de alimentos há vários compostos estudados visando a determinar capacidades que evidenciam funcionalidades como vitaminas, antioxidantes, fibras e bactérias lácteas probióticas presentes na composição do queijo (Diniz, R.O. *et al.*, 2003). Há uma certa preocupação na busca por alimentos cada vez mais saudáveis, Cadme e Koch (2021),

consideram que existem vários estudos que comprovam a utilização de culturas lácticas na fabricação de alimentos. Dentre os aspectos positivos, fatores nutritivos que são benéficos à saúde, possibilitando a prevenção de doenças e o melhoramento do bem-estar.

Zanin (2022) destaca cinco características benéficas principais do uso do queijo como fonte de alimento, tais características são:

- Auxilia no emagrecimento, pois a proteína traz uma sensação de saciedade e acelera o metabolismo, facilitando a queima de gordura corporal;
- Previne o câncer do intestino, pois o queijo possui uma propriedade que se forma no intestino denominada de “butirato”. Essa propriedade além de ser responsável pelo aumento do metabolismo, também auxilia na diferenciação de células, evitando mutações e multiplicações de células neoplásicas;
- O butirato também reduz o colesterol, considerado prejudicial à saúde humana; além de prevenir problemas cardiovasculares;
- Regula a flora intestinal, evitando problemas decorrentes de prisão de ventre e diarreia,
- Fornece cálcio e vitaminas B ao organismo fortalecendo os ossos (Zanin, 2022).

### 2.3 Hidrólise enzimática do queijo

Segundo Vieira (2006), a palavra hidrólise é a junção de duas expressões, em que hidro significa água e lise significa quebra. Viera (2006) ainda descreve que a hidrólise realiza a quebra de uma molécula em presença água em um processo de uma reação química catalisada pela própria enzima denominada de “hidrolase” de modo que o produto seja separado por um grupo de hidroxila e de outro possuidor de um cátion de hidrogênio, esse processo está representado nas Figuras 2 e 3.

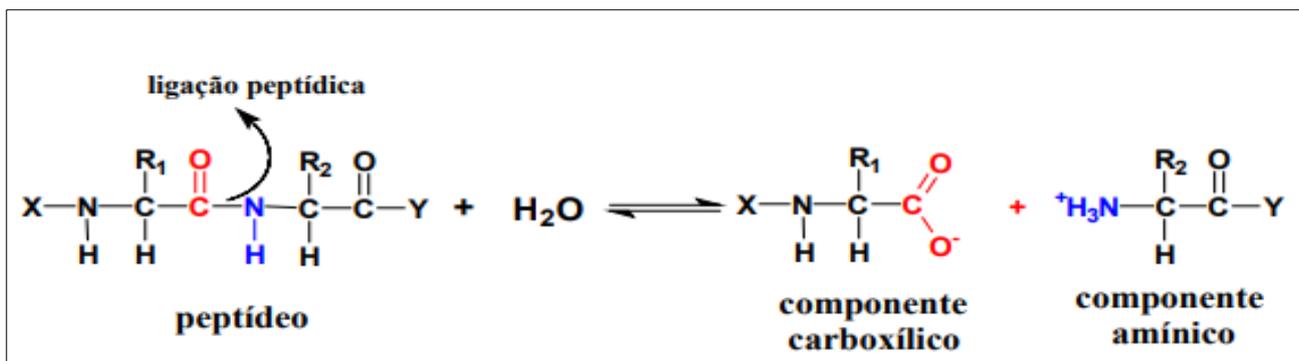


Figura 2 - Representação esquemática da hidrólise de uma ligação peptídica, catalisada por uma enzima proteolítica. (Fonte: Tardioli, 2003).

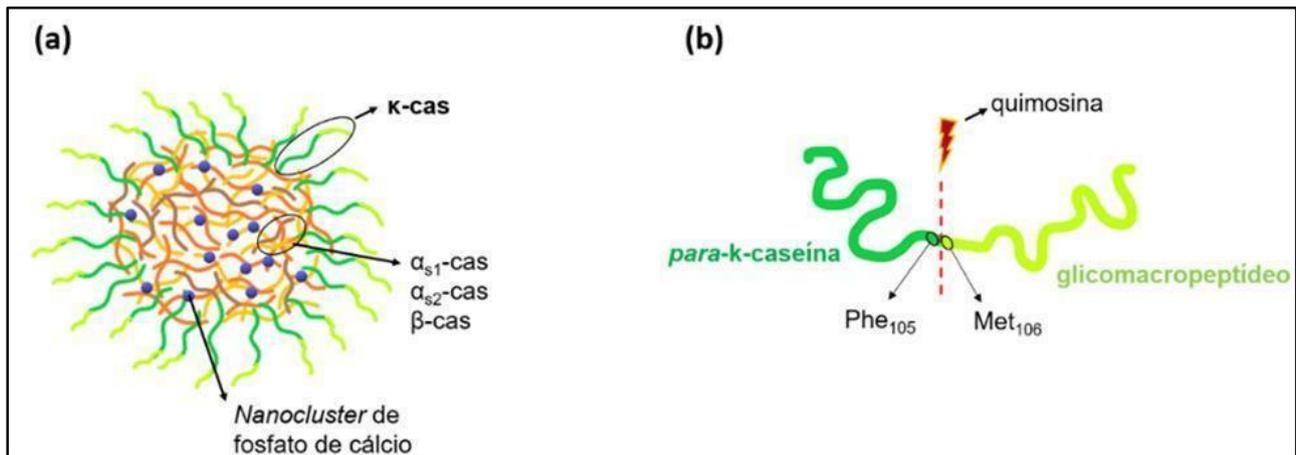
Kurozawa *et al.* (2017 *apud* Adler-Nissen, 1985) expõe que a lactose hidrolisada reduz o processamento e aumenta a vida útil dos subprodutos oriundos da fabricação de lácteos. A hidrólise proteica consiste na clivagem das moléculas enzimáticas em pequenos peptídeos e, em subsequência, sua transformação em aminoácido pode ser obtida através da hidrólise química ou enzimática.

A hidrólise de característica enzimática é empregada na solubilização da proteína, tendo como objetivo sua separação em duas partes distintas, sendo elas: solúveis, utilizadas em rações para animais, e insolúveis, incorporadas a produtos alimentícios, pois possui proteína hidrolisada e baixos teores de lipídios (Kurozawa, 2017 *et al.*, *apud* Adler-Nissen, 1985).

A coagulação enzimática tem como objetivo a transformação do leite de seu estado líquido para gel. Durante a formação do queijo, ocorre uma modificação nas micelas de caseína (componentes estruturais do leite) em proteólise pela ação da quebra de ligações peptídicas que ocorre devido à atuação enzimática do coalho, observável na Figura 3. É importante que o agente coagulante seja administrado ao leite em uma temperatura que varia entre 32 a 35 °C para uma ação eficaz dos micro-organismos (Paula; Carvalho; Furtado, 2013).

As enzimas derivadas do coalho ou o coagulante são obtidas do quarto estômago de ruminantes e se divide em duas proteinases, sendo elas a quimosina, utilizada para processos industriais pelo fato de suas características formarem ligações entre aminoácidos da kappa-caseína, e a pepsina uma enzima proteolítica que causa amargor em queijos, (Nornberg *et al.*, 2009 *apud* Gaucher *et al.*, 2008).

