

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ALEX PAULO RODRIGUES

**Desenvolvimento de formulação de produto lácteo tipo requeijão
cremoso com substituição parcial de proteína animal por proteína
vegetal**

Pirassununga

2021

ALEX PAULO RODRIGUES

Desenvolvimento de formulação de produto lácteo tipo requeijão cremoso com substituição parcial de proteína animal por proteína vegetal

Versão Corrigida

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Gestão e inovação na Indústria Animal.

Área de Concentração: Gestão e Inovação na Indústria Animal

Orientadora: Profa. Dra. Maria Teresa Alvarenga Freire.

Pirassununga

2021

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

R696d Rodrigues, Alex Paulo
Desenvolvimento de formulação de produto lácteo
tipo requeijão cremoso com substituição parcial de
proteína animal por proteína vegetal / Alex Paulo
Rodrigues ; orientadora Maria Teresa de Alvarenga
Freire. -- Pirassununga, 2021.
112 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação
em Mestrado Profissional Gestão e Inovação na
Indústria Animal) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

1. Requeijão cremoso. 2. Proteína animal. 3.
Proteína Vegetal. 4. Pulses. I. de Alvarenga Freire,
Maria Teresa, orient. II. Título.

ALEX PAULO RODRIGUES

Desenvolvimento de formulação de produto lácteo tipo requeijão cremoso com substituição parcial de proteína animal por proteína vegetal

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Gestão e Inovação na Indústria Animal.

Área de Concentração: Gestão e Inovação na Indústria Animal

Dissertação aprovada em 16 de agosto de 2021.

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Maria Teresa de Alvarenga Freire – Orientadora (USP)

Dra. Vanessa Dias Alves – UEL

Dr. Fabrício Rossi – USP

Dr. César Gonçalves de Lima – USP

Pirassununga

2021

DEDICATÓRIA

Apesar das inúmeras contribuições de diversos profissionais no meio acadêmico e industrial, dedico este trabalho inteiramente ao Prof. Dr. Rafael Resende Maldonado (em memória) pelas valiosas e incontáveis horas dedicadas ao projeto, sempre com uma presença alegre e totalmente disposto a ajudar e a encarar as dificuldades impostas no trabalho.

Na vida, ganhamos e perdemos pessoas que contribuem muito para o enriquecimento pessoal e profissional. Durante muitos anos tive o privilégio e a honra de poder estudar e ouvir os ensinamentos por este apresentado.

Foram estes momentos que tornaram possível a ideia de avançarmos e trabalharmos juntos, com o propósito de expor novas ideias gerando inovação e informação disponível para todos.

Infelizmente, Rafael nos deixou em decorrência da COVID-19 durante a etapa final do mestrado.

A conclusão deste trabalho merece profundamente os memoráveis agradecimentos por todo sábio conselho que nos concedeu.

*“Sim, do mundo nada se leva. Mas é formidável ter uma porção de coisas a que dizer
adeus”*

Millôr Fernandes

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus que me deu forças para concluir este projeto de forma satisfatória, sendo fundamental em todos os momentos desta jornada.

A minha família, principalmente a minha esposa, Paula Aparecida Mendonça Rodrigues, pela paciência, dedicação, amor, carinho, companheirismo e, sobretudo, pelas contribuições realizadas durante toda a minha trajetória acadêmica para a conclusão deste projeto. Além disso, agradeço por toda a compreensão, principalmente nos momentos em que mais precisei de apoio para concluir os desafios impostos nesta reta final do mestrado. Obrigado por todas as contribuições.

A minha orientadora, Maria Teresa de Alvarenga Freire, que com muita paciência, dedicação, atenção, tranquilidade e conhecimento, contribuiu de forma efetiva para a construção e entrega do projeto de mestrado. Agradeço imensamente pela confiança depositada ao longo desta jornada. Grato pela sua orientação preciosa.

A todos os professores e alunos da Universidade de São Paulo (USP), em especial para a Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA) que contribuíram de alguma forma para a concretização deste trabalho.

Aos meus colegas de trabalho que contribuíram de alguma forma para a conclusão deste projeto, sendo fundamentais em todos os momentos que precisei.

A todos os professores envolvidos em minha qualificação, que propuseram melhorias significativas para a conclusão deste trabalho.

A todos os membros envolvidos no Programa de Pós-Graduação de Gestão e Inovação na Indústria Animal (GIIA), que sempre nos auxiliaram de forma extremamente eficaz e com total seriedade.

Aos colegas e amigos de pós-graduação, que compartilharam dos mesmos anseios em todos os momentos durante esta caminhada.

A todos de um modo geral, que colaboraram para a realização do meu trabalho de mestrado. Minha enorme gratidão.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

“Fica provado que uma inovação não é necessária quando se torna demasiado difícil implementá-la.”

Luc de Clapiers Vauvenargues

RESUMO

RODRIGUES, A. P. **Desenvolvimento de formulação de produto lácteo tipo requeijão cremoso com substituição parcial de proteína animal por proteína vegetal.** 2021. 112 f. Projeto de Pesquisa – (Mestrado profissional em Gestão e Inovação na Indústria Animal) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2021.