O processo da coagulação enzimática do leite ocorre em duas fases proteolíticas: na primeira fase há um ataque da enzima coagulante desestabilizando a fração k-caseína (camada externa da caseína) por hidrólise formando a “para-k-caseína”, e em consequência resultando na liberação de uma fração proteica, representada na Figura 3.



**Figura 3. Representação feita por Hudson *et al.* (2021), onde (a) é uma micela de caseína com seus constituintes, e (b) uma molécula de  $\kappa$ -cas e a indicação de hidrólise entre seus resíduos de aminoácidos Phe105 e Met106 pela quimosina (Fonte: Milkpoint 2022).**

Essa fração é liberada de forma solúvel e perdida no soro gerado, afetando o rendimento da massa durante o processo de produção (Nornberg *et al.*, 2009 *apud* Gaucher *et al.*, 2008).

Para a segunda fase tem-se a formação de gel em que todos os componentes (proteínas, gordura, lactose e sais minerais) são aprisionados em uma estrutura tridimensional. Nesse caso, as micelas de para-caseína se juntam mediadas pelo cálcio. Essa agregação ocorre entre as interações das moléculas de cálcio e serino-fosfato em um período em que 86% da k-caseína que já foi hidrolisada (Nornberg *et al.*, 2009 *apud* Gaucher *et al.*, 2008).

Noernberg *et al.* (2009 *apud* Gaucher, 2008) relatam que o cálcio age como matéria ligante, deixando a rede tridimensional mais firme dando corte a massa, porém alguns fatores também influenciam na coagulação do leite, como a temperatura, pH próximo de 6 para ação enzimática e teores de proteínas presentes na matéria-prima do leite.

A hidrólise da lactose pode ser favorável e aumenta da percepção do sabor ácido dos queijos Minas Colonial, tendo em vista a importância da produção de queijos, o uso do Kefir como agente de fermentação e sua importância na hidrólise proteica (Kurozawa, 2017 *et al.*, *apud* Adler-Nissen, 1985).

## 2.4 Etapas de produção do queijo Minas Colonial em escala industrial

O queijo Minas Colonial trata-se de um queijo de massa crua, levemente ácido e de baixa capacidade de conservação. Esse queijo é obtido por coagulação enzimática do leite com coalho, ou pela aplicação de enzimas coagulantes, utilização ou não de bactérias lácticas específicas, sendo classificado como um queijo semigordo, de elevada umidade, consumido fresco, além de ser amplamente consumido no Brasil. Esse produto possui elevada popularidade, pode ser produzido por diversas tecnologias de fabricação e manuseio em seu modo de produção, permitindo implementações de novos ingredientes diferenciais, e de fácil acesso (Souza, D. G. *et al.*, 2017).

Na Figura 4 está presente a esquematização do processo em escala industrial da transformação do leite em queijo, composta por uma série de etapas tais como: a padronização, pasteurização, coagulação, acidificação, dessoramento do grão (sinérese), enformagem, salga e armazenamento.

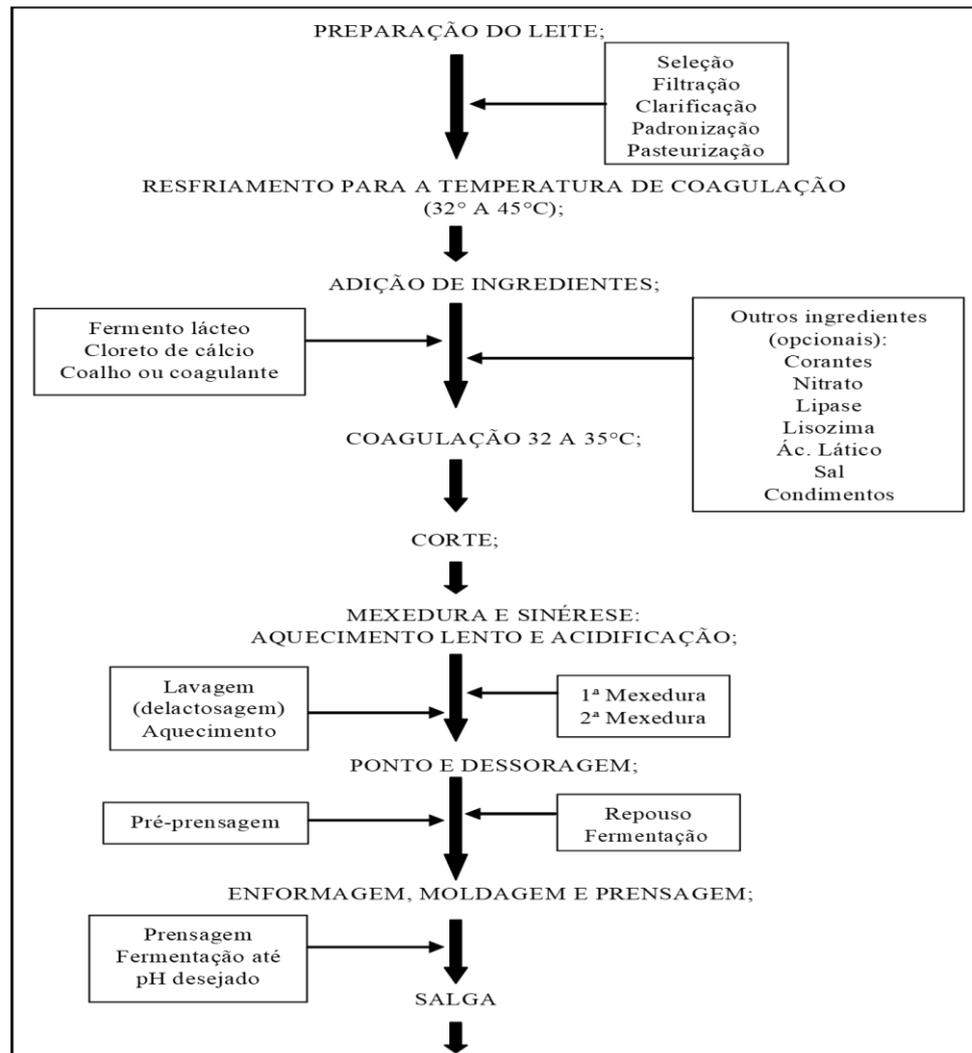


Figura 4 - Representação esquemática da produção de queijo Minas  
Fonte: adaptado de FOX *et al.*, 2000.

No processo industrial o primeiro passo, segundo Kozechen *et al.*, (2014), é a preparação, cuja finalidade é buscar um leite selecionado, que será filtrado e clarificado. A padronização é responsável por classificar o teor de gordura presente no leite. Esse procedimento é de suma importância, pois implica na qualidade do produto. Logo após a padronização, o leite deve seguir para a pasteurização a uma temperatura de 65 °C, dentro de um período de trinta minutos e em seguida deve ser resfriado em um trocador de calor até 45°C (Kozechen *et al.*, 2014). Outro processo também utilizado para pasteurização de grandes volumes de leite, em que se faz o uso do processo rápido realizado por placas, que aquecem o produto até 75°C em uma escala de 12 a 15 minutos e imediatamente o resfria até 34°C (Kozechen *et al.*, 2014). Assim que o leite, em estado de resfriamento, chegar a uma temperatura de 34°C, o leite passará pela etapa de coagulação, adicionando os ingredientes apresentados na Figura 4.