O cenário atual nas indústrias de alimentos constantemente impulsiona a evolução no desenvolvimento de novos produtos por meio da tecnologia, de estratégia de negócios, de aspectos financeiros ou até mesmo por mudanças no comportamento de hábitos alimentares. As indústrias, em seus diversos segmentos, buscam oferecer ao mercado consumidor produtos saudáveis, confiáveis e inovadores. Nesta pesquisa, avaliou-se a possibilidade da inclusão de proteínas de origem vegetal como substituinte parcial de proteínas de origem animal no desenvolvimento de requeijão cremoso. O objetivo foi estabelecer uma formulação padrão a ser trabalhada nas aplicações das proteínas vegetais, bem como entender o quanto seria impactante a substituição parcial de proteína láctea por proteína vegetal no produto. As proteínas vegetais testadas foram provenientes de fava, lentilha e ervilha, comumente conhecidas como *Pulses*. Inicialmente foram realizados testes preliminares para elaboração e padronização das formulações do produto. Os resultados parciais obtidos indicaram que a aplicação de pulses no requeijão cremoso não interfere nas propriedades básicas do produto (textura, cor, brilho, espalhabilidade e cremosidade). As variações de processo influenciaram o resultado final do produto, particularmente a velocidade de agitação do sistema. Para a elaboração dos testes finais, um planejamento de mistura de ingredientes foi utilizado, a fim de avaliar as possíveis interações entre as proteínas vegetais. Os resultados finais indicaram que todos os atributos de textura permaneceram superiores em relação ao padrão (sem a proteína vegetal). A inclusão dos pulses na matriz láctea requeijão, obtiveram resultados distintos nas avaliações sensoriais, permanecendo com as características residuais de sabor de acordo com cada fonte vegetal aplicada. No entanto, propriedades como cremosidade e espalhabilidade, permaneceram com resultados mais aceitos pelos consumidores. A diversidade de novos estudos baseado na utilização de proteínas vegetais (pulses), pode contribuir com novas oportunidades de desenvolvimento, apoiando cada vez mais as novas tendências de mercado.

Palavras-chaves: Requeijão cremoso. Proteína animal. Proteína Vegetal. Pulses.

ABSTRACT

RODRIGUES, A. P. **Development of cream cheese curd formulation with partial substitution of animal protein for vegetable protein.** 2021. 112 f. Research Project - (Professional Master in Management and Innovation in the Animal Industry) - Faculty of Animal Science and Food Engineering, University of São Paulo, Pirassununga, 2021.

The current scenario in the food industries constantly drives the evolution in the development of new products through technology, business strategy, financial aspects or even changes in the behavior of eating habits. The industries, in their various segments, seek to offer the consumer market healthy, reliable and innovative products. In this research, the possibility of including vegetable proteins as a partial substitute for animal proteins in the development of cream cheese was evaluated. The objective was to establish a standard formulation to be worked on in vegetable protein applications, as well as to understand how impactful would be the partial replacement of dairy protein by vegetable protein in the product. The vegetable proteins tested came from faba bean, lentils and peas, commonly known as Pulses. Initially, it was done some preliminary trials to elaborate and standardize the product formulations. The partial results obtained indicated that the application of pulses in cream cheese does not interfere with the basic properties of the product (texture, color, brightness, spreadability and creaminess). Process variations influenced the final product result, particularly the system agitation speed. For the elaboration of the final tests, an ingredient mixture planning was used, in order to evaluate the possible interactions between the vegetable proteins. The final results showed that all texture attributes remained superior compared to the standard (without the vegetable protein). The inclusion of pulses in the cream cheese base obtained different results in the sensory evaluations, keeping the residual flavor characteristics according to each vegetable source applied. However, properties such as creaminess and spreadability remained with results more accepted by consumers. The diversity of new studies based on the use of vegetable proteins (pulses), can contribute to new development opportunities, increasingly supporting new market trends.

Keywords: Creamy cream cheese. Animal protein. Vegetable protein. Pulses.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática de uma ligação peptídica de dois aminoácidos.....	24
Figura 2 - Modelo esquemático de formação de micelas de caseína.....	27
Figura 3 - Textura de um queijo processado a partir de mudanças do pH do produto.....	29
Figura 4 - Artigos científicos sobre pulses publicados nos últimos 10 anos no campo de pesquisa em ciência dos alimentos e tecnologia.....	32
Figura 5 - Solubilidade da proteína isolada de grão de bico em função do pH.....	39
Figura 6 - Capacidade de retenção de água (mL/g) de diferentes fontes de pulses, considerando dois principais métodos de extração de proteína: Precipitação Isoelétrica (IEP) e ultrafiltração (UF).....	42
Figura 7 - Imagem das embalagens para envase do requeijão cremoso; a: pote de vidro transparente com tampa rosqueável; b: recipiente de polipropileno transparente.....	45
Figura 8 - Imagem das embalagens utilizadas para envase do requeijão cremoso para realização do teste sensorial.....	46
Figura 9 - Tacho de cozimento Geiger modelo UMMSK-12E.....	47
Figura 10 - Etapas básicas da produção de requeijão cremoso em equipamento Geiger.....	51
Figura 11 - Imagem do texturômetro Stable Micro System, modelo TA.XT <i>plus</i> C.....	61
Figura 12 - Imagem do equipamento Texturômetro durante o processo de análise de textura.....	62
Figura 13 - Exemplo de apresentação gráfica dos resultados obtidos durante o processo de análise de textura.....	63
Figura 14 - Imagem das amostras para realização de cor (L^* , a^* , b^*).....	64
Figura 15 - Kit de amostras entregue para cada participante do teste sensorial.....	67

Figura 16 - Modelo de gráfico simétrico para distribuição normal dos dados.....	70
Figura 17 - Imagem dos primeiros testes realizados de requeijão cremoso com substituição parcial de proteína láctea por proteína de fava; (a): amostra padrão A; (b): amostra teste com a indicação dos grumos visíveis no produto.....	73
Figura 18 - Imagem do requeijão cremoso produzido com o aumento da rotação mecânica no processo final de cozimento.....	74
Figura 19 - Imagem dos requeijões cremosos padrão D (a), E (b) e F (c) realizados em planta piloto sem a formação de grumos.....	76
Figura 20 - Imagem de todos os protótipos realizado com base no delineamento de mistura executado.....	79
Figura 21 - Curva de contorno para as variáveis (a) firmeza, (b) força de cisalhamento, (c) pegajosidade e (d) adesão.....	81
Figura 22 - Curva de contorno para as variáveis (a) viscosidade, (b) cor a, (c) cor b.....	85
Figura 23 - Resultados da avaliação sensorial para os testes Padrão, T1 (proteína de fava) e T4 (mistura de proteína de fava e ervilha) considerando os atributos de sabor, cremosidade na boca e espalhabilidade no biscoito.....	91
Figura 24 - Resultados dos efeitos na média para as amostras padrão (a), teste 1 (b) e teste 4 (c), considerando o efeito na média (gerado por meio das penalidades dos níveis extremos da escala) em função da porcentagem baseado na frequência dos resultados obtidos pelos consumidores.....	94
Figura 25 - Representação das amostras do produto ideal considerando dois segmentos de consumidores distintos identificados como: (a) cluster 1 (n = 45) e (b) cluster 2 (n = 18).....	96

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Composição química (%) de sementes de algumas espécies de vegetais.....	21
Tabela 2	- Composição aproximada de aminoácidos essenciais entre diferentes fontes proteicas (g/100g proteína).....	23
Tabela 3	- Composição do leite de algumas espécies de mamíferos (g/100g).....	25
Tabela 4	- Produção inspecionada de requeijão no Brasil entre 2010 e 2014.....	30
Tabela 5	- Requisitos físico químicos e aditivos permitidos na fabricação de requeijão cremoso.....	31
Tabela 6	- Projeção de produção, colheita e rendimento de pulses para os próximos anos (2050).....	34
Tabela 7	- Valores nutricionais de proteínas vegetais (porção de 100g).....	36
Tabela 8	- Valores de aminoácidos proveniente de algumas proteínas vegetais (porção de 100g).....	37
Tabela 9	- Informações dos valores físico-químicos e nutricionais dos pulses.....	48
Tabela 10	- Informação nutricional de alguns dos principais requeijões cremosos comumente disponíveis nos supermercados.....	52
Tabela 11	- Formulações de requeijão cremoso (%) utilizadas nos testes preliminares.....	53
Tabela 12	- Parâmetros de rotação (rpm) de processo para a produção de requeijão cremoso.....	54
Tabela 13	- Matriz de planejamento de mistura para avaliar a proporção de proteínas de fava, ervilha e lentilha em requeijão cremoso.....	55
Tabela 14	- Formulações de requeijão cremoso (%) utilizado no delineamento experimental.....	56
Tabela 15	- Análises físico-químicas e instrumentais dos protótipos desenvolvidos de requeijão cremoso.....	57
Tabela 16	- Parâmetros de análise para obtenção dos resultados de textura do requeijão cremoso.....	62

Tabela 17 - Avaliação de custo das fórmulas do delineamento de misturas.....	66
Tabela 18 - Escalas hedônicas usadas na avaliação das amostras de requeijão durante o teste sensorial.....	68
Tabela 19 - Resultados de pH do requeijão cremoso durante o processo de produção.....	74
Tabela 20 - Efeitos nos parâmetros de textura para avaliar a porcentagem de substituição de proteína láctea por proteínas vegetais (pulses) nos protótipos de requeijão cremoso.....	78
Tabela 21 - Efeitos nos parâmetros de cor e viscosidade para avaliar a porcentagem de substituição de proteína láctea por proteínas vegetais (Pulses) nos protótipos de requeijão cremoso.....	83
Tabela 22 - Efeitos nos parâmetros físico-químico para avaliar a porcentagem de substituição de proteína láctea por proteínas vegetais (Pulses) nos protótipos de requeijão cremoso.....	87
Tabela 23 - Perfil dos participantes do teste sensorial de consumidor para amostras de requeijão cremoso com proteínas vegetais (pulses).....	88
Tabela 24 - Perfil de compra de requeijão cremoso dos participantes.....	89
Tabela 25 - Resultados das penalidades (desvio) em relação as avaliações do JAR..	92
Tabela 26 - Avaliação do teste de variância (ANOVA) para identificação de diferenças significativas entre aos atributos de aceitação para aceitação global, aparência, cheiro, sabor e consistência.....	97
Tabela 27 - Resultados obtidos para avaliação de intensão de compra dos produtos realizada no teste sensorial.....	97