O produto obtido após o período de coalho possui característica gelatinosa e um tanto pouco estável, mas apresenta sinérese (saída do soro) quando é cortada ou quebrada (Paula; Carvalho; Furtado, 2013). Quando efetuado o controle de forma correta da sinérese, pode-se observar a presença de

umidade na massa do queijo, assim como também o grau e a extensão de sua maturação para a estabilidade do queijo, pois quanto maior for a umidade, mais rápida será a sua maturação, porém, menor será a sua estabilidade (Paula; Carvalho; Furtado, 2013).

Para manter elevada concentração de umidade durante a sua elaboração, a coalhada é cortada em cubos grandes, o que provoca com pouca separação do soro. Desse modo, a vida de prateleira do produto limita-se por volta de 15 dias sob temperatura de refrigeração (Furtado, 2005).

Durante a produção do queijo a acidificação tem papel fundamental que exercem a função de controlar e prevenir o crescimento de bactérias deterioradoras e patogênicas; afeta diretamente a retenção e a atividade do coagulante; e solubiliza fosfato de cálcio, alterando a aparência e a textura do queijo. A enformagem – prensagem e a salga exercem a atividade da separação do soro e a desidratação da massa em um processo de maturação, ao final o queijo pode ser refrigerado (Paula; Carvalho; Furtado, 2013).

## 2.5 Produção, benefícios e uso do Kefir

O Kefir é um produto obtido a partir de um leite fermentado, ácido e levemente alcoólico. O Kefir é produzido artesanalmente a partir de grãos *Lactobacillus Kefiri*, espécies do gênero *Leuconostoc*, *Lactococcus* e *Acetobacter* com produção de ácido lático, etanol e dióxido de carbono, que contêm uma população relativamente estável e possui propriedades probióticas (Brasil, 2007).

O processo fermentativo do Kefir gera uma série de compostos que conferem sabor e aromas únicos, ao decorrer de seu processo fermentativo, além de substâncias bioativas, responsáveis por propriedades nutracêuticas (Ahmed *et al.*, 2013, *apud* Brasil, 2007).

O Kefir tem efeitos hipocolesterolêmicos, visto que proporciona modulação da microbiota da flora intestinal que melhora o sistema imunológico (imunomodulação), efeito antimicrobiano, reduzindo o risco de câncer, controle da disenteria, auxilia no controle glicêmico em diabéticos tipo II e atua como antialérgico (Sottoriva, *et al.*, 2018 *apud* Bourrie; Willing; Cotter, 2016).

A popularidade de Kefir tem sido associada a vários benefícios à saúde, conseqüentemente, o interesse pela procura desse probiótico aumentou consideravelmente nos últimos anos, criando mais demanda por esse produto. Uecker (2018) descreve que alimentos probióticos são considerados como microrganismos vivos, que quando administrados em proporções adequadas, auxiliam de forma benéfica os seus hospedeiros. Vários esforços de pesquisa foram feitos para melhorar a bebida tradicional de Kefir ou desenvolver uma gama de produtos de valor agregado, incorporando novas tecnologias na aplicação de culturas de Kefir em diversos alimentos (Awaisheh *et al.*, 2016).

O Kefir se torna uma grande estratégia nutricional em comunidades de baixa renda, pois por meio dele é possível levar alimentos com propriedade funcional à população que não consegue adquirir produtos dessa linha em supermercados, por possuir um baixo custo no mercado para sua obtenção e produção (Araya *et al.*, 2006; Guarner; Schaafsma, 1998; Vasiljevic; Shah, 2008).

Contudo, há poucos estudos sobre a aplicação de Kefir no queijo Minas Colonial e isso desperta interesse biotecnológico devido aos potenciais efeitos que podem influenciar nos parâmetros da qualidade do produto, buscando um alimento saudável, que traga segurança e bom preço de comercialização (Sottoriva, *et al.*, 2018).

A aplicação do Kefir de leite como agente láctico na produção do queijo Minas Colonial apresenta qualidades efetivas e promissoras perante a biotecnologia, trazendo benefícios à sociedade.

## 3. MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1 Preparação da cultura de Kefir

Os grãos de Kefir foram adicionados ao leite UHT integral e mantidos a temperatura de 25°C dentro de uma estufa por 24 horas. Após a fermentação, os grãos foram retirados do fermentado e utilizados para novas fermentações e o leite fermentado foi empregado como cultura na fabricação

dos queijos conforme os seguintes tratamentos: T<sub>1</sub> - adição de 1,0 % de Kefir; T<sub>2</sub> - adição de 3,0 % de Kefir e T<sub>3</sub> adição de 5,0 % de Kefir.

### 3.2 Fabricação dos queijos Minas Colonial

Para a produção dos queijos foram adicionados a 6 L de leite pasteurizado comercial com 3% de gordura, 0,5 mL de coalho líquido e 1,0; 3,0 ou 5,0% de leite fermentado com Kefir, de acordo com os tratamentos descritos no item 3.1. Após a coagulação, corte e mexedura da massa por 30 minutos foi realizada a dessoragem e enformagem da massa e adicionado 1% de sal comercial e deixados para fermentar em temperatura ambiente por 24h para que ocorresse a dessoragem e fermentação da massa.

Após esse período, os queijos foram desenformados, pesados e mantidos em temperatura de refrigeração (8° C em Geladeira) até o momento das análises.

### 3.3 Análises físico-químicas

Nas amostras de leite e soro foram determinados os teores de proteínas, gordura, extrato seco total, cinzas, acidez titulável, pH e carboidratos por diferença de 100%. Nas amostras de queijo foram determinados os valores de proteína, extrato seco total e gordura. Já os valores de acidez titulável e pH foram determinados após 1, 7 e 14 dias de armazenamento sob refrigeração (Adolfo Lutz, 2008).

O teor de gordura nos sólidos totais foi obtido calculando a porcentagem, considerando os teores de gordura e os sólidos totais obtidos nos queijos.

O rendimento do processamento do queijo foi calculado pela razão entre a massa de queijo obtida pelo volume de leite utilizado no processamento e expresso em kg/L.

### 3.4 Determinação dos rendimentos das fabricações

Os rendimentos das fabricações foram realizados considerando o volume de leite empregado nas fabricações acrescido do volume de leite fermentado por Kefir, dividido pela massa de queijo obtida.

O rendimento foi expresso em volume de leite empregado por kg de queijo obtido (L/kg).

A estrutura da fórmula pode ser verificada abaixo, conforme a Equação (1).

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{Massa } M(g)}{\text{Volume } V(mL)} \times 100 \quad (1)$$

### 3.5 Determinação dos índices de maturação

O nitrogênio total, nitrogênio solúvel em pH 4,6 e nitrogênio solúvel em TCA 12% foram determinados pelo método Kjeldhal, segundo a técnica descrita pela International Dairy Federation 20b (Idf-fil, 1982).

A extensão de maturação (EM) foi calculada indiretamente por meio da razão entre a porcentagem de nitrogênio solúvel em pH 4,6 (NS pH 4,6) e nitrogênio total (NT), multiplicando-se o resultado por 100 (Wolfschoon-Pombo, 1983).

A fórmula pode ser verificada abaixo, conforme a Equação (2).

$$\text{Índice de extensão} = \frac{\text{Nitrogênio Solúvel (NS pH4,6)}}{\text{Nitrogênio total (NT)}} \times 100 \quad (2)$$

A profundidade de maturação (PM) também foi quantificada indiretamente, por meio da razão entre a percentagem de nitrogênio solúvel em TCA 12% (NSTCA 12%) e nitrogênio total (NT), multiplicando-se o resultado por 100 (Wolfschoon-Pombo, 1982).

A estrutura da fórmula pode ser verificada abaixo, “Equação (3)”.

$$\text{Índice de Profundidade} = \frac{\text{nitrogênio não protéico (NSTCA 12\%)}}{\text{Nitrogênio total (NT)}} \times 100 \quad (3)$$

### 3.6 Determinação das cifras de transição de proteína, sólidos totais e gordura

As cifras de transição de elementos do leite para o queijo (gordura, sólidos totais e proteínas) foram obtidas considerando-se as perdas de constituintes no soro (Furtado; Wolfschoon-Pombo, 1977).

### 3.7 Delineamento estatístico

A caracterização das amostras foi expressa por média  $\pm$  desvio padrão e o teste Lilliefors foi utilizado para comparar as diferenças estatisticamente significativas da normalidade entre as médias das amostras, com nível de significância de 5%. Os resultados foram submetidos mediante análise de variância (Anova: um critério). Soma-se a isso quando diferenças significativas foram observadas empregou-se o teste de Tukey, usando o software BioEstat versão 5.3 (Ayres *et al.*, 2007).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Antes de apresentar os dados obtidos é preciso compreender quais foram os parâmetros empregados sobre as análises apresentadas. No delineamento estatístico inicialmente aplica o teste de Lilliefors, que testa a normalidade a partir das médias e desvios padrões fornecidos, considerando se as amostras seguem ou não a distribuição normal. Caso os dados não sigam essa distribuição não será possível aplicar o teste de análise de variância.

Após identificado que as amostras seguem a distribuição normal, aplica-se o teste de Tukey que verifica o intervalo de confiança de 95%, ou seja, serão analisados somente 5% ( $p \leq 0,05$ ), sendo utilizado como ponto de corte para o nível de significância aplicado sobre o tratamento das amostras expressas pelos caracteres \*T<sub>1</sub>, \*T<sub>2</sub> e \*T<sub>3</sub>. Se o valor-p for maior que 0,05, não é possível concluir que existe uma diferença significativa confirmada para a alteração das características físico-químicas das amostras analisadas.

A Tabela 1 apresenta os valores da composição centesimal das amostras de leite empregadas neste trabalho, bem como que não houve diferenças significativas entre os tratamentos para todos os compostos analisados e calculados. Melo *et al.*, (2018) fabricaram queijo tipo Quark com leite bovino e esses autores encontraram valores de 12,16% de EST; 12,51% de proteínas; 3,70% de gordura, 0,43% de cinzas e 5,54% de carboidratos, de maneira geral os valores foram próximos aos encontrados no presente trabalho. Silva *et al.*, (2020) encontraram para o leite a seguinte composição: 3,80 g/100g de gordura; 2,60 g/100g proteína; relação proteína/gordura 0,68, e acidez de 0,16 esses dados são próximos aos encontrados neste trabalho.

É necessário destacar que os leites adquiridos para a produção dos queijos deste trabalho sempre pertenceram à mesma marca comercial do mesmo fabricante. De acordo com Legislação brasileira BRASIL (2006) o leite empregado é classificado como leite integral pasteurizado por possuir mais de 3,0 % de gordura e apresentar valores entre 0,14 a 0,18% de ácido láctico (Tabela 4) e um mínimo de 8,4% de sólidos não gordurosos (SNG). Portanto, os valores encontrados para o leite utilizado seguem legislação vigente no Brasil.

A gordura encontrada no leite é considerada como um componente cujas propriedades sofrem variação naturalmente, sendo influenciada pela estação do ano, alimentação animal, estágio de lactação e raça dos animais (Vale; Rodrigues; Martins, 2018).

**Tabela 1– Composição centesimal do leite**

Composição do Leite (g/100g)	Tratamentos		
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>
Extrato seco total (EST)	11,67±0,196 a	11,17±0,978 a	12,26±0,265 a
Proteínas totais (N x 6,38)	3,12±0,055 a	3,17±0,001 a	3,30±0,059 a
Gordura	3,16±0,057 a	3,10±0,100 a	3,06±0,115 a
Sólidos não gordurosos (SNG)	8,51	8,07	9,20
Relação proteína-gordura	0,987	1,022	1,078
Cinzas	0,77±0,072 a	0,56±0,170 a	0,70±0,147 a
Carboidratos (por diferença de 100%)	4,65 %	4,90%	5,90%

T<sub>1</sub> = adição de 1% de leite fermentado com Kefir; T<sub>2</sub> = adição de 3% de leite fermentado com Kefir e T<sub>3</sub> = adição de 5% de leite fermentado com Kefir. Médias seguidas da mesma letra minúscula na mesma coluna e seguidas da mesma letra Maiúscula na mesma linha não diferem significativamente entre si (p<=0,05).

A Tabela 2 apresenta os valores da composição centesimal das amostras do soro obtidas na fabricação dos queijos Minas Colonial realizado neste trabalho, não houve diferenças significativas entre os tratamentos para todos os compostos analisados e calculados.

Os valores encontrados para a composição centesimal do soro do queijo Minas estão dentro dos padrões estabelecidos pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Soro de Leite para este tipo de queijo (Brasil, 2013).

**Tabela 2 – Composição centesimal do soro**

Composição (g/100g)	Tratamentos		
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>
Extrato seco total	5,94±0,128a	6,30±0,154 <sup>a</sup>	5,86±0,550 <sup>a</sup>
Proteínas total do leite (N x 6,38)	1,34	1,33	1,53
Gordura	0,34±0,222a	0,39±0,173a	0,44±0,104 <sup>a</sup>
Cinzas	0,66±0,165a	0,558±0,0068a	0,74±0,116 <sup>a</sup>
Carboidratos (por diferença de 100%)	3,60	4,02	3,14

T<sub>1</sub> = adição de 1% de leite fermentado com Kefir; T<sub>2</sub> = adição de 3% de leite fermentado com Kefir e T<sub>3</sub> = adição de 5% de leite fermentado com Kefir. Médias seguidas da mesma letra minúscula na mesma coluna e seguidas da mesma letra Maiúscula na mesma linha não diferem significativamente entre si (p<=0,05).

Em análise descritiva sobre os dados da composição do soro pode-se observar que T<sub>2</sub> apresentou valores superiores a T<sub>3</sub> para as análises de extrato seco total e carboidratos. O esperado era que ao realizar as análises, a obtenção dos dados seguisse uma linha contínua de crescimento, levando em consideração que a acidez influencia 95% das alterações das características das amostras do queijo fabricado. Assim, uma vez administrado o aumento das concentrações de Kefir o crescimento deve ser contínuo, pois o procedimento fermentativo tende a aumentar. As condições que podem ter influenciado na obtenção dos dados em que tem-se T<sub>2</sub> superior a T<sub>3</sub> pode ser devido a fatores como padronização, temperatura e acondicionamento adequado ao armazená-los para as demais análises, a acidez não influenciou na obtenção dos dados.

Na Tabela 3 estão apresentados os valores da composição centesimal das amostras da fabricação dos queijos Minas Colonial, realizados neste trabalho. Percebe-se que houve diferenças significativas entre os tratamentos para todos os compostos analisados e calculados. Os queijos apresentaram uma

porcentagem média de 47,40 % de gordura no extrato seco. Na legislação em vigor (Brasil, 1996), o queijo de Minas Colonial é classificado como semigordo – conteúdo de gordura no extrato seco está entre 25 % e 44,9 %. O alto índice de gordura se deu por não haver uma padronização para a manipulação do queijo Minas Colonial com adição de Kefir.