LISTA DE ABREVIATURAS

ABIQ	Associação Brasileira das Indústrias de queijo
ACP	Análise de Componentes Principais
AOAC	<i>(Official Methods of Analysis): Métodos de Análise Oficial</i>
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CAA	Capacidade de Absorção de Água
CAO	Capacidade de Absorção de Óleo
CEPH	Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
CH ₃ OH	Metanol
CHCl ₃	Clorofórmio
COP	<i>(Clean Out Place)</i>
CP	Centipoise
CRA	Capacidade de Retenção de Água
DC	<i>(Deci Chickpea):</i> proteína concentrada de grão de bico gênero Deci
EST	Extrato Seco Total
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
GES	Gordura no Extrato Seco
GL	<i>(Green lentil):</i> proteína concentrada de lentilha
HCL	Ácido Clorídrico
JAR	<i>(Just-About-Right)</i>
KC	<i>(Kabuli Chickpea):</i> proteína concentrada de grão de bico gênero Kabuli
K-S	Kolmogorov-Smirnov
L	Luminosidade
LDL	<i>Low Density Lipoproteins</i>
LPD	Leite em Pó Desnatado
MET	Metionina
MPC	<i>(Milk Protein Concentrate): Proteína Concentrada do Leite</i>
Na ₂ SO ₄	Sulfato de sódio
NaOH	Hidróxido de sódio

PEA	Proteína do Endosperma do Arroz
PFA:	Proteína de Farelo de Arroz
Phe	Fenilalanina
PIS	Proteína Isolada de Soja
PISL	Proteína Isolada de Soro de Leite
PM	Peso Molecular
PS	Pulses
RL	(<i>Red Lentil</i>): proteína concentrada de lentilha vermelha
RPM	Rotação Por Minuto
TCLE	Termo de Consentimento Livre Esclarecido
USDA	Departamento de Agricultura dos Estados Unidos
YP	(<i>Yellow pea</i>): proteína concentrada de ervilha

LISTA DE SIMBOLOS

α	Alfa
β	Beta
*a	Coordenada a
*b	Coordenada b
σ	Desvio padrão
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
k	Kappa

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	20
1.1 Objetivo geral.....	23
1.2 Objetivo específico.....	23
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	24
2.1 Proteínas.....	24
2.1.1 Proteínas de origem láctea.....	25
2.1.2 Caseínas.....	25
2.2 Transformação do leite em queijo.....	27
2.3 Queijos fundidos.....	28
2.4 Requeijão.....	29
2.5 Pulses.....	31
2.5.1 Variedades dos Pulses e principais produtores.....	33
2.5.2 Características nutricionais dos Pulses.....	35
2.5.3 Aplicações industriais de pulses	38
2.5.4 Processamento e obtenção das proteínas de pulses.....	38
2.5.4.1. Classificação aérea.....	38
2.5.4.2. Extração alcalina/precipitação isoelétrica.....	39
2.5.4.3. Extração ácida.....	40
2.5.4.4. Ultrafiltração	40
2.5.5. Características tecnológicas dos Pulses.....	40
2.5.5.1 Solubilidade dos Pulses	41
2.5.5.2. Capacidade de absorção de água e óleo.....	41
2.5.5.3. Propriedades emulsificantes.....	43
2.5.5.4. Propriedades de gelificação.....	44
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	45
3.1 Material.....	45
3.1.1 Embalagem.....	45
3.1.2 Equipamentos industriais utilizados para a produção de requeijão cremoso...	46
3.1.3 Materiais empregados para higienização de embalagens e equipamentos.....	47

3.1.4 Equipamentos utilizados para as análises físico-químicas e instrumentais.....	47
3.1.5 Ingredientes.....	48
3.2 Métodos.....	49
3.2.1 Processo de fabricação dos protótipos.....	49
3.2.2 Desenvolvimento das formulações.....	51
3.2.3 Testes Preliminares.....	52
3.2.4 Delineamento experimental final.....	55
3.2.4.1 Resultados do delineamento experimental.....	56
3.2.5 Formulações.....	56
3.2.6 Análises físico-químicas e instrumentais.....	57
3.2.6.1 pH.....	57
3.2.6.2 Umidade.....	58
3.2.6.3 Proteína.....	58
3.2.6.4 Gordura (<i>partição gravimétrica</i>).....	60
3.2.6.5 Textura.....	61
3.2.6.6 Viscosidade.....	64
3.2.6.7 Cor (L*, a*, b*).....	64
3.2.7 Análise sensorial.....	65
3.2.7.1 Escala JAR (Just-About-Right) de avaliação.....	68
3.2.7.2 Teste de Kolmogorov-Smirnov.....	69
3.2.7.3 Análise de Componentes Principais (ACP).....	71
3.2.7.4 Análise Estatística para testes de aceitação (escala hedônica de 9 pontos).	71
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	72
4.1 Testes preliminares.....	72
4.1.1 Ensaio 1.....	72
4.1.2 Ensaio 2.....	73
4.1.3 Ensaio 3.....	75
4.2.1 Análises instrumentais.....	76
4.2.1.1 Textura.....	76
4.2.1.2 Viscosidade e cor.....	82
4.2.2 Análises físico-químicas.....	86

4.2.3 Análise sensorial.....	87
4.2.3.1 Escala JAR (Just-About-Right) de avaliação.....	89
4.2.3.2 Teste de Kolmogorov-Smirnov.....	94
4.2.3.3 Análise de Componentes Principais (ACP).....	95
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	98
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	101
ANEXO A.....	110
ANEXO B.....	111

1 INTRODUÇÃO

A inclusão de proteínas vegetais em diversas aplicações na área de alimentos vem crescendo de maneira significativa, principalmente por contribuir em aspectos nutricionais, promovendo benefícios à saúde (BOYE; ZARE; PLETCH, 2009).