As diferenças observadas do teor de gordura do leite resultam nas variações dos carboidratos, proteínas e cinzas. Yuhara *et al.*, (2014, produziram um queijo Quark, fazendo uso dos probióticos *L. acidophilus*, porém usaram leite desnatado na fabricação. Logo, o teor de gordura nos queijos foi muito menor em comparação com o presente trabalho.

O teor médio de cinzas do queijo encontrado neste trabalho foi de 2,11%, Buriti (2005), encontrou um teor de cinzas de 2,25%, dados próximos do valor encontrado no presente estudo.

Houve uma pequena variação no teor de gordura entre os produtos de T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub>, pelo pressuposto dos dados paramétricos ( $p \leq 0,05$ ). Foi aplicado o teste de Tukey executando as comparações das médias no software gratuito BioStats versão 5.3, atestando que houve variações do produto durante o acompanhamento da evolução entre o período de 1, 7 e 14 dias.

Buriti (2005) encontrou valores de acidez na fabricação de queijo fresco cremoso simbiótico semelhantes às análises elaboradas neste trabalho, correspondendo a Gordura ES (%)  $28,70 \pm 16,13$ ;  $21,28 \pm 11,60$ ;  $27,66 \pm 9,590$ . e Cinzas ES (%)  $6,82 \pm 1,51$ ;  $5,39 \pm 0,84$ ;  $6,76 \pm 1,36$ .

A porcentagem média de proteína encontrada no queijo variou de 13,48 a 16,85% não apresentando diferença estatística do 1º ao 14º dia. Sangaletti (2009) encontrou 21,29 e 28,10% de proteína em queijo Minas Colonial, respectivamente. Essa diferença aproximada de 11% de proteína entre o autor citado em observação ao este trabalho pode ser devido a não padronização do produto, à qualidade da matéria-prima ou pelo teor de umidade.

**Tabela 3 – Composição centesimal do queijo Minas Colonial com adição de Kefir**

Composição (g/100g)	Tratamentos		
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>
Extrato seco total	42,58±0,563a	41,62±0,622a	42,82±0,673 <sup>a</sup>
Proteína total (N x 6,38)	13,48 ± 0,285a	14,85± 0,482b	16,85±0,374 c
Gordura	19,55±0,827 a	20,25±0,75 a	20,41±1,02 a
Gordura no extrato seco (GES)	45,91	48,65	47,66
Cinzas	1,95±0,163a	2,03±0,0495a	2,10±0,138 <sup>a</sup>
Carboidratos (por diferença de 100%)	7,60	4,49	3,46
Transição do EST (%)	52,68	59,23	54,56
Rendimento (L/kg)	6,70	6,22	6,20

T<sub>1</sub> = adição de 1% de leite fermentado com Kefir; T<sub>2</sub> = adição de 3% de leite fermentado com Kefir e T<sub>3</sub> = adição de 5% de leite fermentado com Kefir. Médias seguidas da mesma letra minúscula na mesma coluna e seguidas da mesma letra Maiúscula na mesma linha não diferem significativamente entre si ( $p < 0,05$ ).

A Tabela 4 apresenta os resultados experimentais da acidez e pH relacionados à produção dos queijos Minas Colonial, realizados neste trabalho. Neste caso houve diferenças significativas entre os tratamentos para todos os compostos analisados e calculados.

Durante o período em que a amostra foi produzida até o ponto de armazenamento e refrigeração notou-se que o pH se manteve entre uma escala tendenciosa, oscilando entre 5,2 a 5,5. Houve uma pequena variação na acidez entre os produtos com adição de concentrações de Kefir para T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub>.

Pelo pressuposto dos dados paramétricos ( $p \leq 0,05$ ), foi aplicado o teste de Tukey executando as comparações das médias no software gratuito BioStats versão 5.3, atestando que houve variações durante o acompanhamento da evolução do pH e da acidez titulável.

Acrescenta-se ainda que pelos dados estatísticos analisados pode-se afirmar que durante os 14 dias em armazenamento e refrigeração houve um aumento significativo de acidez para T<sub>1</sub>, apresentando resultados com  $p < 0,01\%$ . As médias da acidez do queijo para T<sub>2</sub> mostraram variações

diferentes, apresentando um aumento na acidez em relação ao 1° ao 3° dia e uma diminuição em relação do 2° para o 3° dia, obtendo variação menor que o desenvolvimento do 1° ao 2° dia. Com base nos dados estatísticos analisados pode-se afirmar que durante os 14 dias em armazenamento e refrigeração houve um aumento significativo de acidez para T<sub>2</sub>, apresentando resultados com  $p < 0.01\%$ .

As médias da acidez do queijo para T<sub>2</sub> mostraram variações diferentes, apresentando um aumento na acidez em relação ao 1° ao 3° dia e uma diminuição em relação do 2° para o 3° dia apresentando variação menor que o desenvolvimento do 1° ao 2° dia. Pelos dados estatísticos analisados pode-se afirmar que durante os 14 dias em armazenamento e refrigeração houve um aumento significativo de acidez para T<sub>2</sub>, apresentando resultados com  $p < 0.01\%$ .

Independentemente da quantidade [concentrações] de Kefir adicionados no queijo ele continua produzindo acidez (ácido láctico), mesmo o período de refrigeração e armazenamento de até 14 dias, ou seja, quanto maior a concentração de % de Kefir administrada nas amostras, maiores serão os índices da acidez do queijo. A quantidade de ácido láctico produzido é proporcional à quantidade de bactérias, ou seja, quanto maior for a quantidade de Kefir administrada maior será a acidez da amostra analisada.

De acordo com Casagrande e Wolfschoonpombo (1983), à medida que o queijo se torna menos ácido, há tendência de retenção de umidade, tratando-se basicamente de uma desmineralização proteica. Paula, Carvalho e Furtado (2009) *apud* Fox, P. F.; McSweeney, P. L. H (1998), consideram que valores de pH iguais a 5,8 favorecem a solubilização do cálcio coloidal, que passa a alterar o balanço dos componentes da rede proteica.

Buriti (2005) encontrou valores de acidez na fabricação de queijo fresco cremoso simbiótico muito próximos ao deste trabalho, correspondendo às porcentagens médias de acidez de 1,12 e pH de 4,92 para processamento de 1 a 14 dias para T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> porcentagens médias de acidez de 1 e pH de 5,74 e T<sub>3</sub> porcentagens médias de acidez de 1,10 e pH de 4,90.

**Tabela 4 - Acidez e pH do queijo Minas Colonial com adição de 1, 3 e 5% de Kefir em um período de refrigeração de até 14 dias.**

Dias de armazenamento a 8°C	T <sub>1</sub> Adição de 1% Kefir		T <sub>2</sub> Adição 3% de Kefir		T <sub>3</sub> Adição 5% de Kefir	
	Acidez	pH	acidez	pH	Acidez	pH
1° dia	0,389 ±0,039 a,A	5,5	0,90 ±0,018 a, B	5,1	0,719 ±0,012 a, C	5,3
7° dias	0,862 ±0,018 b,A	5,4	1,282 ±0,018 b,B	5,1	0,903 ±0,023 b, B	5,3
14° dias	1,038 ±0,012 c,A	5,3	1,436 ±0,023 c,B	5,1	1,072 ±0,017 c, B	5,3

T<sub>1</sub> = adição de 1% de leite fermentado com Kefir; T<sub>2</sub> = adição de 3% de leite fermentado com Kefir e T<sub>3</sub> = adição de 5% de leite fermentado com Kefir. Médias seguidas da mesma letra minúscula na mesma coluna e seguidas da mesma letra Maiúscula na mesma linha não diferem significativamente entre si ( $p < 0,05$ ).

Em análise descritiva sobre os dados do queijo Minas Colonial com adição de 1, 3 e 5% de Kefir em um período de refrigeração de até 14 dias, pode-se observar que T<sub>2</sub> apresentou valores superiores a T<sub>1</sub> e a T<sub>3</sub> para as análises de acidez. O esperado era que ao realizar as análises a obtenção dos dados seguisse uma linha contínua de crescimento, levando em consideração que a acidez influencia 95% das alterações das características das amostras do queijo, uma vez administrado o aumento das concentrações de Kefir o crescimento deve ser contínuo, pois o procedimento fermentativo tende a aumentar. As condições que podem ter influenciado na obtenção dos dados em que se tem T<sub>2</sub> sendo superior a T<sub>1</sub> e T<sub>3</sub> pode ser devido a fatores como padronização, temperatura e acondicionamento adequado ao armazená-los. Para as demais análises a acidez não influenciou na obtenção dos dados.

Essa variação nos valores de pH pode ter ocorrido devido à degradação proteica proveniente da atividade de enzimas coagulantes, enzimas naturalmente presentes no leite (plasmina), enzimas de bactérias lácticas não starters (NSLAB) ou enzimas de bactérias lácticas presentes no soro fermentado. Essa atividade resulta na formação de compostos nitrogenados alcalinos, contribuindo para o aumento de pH (Vale; Rodrigues; Martins, 2018).

Balbinot (2019) ressalta que a acidez titulável em produtos lácteos determina a quantidade de ácido lático presente no produto relacionando a disponibilidade da lactose e demais carboidratos. Isso ocorre devido a processos bioquímicos que acontecem durante a maturação, convertendo os carboidratos do queijo em ácido lático, conseqüentemente aumentando a acidez e reduzindo o pH em seu meio.

A Tabela 5 apresenta os resultados experimentais do índice de maturação relacionados à produção dos queijos Minas Colonial, realizados neste trabalho. Houve diferenças significativas entre os tratamentos para todos os compostos analisados e calculados. Os dados se mostraram iguais sem variações, comparando o índice de maturação para as amostras de T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub> entre o período de refrigeração de 1 a 14 dias.

Comparando as amostras de T<sub>3</sub> entre o período do 1º dia e do 7º dia e entre o período do 7º ao 14º dia as amostras se mostraram como sendo não significativas, ou seja, todas as colunas de acidez analisadas seguem a distribuição normal, não havendo diferenças.

As médias do índice de maturação de T<sub>3</sub> mostraram variações significativas, apresentando um aumento em relação ao 1º e ao 14º dia.

A partir dos dados estatísticos analisados pode-se afirmar que durante os 14 dias em armazenamento e refrigeração houve um aumento significativo do índice de maturação de T<sub>3</sub>, apresentando resultados com  $p \leq 0,05\%$ . Os dados se mostraram iguais sem variações comparando o índice de maturação para as amostras com adição de concentrações para T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub> entre o período de refrigeração de 1 a 14 dias.

**Tabela 5 – índice de maturação do queijo Minas Colonial com adição de 1, 3 e 5% de Kefir em um período de refrigeração de até 14 dias.**

Dias de armazenamento a 8°C	Índice de maturação (%)		
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>
1º dia	10,87±0 a, A	8,30±2,87 a,B	8,68±0 b,C
7º dias	10,87±0 b, A	8,30±2,87 b,B	11,58±5,01 c,C
14º dias	16,31±9,42 c, A	16,59±5,75 c,B	17,36±0 a,C

T<sub>1</sub> = adição de 1% de leite fermentado com Kefir; T<sub>2</sub> = adição de 3% de leite fermentado com Kefir e T<sub>3</sub> = adição de 5% de leite fermentado com Kefir. Médias seguidas da mesma letra minúscula na mesma coluna e seguidas da mesma letra Maiúscula na mesma linha não diferem significativamente entre si ( $p <= 0,05$ ).

Ao longo da maturação, a acidez não influenciou no índice da maturação dos queijos, uma vez que não foram observadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as amostras durante a maturação.

A Tabela 6 apresenta os resultados experimentais da extensão de maturação relacionados à produção dos queijos Minas Colonial realizados neste trabalho. Houve diferenças significativas entre os tratamentos para todos os compostos analisados e calculados. Comparando a extensão de maturação das amostras de T<sub>1</sub> entre o período do 7º ao 14º dia, as amostras se mostraram como não significativas, ou seja, todas as colunas de acidez analisadas seguem a distribuição normal, pois os dados em análise de variância apresentaram valores superiores a 5%, ou seja,  $p > 0,05\%$

As médias da extensão de maturação do queijo de T<sub>1</sub> mostraram variações significativas, apresentando um aumento em relação aos períodos do 1º e 7º dia e do 1º e 14º dia. Com base nos dados estatísticos analisados, pode-se afirmar que durante os 14 dias em armazenamento e refrigeração houve um aumento significativo para a extensão da maturação com a adição de 1% de Kefir, apresentando resultados com  $p < 0,05$ .

Comparando a extensão de maturação na análise de variância para T<sub>2</sub> entre o período do 7º ao 14º dia, as amostras se mostraram como sendo não significativas, ou seja, todas as colunas da extensão de maturação analisadas seguem a distribuição normal, visto que não houve diferenças, pois os dados apresentaram valores superiores a 0.05%, ou seja,  $p > 0,05\%$ .

As médias da extensão de maturação para T<sub>2</sub> mostraram variações significativas, apresentando um aumento em relação dos períodos entre 1º e 7º dia e do 1º e 14º dia.

Pelos dados estatísticos analisados pode-se afirmar que durante os 14 dias em armazenamento e refrigeração houve um aumento significativo da extensão de maturação para T<sub>1</sub>, apresentando resultados com  $p < 0.01\%$ .

Os dados se mostraram iguais sem variações comparando a extensão de maturação para as amostras de T<sub>3</sub> entre o período de refrigeração de 1 a 14 dias. E os dados para T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub> se mostraram iguais sem variações, comparando a extensão de maturação para o período de refrigeração de 1 dia.

Saboya *et al.* (1998) encontraram valores próximos ao presente trabalho analisando a vida útil do queijo Minas Frescal observaram a evolução do índice de extensão de 7,59 a 13,03% num período de 21 dias.

**Tabela 6 – Extensão da maturação do queijo Minas Colonial com adição de 1, 3 e 5 % de Kefir em um período de refrigeração de até 14 dias.**

Dias de armazenamento a 8°C	Extensão de Maturação		
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>
1° dia	0±0 a,A	0±0 b,A	8,68±0 c,A
7° dias	9,06±3,14 b,A	8,30±2,87 c,A	11,58±5,01 a,A
14° dias	9,06±3,14 c,A	9,96±0 a,A	11,58±5,01 b,A

T<sub>1</sub> = adição de 1% de leite fermentado com Kefir; T<sub>2</sub> = adição de 3% de leite fermentado com Kefir e T<sub>3</sub> = adição de 5% de leite fermentado com Kefir. Médias seguidas da mesma letra minúscula na mesma coluna e seguidas da mesma letra Maiúscula na mesma linha não diferem significativamente entre si ( $p < 0,05$ ).