As indústrias têm dado especial atenção às deficiências nutricionais na alimentação, fato que infelizmente ainda afeta algumas regiões ao redor do mundo. Logo, alguns estudos ressaltam a importância da inclusão de uma alimentação rica em produtos de origem vegetal (SLOZHENKINA, 2017).

As proteínas vegetais são constituídas predominantemente por prolaminas. As prolaminas são altamente insolúveis em água e, solúveis apenas em soluções alcoólicas entre 50-80%. Outra proteína também presente apenas nos vegetais é a glutelina, que é solúvel em soluções neutras, e totalmente insolúvel em água (FANI, 2016).

Uma das principais áreas da indústria de alimentos que utiliza como matéria prima as proteínas de origem vegetal, é o segmento de cárneos. Este setor do mercado tem se tornando altamente forte na aquisição de proteínas vegetais, sobretudo para aplicação em produtos processados, por exemplo, salsichas, mortadelas, hambúrgueres, dentre outros. O aumento do uso deste ingrediente se dá principalmente pelo fato de algumas proteínas vegetais contribuírem de forma significativa em aspectos funcionais. Outras áreas como o setor de laticínios também estão explorando a inclusão de proteínas vegetais em alguns produtos (SPYCHAJ, et al., 2018).

Dentre as proteínas de origem vegetal mais utilizadas na indústria, destacam-se a proteína de soja, que nos últimos anos, têm sido muito estudada, e os resultados comprovam que seu consumo traz muitos benefícios para a saúde, como por exemplo, promovendo a redução dos níveis de colesterol. Além disso, do ponto de vista industrial, este ingrediente encontra-se mais facilmente disponível no mercado e, com um custo reduzido quando comparado com outras fontes proteicas (ZACARCHENCO, 2013).

Outras fontes de proteínas vegetais também estão disponíveis no mercado. Na Tabela 1 é possível observar as principais diferenças em relação à composição nutricional de diversos tipos de grãos. Dentre todas as espécies listadas, fica evidente que a soja apresenta o maior teor de proteína (GALLO, 2014).

Tabela 1: Composição química (%) de sementes de algumas espécies de vegetais.

Espécie	Água	Proteínas	Lipídios	Carboidratos	Fibras	Cinzas
Feijão branco	10,9	22,3	1,6	61,3	4,3	3,9
Feijão vermelho	10,4	22,5	1,5	61,9	4,2	3,7
Milho	13,8	8,9	3,9	72,2	2,0	1,2
Amendoim	5,6	26,0	47,5	18,6	2,4	2,3
Arroz (não brunido)	12,0	7,5	1,9	77,4	0,9	1,2
Centeio	11,0	12,1	1,7	73,4	2,0	1,8
Gergelim	5,4	18,6	49,1	21,6	6,3	5,3
Sorgo	11,0	11,0	3,3	73,0	1,7	17
Soja	10,0	34,1	17,7	33,5	4,9	4,7
Girassol	4,8	24,0	47,3	19,9	3,8	4,0
Trigo branco	11,5	9,4	1,8	75,4	1,9	1,7

Fonte: GALLO, 2014.

Apesar da grande influência das proteínas de soja no mercado, outras fontes de origem vegetal têm se destacado neste cenário, como as proteínas de leguminosas, conhecidas como *Pulses*, que apresentam em sua composição sistemas complexos de fibras, amidos, proteínas, entre outros componentes (ROSA-MILLAN et al, 2017).

De acordo com a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), o termo *Pulses* (PS) originalmente deriva do Latim *Puls*, que significa “sementes secas”. São ingredientes ricos em fibras e principalmente em proteínas e, além disso, apresentam baixo teor lipídico. Logo, o uso deste ingrediente proporciona relevantes benefícios nutricionais (FAO, 2016).

É importante ressaltar que todos os pulses são provenientes de leguminosas, porém, nem todas as leguminosas são consideradas pulses (SINGH, 2017).

Dentre os ingredientes que são classificados como pulses, estão incluídas todas as variedades de lentilhas, grão de bico, ervilhas e todos os tipos de feijões secos, como, por exemplo, as espécies de *kidney beans*, *lima beans*, *butter beans* e *broad beans* (FAO, 2016).

Em sua grande maioria, estes ingredientes (PS) são aplicados em sopas, saladas, condimentos e até mesmo na fabricação de *snacks*. Os PS podem ser aplicados inteiros,

moídos ou divididos. Apesar de conhecidos no mercado, sua aplicação ainda é pouco explorada na indústria de alimentos. Desta forma, abrem-se oportunidades de uso deste ingrediente em formulações de diversos produtos alimentícios, pois quando submetidos ao processo de fracionamento, é possível obter fontes consideráveis de amido, fibra e proteína concentrada (BOYE, 2009).

Além de oferecer uma excelente fonte de proteína e carboidratos, os PS também apresentam importantes vitamínicos do complexo A, B1, B3 e vitamina C. Oferecem ainda alguns minerais, tais como, ferro e potássio (NOSWORTHY, et al., 2017).

Com base em uma dieta rica em PS, é possível minimizar os riscos relacionados a alergenicidade de outros produtos de origem vegetal. Desta forma, a inclusão dos PS é uma possível opção para substituir produtos alergênicos, uma vez que são isentos de glúten em sua composição, não oferecendo riscos à saúde de indivíduos com doenças celíacas (BOYE; ZARE; PLETCH, 2009).

Segundo Pires et al. (2006), as proteínas de origem animal apresentam em sua composição um alto valor biológico, satisfazendo as necessidades básicas do homem em relação ao requerimento nutricional que envolve a capacidade de digestibilidade e principalmente pela composição de aminoácidos essenciais. Por outro lado, é importante ressaltar que as fontes de proteínas vegetais, podem obter níveis inferiores na composição de aminoácidos essenciais quando comparado com a proteínas proveniente de origem animal.

Os aminoácidos essenciais classificam-se em: treonina, valina, isoleucina, leucina, fenilalanina, lisina, histidina, metionina e triptofano. A Tabela 2 apresenta uma composição básica de aminoácidos essenciais entre algumas proteínas provenientes de diferentes fontes, como, arroz, soja e proteína animal. É possível observar que as proteínas vegetais possuem valores menores em grande parte dos aminoácidos em relação as proteínas de origem animal. A tirosina e a cisteína não são classificados como aminoácidos essenciais. Porém, são aminoácidos sintetizados a partir da fenilalanina e metionina respectivamente, podendo atuar como substitutos de alguns aminoácidos (HAN; CHEE; CHO, 2014).

Tabela 2: Composição aproximada de aminoácidos essenciais entre diferentes fontes proteicas (g/100g proteína).

Aminoácidos	PFA	PIS	PEA	Caseína	PISL
Treonina	3,68	3,67	3,46	4,30	7,52
Valina	5,53	4,16	5,12	5,88	5,57
Isoleucina	3,61	4,30	3,80	4,88	6,24
Leucina	7,69	7,84	8,15	9,73	10,9
Fenilalanina + tirosina	8,24	8,65	10,09	10,73	5,94
Lisina	4,55	6,14	3,31	8,15	9,96
Histidina	4,48	2,58	2,46	2,97	1,97
Metionina + cisteína	2,70	2,55	3,88	2,94	5,36
Triptofano	1,17	1,28	0,82	1,05	1,72

PFA: Proteína de Farelo de Arroz, PIS: Proteína Isolada de Soja, PEA: Proteína do Endosperma do Arroz, PISL: Proteína Isolada de Soro de Leite.

Fonte: HAN; CHEE; CHO, 2014.

1.1 Objetivo geral

Estudar o comportamento das proteínas de leguminosas (Pulses) no desenvolvimento de formulação de produto lácteo tipo requeijão cremoso, considerando a substituição parcial de proteína de origem láctea por proteínas de origem vegetais.

1.2 Objetivo específico

Determinar o desenvolvimento de uma formulação padrão baseado nas características nutricionais de produtos já existentes no mercado.

Avaliar as proteínas vegetais de leguminosas disponíveis para as aplicações em requeijão cremoso.

Determinar o nível de substituição de proteína de origem animal por proteína vegetal.

Determinar um planejamento de mistura com o propósito de identificar as possíveis alternativas de aplicação dos pulses, considerando o uso individual de cada proteína vegetal e, a inclusão de misturas de duas ou mais proteínas vegetais.

Identificar a viabilidade da inclusão de avaliações físico-químicas, instrumentais e sensorial do produto acabado (requeijão cremoso).

Avaliar o desempenho final das proteínas vegetais na matriz láctea requeijão e destacar os aspectos mais relevantes do desenvolvimento.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

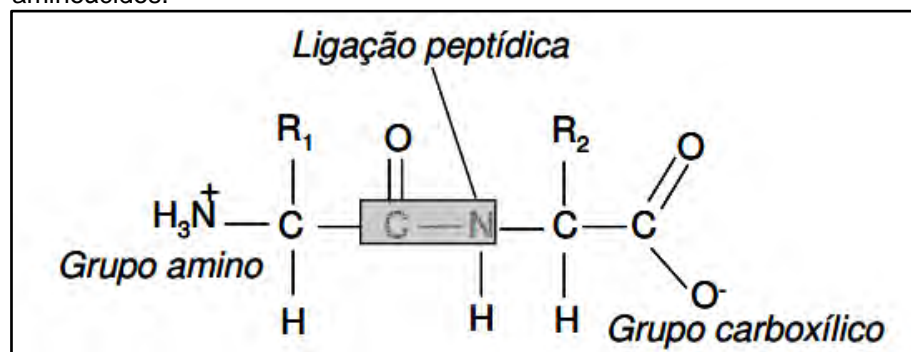
2.1 Proteínas

Em todos os seres vivos as proteínas caracterizam-se como o metabólito primário mais abundante. Quimicamente, as proteínas são constituídas por cadeias de aminoácidos unidas por ligações peptídicas, que são basicamente formadas pela união entre duas moléculas distintas de aminoácidos, envolvendo a ligação entre o grupo carboxílico e o grupo amina (BARIANI, 2008).