Ao longo da maturação, a acidez não influenciou na extensão da maturação dos queijos, uma vez que não foram observadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as amostras durante a maturação.

### 3. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados encontrados neste trabalho foi possível desenvolver queijos Minas Colonial com a adição de Kefir como cultura starter. Com os dados obtidos a partir do tratamento do queijo Minas Colonial com a adição de concentrações de 1, 3 e 5% de Kefir de leite foi possível verificar e constatar que as análises mostraram dados favoráveis com um potencial probiótico correspondente aos dados paramétricos ( $p < 0,05$ ) realizados no delineamento estatístico. Houve variações significativas na composição e características físico-químicas do queijo Minas Colonial durante a fabricação e seu armazenamento em temperatura de refrigeração em período de 1, 7 a 14 dias. Nas amostras de queijo Minas Colonial analisadas, observou-se que independentemente da quantidade de concentrações de Kefir administradas, o leite fermentado *Lactobacillus Kefiri* continuará atuando mesmo em temperatura de refrigeração. A principal característica que evidencia e fundamenta a análise deste trabalho é o aumento da acidez, e em paralelo o valor da acidez apresenta como sendo proporcional às concentrações do inóculo administrado durante o período de fabricação das amostras de queijo Minas Colonial. A fabricação de queijos utilizando o Kefir como cultura starter tem potencial de emprego na fabricação industrial deste tipo de queijo.

#### 4. REFERÊNCIAS

ADLER-NISSEN, J. **Enzymic hydrolysis of food protein**. London: Elsevier Applied Science Publishers, 1985.

AHMED, Z., *et al.* 2013. Kefir and health: a contemporary perspective. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. 53, 422-434.

ARAYA, M. *et al.* Probiotics in food: Health and nutritional properties and guidelines for evaluation. Report of a joint FAO/WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. **FAO Food and Nutrition paper**. 85. Rome: FAO/WHO, 2006. 56 p. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-a0512e.pdf>. Acesso em: 01 mai. 2022.

AWAISHEH, S. S. *et al.* Development of a novel white soft cheese using Kefir starter cultures: Microbiological, physicochemical and sensory properties. **Milk Science International**, v. 69, p. 18-22, 2016.

AYRES, M. *et al.* BioEstat 5.0 - Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Belém: **Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá**, 2007, p.364.

BALBINOT, Aline. **Desenvolvimento e avaliação das características físicas e químicas de queijo colonial isento de lactose**. Orientador: Stephanie Silva Pinto. 2019. 42 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Tecnologia em Alimentos) - IFSC, São Miguel do Oeste, 2019. Disponível em: [https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&src=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwj2qPgso b7AhVKqpUCHQguDbkQFnoECAgQAQ&url=http%3A%2F%2Ftecnologiaemalimentos.smo.ifsc.edu.br%2Fwp-content%2Fuploads%2F2020%2F03%2FTCC\\_Aline-Balbinot.pdf&usq=AOvVaw1AGwFOrgD3Aw4LH0UVzOf0](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&src=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwj2qPgso b7AhVKqpUCHQguDbkQFnoECAgQAQ&url=http%3A%2F%2Ftecnologiaemalimentos.smo.ifsc.edu.br%2Fwp-content%2Fuploads%2F2020%2F03%2FTCC_Aline-Balbinot.pdf&usq=AOvVaw1AGwFOrgD3Aw4LH0UVzOf0). Acesso em: 29 out. 2022.

BOURRIE, B. C. T.; WILLING, B. P.; COTTER, P. D. The microbiota and health promoting characteristics of the fermented beverage Kefir. *Frontiers in Microbiology*, Lausanne, v. 7, 2016. Disponível em: Acesso em: 18 mai. 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Resolução. **Instrução normativa nº 4, de 01 de março de 2004**. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para fixação de identidade e qualidade do queijo Minas frescal. Disponível em: <https://wp.ufpel.edu.br/inspleite/files/2020/12/IN-04-2004-MAPA.pdf>. Acesso em: 01 maio 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Resolução – instrução normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007**. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para fixação de identidade e qualidade de leites fermentados, nº 205, Seção 1, pág. 4, 2007. Disponível em: <https://www.abia.org.br/vsn/temp/z201886INMAPA462007.pdf>. Acesso em: 10 abr. 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Resolução – instrução normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007**. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para fixação de identidade e qualidade de leites fermentados, nº 205, Seção 1, pág. 4, 2007. Disponível em: <https://www.abia.org.br/vsn/temp/z201886INMAPA462007.pdf> . Acesso em: 10 abr. 2022.

BRASIL. Ministério da agricultura, do abastecimento e da reforma agrária. Portaria nº 146, de 7 de março de 1996. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 53, de 10 de abril de 2013. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Soro de Leite. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2013.

BURITI, Flávia Carolina Alonso. **Desenvolvimento de queijo fresco cremoso simbiótico**. Orientador: Profa. Dra. Susana Marta Isay Saad. 2005. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005. Disponível em: [https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9133/tde-17102005-140046/publico/Buriti2005\\_Dissertacao.PDF](https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9133/tde-17102005-140046/publico/Buriti2005_Dissertacao.PDF). Acesso em: 16 jun. 2022.

CADME, M.; KOCH, A. Biotecnologia kefir: uma revisão das aplicações e suas perspectivas futuras. **Ciência e Engenharia de Alimentos**, v. 28, n. 1 p. 1-3, set. 2021. Disponível em: <https://revistas.uta.edu.ec/erevista/index.php/aci/article/view/1042> . Acesso em: 10 abr. 2022.

DINIZ, R. O. *et al.* Atividade anti-inflamatória de quefir, um probióticos da medicina popular. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, supl., p. 19-21, 2003.

FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H. Dairy Chemistry and Biochemistry. **Published by Blackie Academic & Professional, an imprint of Thomson Science**, 2-6 Boundary Row, London SE1 8UK. First ed. 1998.

FURTADO, M. M. Brasil. **Queijos típicos de latino américa**. São Paulo: Danisco, p.77-79, 2005.

GAUCHER, I.; MOLLÉ, D.; GANGNAIRE, V.; GAUCHERON, F. Effects of storage temperature on physico-chemical characteristics of semi-skimmed UHT milk. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p. 130-143, 2008.

GUARNER, F.; SCHAAFSMA, G. J. Probiotics. **International Journal of Food Microbiology**, v. 39, n. 3, p. 237-238, 1998.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. 20B:1993: **Determination of milkproteins**. Brussels, 1982. 6p.

KOZECHEN, Ana Paula; SILVA, Vander Luiz da; OLIVEIRA, Giovana Defendi de; ULLER, Camila Maria. **Processo de fabricação do queijo minas frescal**. 2014. Dissertação (Graduando em Engenharia de Produção Agroindustrial (EPA) - VIIIEPA, Universidade Estadual do Paraná – Campus Campo Mourão (UNESPAR), 2014. Disponível em: <https://docplayer.com.br/64191620-Processo-de-fabricacao-do-queijo-minas-frescal.html#:~:text=As%20etapas%20envolvidas%20neste%20processo,embalagem%20e%20armazenamento%20do%20produto>. Acesso em: 15 jun. 2022.

KUROZAWA, L. E.; HUBINGER, M. D. Hydrophilic food compounds encapsulation by ionic gelation. **Food Science**, v.15, p. 50–55, 2017.