Estes aminoácidos que formam o complexo proteína, são ácidos carboxílicos que apresentam em sua composição um grupo básico (NH_3) e um grupo ácido (COOH), bem como o conjunto carboxila e o grupamento "R", que igualmente é conhecido como cadeia lateral, como apresentado na Figura 1 (BARBOSA, 2011).

De acordo com cada estrutura da cadeia lateral, os aminoácidos podem apresentar aspectos físico-químicos diferentes, principalmente na solubilidade em água, que é influenciada pelas diferentes cargas elétricas e tamanho da cadeia (JUNIOR; FRANCISCO, 2006).

Figura 1: Representação esquemática de uma ligação peptídica de dois aminoácidos.



Fonte: BARBIARI, 2008.

2.1.1 Proteínas de origem láctea

Entende-se por proteínas de origem láctea, aquelas que são provenientes do leite, sendo a caseína a responsável por 80% de toda a proteína deste alimento. Além disso, também há a presença de proteínas proveniente do soro lácteo que correspondem aos 20% restantes. Dentre elas, destacam-se as α -lactoalbumina e β -lactoglobulina (RAIMONDO, 2013).

De acordo com Marafon (2010), as proteínas lácteas são um dos principais ingredientes para a fabricação de inúmeros produtos lácteos. Na Tabela 3 é possível observar as diferenças entre as composições dos leites a partir de suas espécies.

Tabela 3: Composição do leite de algumas espécies de mamíferos (g/100g).

Espécies	Proteína	Gordura	Carboidrato	Água	Kcal
Cabra	3,56	4,14	4,45	87,03	69
Búfala	3,75	6,89	5,18	83,39	97
Vaca	3,15	3,25	4,80	88,13	61
Ovelha	5,98	7,00	5,36	80,70	108

Fonte: USDA, 2018.

2.1.2 Caseínas

Segundo Sgarbieri (1996), tratando-se exclusivamente das proteínas do leite, as caseínas, representam a maior quantidade na composição do leite de vaca, apresentando três componentes principais, que são a α_{S1} caseína, que compõe um total de 50%, β caseína cerca de 33% e, κ caseína aproximadamente 15%.

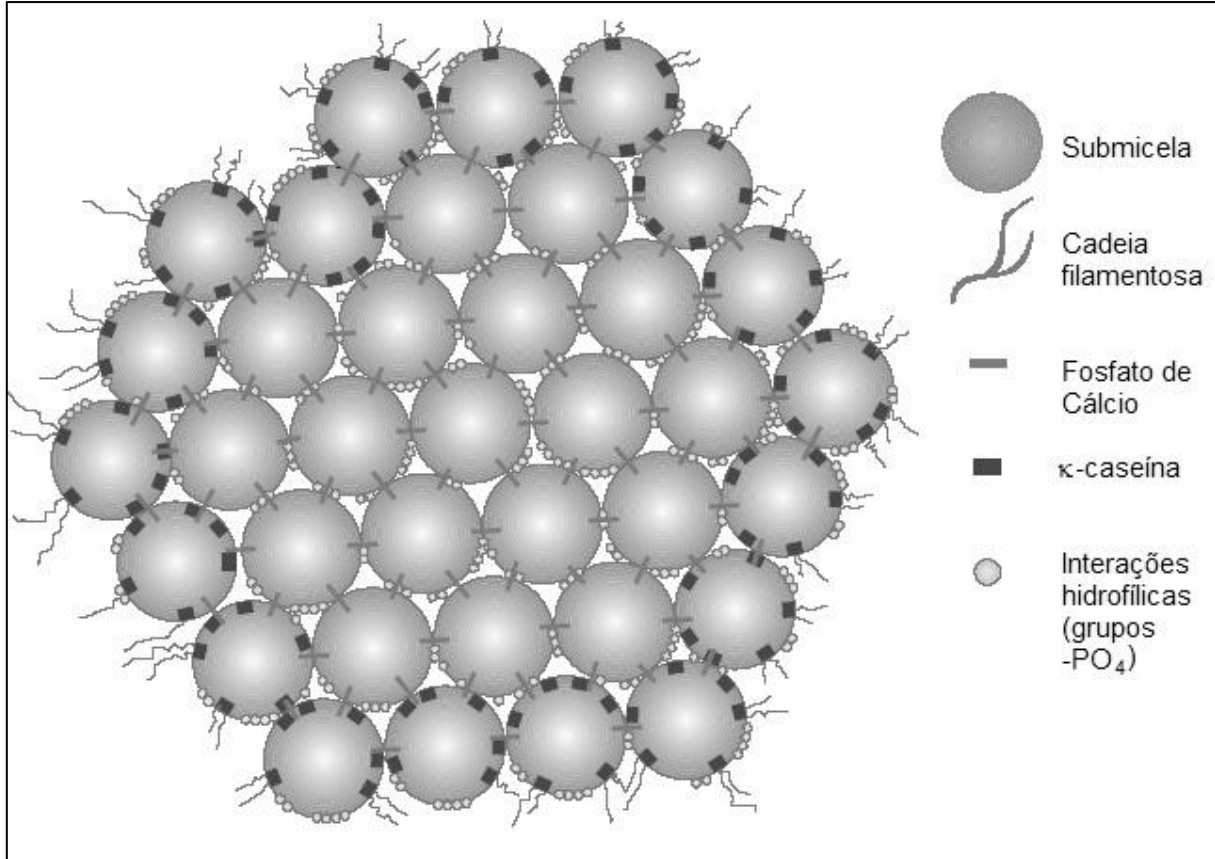
A caseína α_{S1} possui em sua estrutura uma sequência de 199 aminoácidos ligados entre si por ligações peptídicas. Essas ligações apresentam um segmento hidrofóbico, que é proveniente da cadeia de aminoácidos entre 1-42 e 80-199. No entanto, o encadeamento dos aminoácidos de 43-70, apresenta um caráter hidrofílico. Contudo, estima-se que esta fração de caseína possui um peso molecular (PM) de 23.613 mil