MARQUES, J. M. C. In: **Avaliação da qualidade microbiológica de leite pasteurizado como matéria prima e de queijo flamengo como produto final**. Porto: [s.n.], 1997. p. 15. Disponível em: < [https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/64251/5/67533\\_97-25T\\_TL\\_01\\_P.pdf](https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/64251/5/67533_97-25T_TL_01_P.pdf) >. Acesso em: 10 mai. 2022.

MELO, D. R.; SILVA, P. H. T. da; RIGOTO, R. P.; SOTTORIVA, H. M.; CINTRA, F. F.; TRENTO, J. P.; CASTRO, A. L. de; ALVES, G. Quark cheese produced with kefir and agave inulin. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, Umuarama, v. 21, n. 3, p. 87-92, jul./set. 2018.

NORNBERG, M. F. B. L.; TONDO, E. C.; BRANDELLI, A. Bactérias psicotróficas e atividade proteolítica no leite cru refrigerado. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 37, p. 157-163, 2009.

PAULA, J. C. J.; CARVALHO, A. F.; FURTADO, M. M. Princípios básicos de fabricação de queijo: do histórico à salga. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, [S.l.], v. 64, n. 367, dez. 2013. ISSN 2238-6416. Disponível em:  
<<https://rilct.emnuvens.com.br/rilct/article/view/76/82>>. Acesso em: 17 jun. 2022.

PERRY, S. P. K., Queijos: Aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, v. 27, n. 2, p. 293-300, 2004.

SABOYA, L. V. *et al.* Efeitos físico-químicos da adição de leite reconstituído na fabricação de queijo Minas frescal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 4, p.368-378, out./dez. 1998.

SANGALETTI, Naiane *et al.* Estudo da vida útil de queijo Minas. **Food Science and Technology** [online]. 2009, v. 29, n. 2 [Acessado 13 Outubro 2022] , pp. 262-269. Disponível em:  
<<https://doi.org/10.1590/S0101-20612009000200004>>. Epub 27 Jul 2009. ISSN 1678-457X.

SANTOS, F. L. *et al.* “Petit suisse” cheese from kefir: an alternative dessert with microorganisms of probiotic activity. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n. 3, p. 485-491, 2012. DOI: 10.1590/S0101- 20612012005000077.

SILVA, B. M. da; VIEIRA, L. G. de F.; BELTRAMI, J. M.; SERENINI, G. de F.; SANTOS, N. S. dos; SOARES, A. A.; ALVES, G. Physical-chemical characterization of fresh shanklish cheese with kefir and turmeric extract (*Curcuma longa* L.). **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, Umuarama, v. 23, n. 2cont., e2311, 2020.

SILVA, Fernando Teixeira. **Queijo minas frescal** – agroindústria familiar. Brasília, DF : Embrapa Informação Tecnológica, 2005.

SOTTORIVA, H. M.; MELO, D. R.; MATIAS, T. C. F.; FURIOSO, A. A.; SANTOS, L. P. dos; ALVES, G. Características e propriedades do Kefir. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, Umuarama, v. 21, n. 4, Anais do II Concivet 2018, p. 141-142, out./dez. 2018.

SOUZA, D. G., *et al.* Parâmetros físico-químicos e sensoriais de queijos frescos saborizados com pequi (*Caryocar Brasiliense* Camb.). **Global Science and Technology**, Rio Verde-GO, 2017, cap. 10, p. 105-111, 2017.

UECKER, Julia Neitzel. **Screening de bactérias ácido lácticas isoladas de leite e derivados com potencial probiótico**. 2018. 76f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018. Disponível em:  
<http://guaiaca.ufpel.edu.br:8080/handle/prefix/4095>. Acesso em: 26 set. 2022.

VALE, Rosana Campos do; RODRIGUES, Maria Paula Jensen; MARTINS, José Manoel. Influence of the type of ferment in the physicochemical characteristics of cheese Minas artesanal do Serro – Minas Gerais, matured in controlled conditions, Juiz de Fora, v. 73, 13 nov. 2018. **Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes**, p. 82-90. DOI 10.14295/2238-6416.v73i12.6086.

Disponível em:

[https://www.researchgate.net/publication/328919050\\_Influencia\\_do\\_tipo\\_de\\_fermento\\_nas\\_caracteristicas\\_fisico-quimicas\\_de\\_queijo\\_Minas\\_artesanal\\_do\\_serro\\_-\\_Minas\\_Gerais\\_maturado\\_em\\_condicoes\\_controladas](https://www.researchgate.net/publication/328919050_Influencia_do_tipo_de_fermento_nas_caracteristicas_fisico-quimicas_de_queijo_Minas_artesanal_do_serro_-_Minas_Gerais_maturado_em_condicoes_controladas). Acesso em: 29 out. 2022.

VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. Probiotics – From Metchnikoff to bioactives. **International Dairy Journal**, v. 18, n. 7, p. 714-728., 2008.

VIEIRA, ALINE ALVES MELO TOSTE. **Estudo da hidrólise enzimática do soro de queijo utilizando as lactases lactozym e prozyn**. 2006. Dissertação de Mestrado (Pós-Graduação em Engenharia Química) - Uberlândia-MG, [S. l.], 2006. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/15120/1/EstudoHidroliseEnzimatica.pdf>. Acesso em: 26 set. 2022.

WOLFSCHOON, F. A.; VARGAS, A.E. A Titulação de formol: Método rápido para determinação de proteínas no soro. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, 193,1977.

WOLFSCHOON-POMBO, A.; CASAGRANDE, M. Determinação simultânea de lactose e sacarose em doce de leite. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 37, n. 222, p. 3-7, 1982.

WOLFSCHOON-POMBO, A.F. Índice de proteólise em alguns queijos brasileiros. **Boletim do Leite**, Rio de Janeiro, n.661, p.1-8, 1983.

WSZOLEK, M. *et al.* Production of Kefir, koumiss and other related products. Fermented milks. In: TAMIME, A. (ed.). **Fermented Milks**. Oxford: Blackwell Science, 2006. cap. 8, p. 174-216, 2006.

ZANIN, Tatiana. **5 principais benefícios do queijo para a saúde**. [S. l.], 10 mar. 2022. Disponível em: <https://www.tuasaude.com/beneficios-do-queijo/>. Acesso em: 27 set. 2022.

## **PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERISTICS OF MINAS FRESCAL CHEESE EMPLOYING FERMENTED MILK WITH KEFIR AS CULTURE "STARTER"**

**Abstract.** *In the current scenario of the food market applied to biotechnology, Kefir has been little used for the development of new research related to the application of its use in cheeses, especially the "Queijo Minas Colonial". Considering this premise, the present work was carried out to fill this little analyzed field, evaluating the physical-chemical properties in order to develop foods whose functional characteristics are increasingly better, improving their quality, price and accessibility on the shelves. Thus, the great importance of research in this field stands out, seeking the applicability and technological development of a possible innovative product. The present work evaluated the effects of using milk Kefir in different concentrations as a starter culture in the physical-chemical characteristics of Colonial Minas cheese during storage up to 14 days at refrigeration temperature. The data found showed significant variations in the composition of the physical-chemical characteristics of Colonial Minas cheese during the manufacture and storage at refrigeration temperature in periods of 1, 7 to 14 days.*

**| Keywords:** *Cheese, Colonial, Kefir, Physico-Chemicals, Starter.*