daltons e, devido à sua alta interação hidrofóbica, exerce um importante papel na formação de micelas (SGARBIERI, 1996).

Dentre as frações proteicas, a caseína β depende exclusivamente da temperatura do meio, pH e concentração de proteína para se manter em equilíbrio, pois apresenta um fenômeno de associação-dissociação. Pode-se dizer que a caseína β é um monômero, pois possui a facilidade de se ligar a outras moléculas (monômeros) ocasionando a formação de polímeros. No entanto, este fenômeno só ocorre na presença de um pH elevado e a baixas temperaturas, aproximadamente em 8°C. A caseína β possui um PM de 23.980 daltons e é formada por 209 conjuntos de aminoácidos. As sequências entre 1-42 apresentam alta capacidade hidrofílica, enquanto no resto da cadeia o que prevalece é a afinidade hidrofóbica (SGARBIERI, 1996).

Em forma de micelas, a caseína k encontra-se dispersa no leite. Durante o processo de fabricação de queijos, na presença de íons cálcio, a única caseína capaz de não se precipitar é a k-caseína. Esta proteína fornece um papel importante na superfície externa da micela, pois ela desempenha um efeito protetor sobre as demais caseínas. A Figura 2 ilustra exatamente o comportamento deste processo de formação de micelas, na qual é possível perceber que a k-caseína realmente se comporta como uma protetora para as demais submicelas, constituindo micelas termodinamicamente mais estáveis. Entretanto, por meio de ação enzimática, é possível quebrar este processo químico, fazendo com que as frações de caseínas restantes não consigam se manter livres no meio e conseqüentemente precipitam, dando início à formação dos coágulos (AQUARONE, 2001).

Figura 2: Modelo esquemático de formação de micelas de caseína.



Fonte: ANDRADE, 2007.

2.2 Transformação do leite em queijo

Dentre as principais tecnologias que envolvem a transformação do leite em queijo, pode-se ressaltar duas como sendo as mais comumente utilizadas nas indústrias queijeiras. Os processos destacam-se por coagulação enzimática ou por coagulação ácida (PAULA; CARVALHO; FURTADO, 2009).

De uma forma geral, os coagulantes são definidos como enzimas, sendo elas de diferentes tipos, tais como, coagulantes vegetais, microbianos e de origem animal (VAN DENDER, 2014).

A coagulação enzimática consiste na atuação da quimosina (coagulante) sobre a fração κ -caseína, especificadamente na ligação peptídica Phe (Fenilalanina) 105 – Met (Metionina) 106, conseqüentemente ocasionando a liberação da parte hidrofílica e da

porção hidrofóbica do sistema. Por consequência da desestabilização destas frações, origina-se um coágulo elástico, brilhante de textura firme chamado paracaseinato de cálcio (BRASIL, 2015).

A coagulação das proteínas por acidificação, ocorre por meio da adição de culturas lácticas ou pela adição direta de ácido láctico no leite. Em muitos casos, principalmente nas indústrias, são muito utilizados os fermentos liofilizados, que basicamente são culturas altamente concentradas (PAULA; CARVALHO; FURTADO, 2009).

De acordo com Lemes et al. (2016) além dos principais tipos de coagulação (ácida ou enzimática), ainda existe uma outra prática, a coagulação proveniente de coagulantes naturais do leite. No entanto, esta é uma atividade pouco realizada, justamente pelo seu alto custo de fabricação e por razões religiosas ou alimentares.

2.3 Queijos fundidos

Basicamente os queijos fundidos ou também chamados de queijos processados são obtidos pela fusão de dois elementos principais, que são as proteínas e a gordura. Esta fusão só acontece se o sistema for submetido ao calor e posteriormente à agitação mecânica, preferencialmente em tachos especiais que promovam estes processos simultaneamente. Para que esta mistura se torne mais homogênea, é necessário o uso de emulsificantes, também conhecidos como sais fundentes. Esta fase é de suma importância, pois o sal fundente (fosfatos) exerce funções tecnológicas fundamentais para a formação básica de algumas das principais características do produto, como, por exemplo, dispersão da proteína, estabilização da emulsão, regulação do pH e, cremificação, etapa responsável por garantir viscosidade e as demais características sensoriais do produto. Além disso, o sal fundente irá ter ação direta como agente bacteriostático (VAN DENDER, 2014).

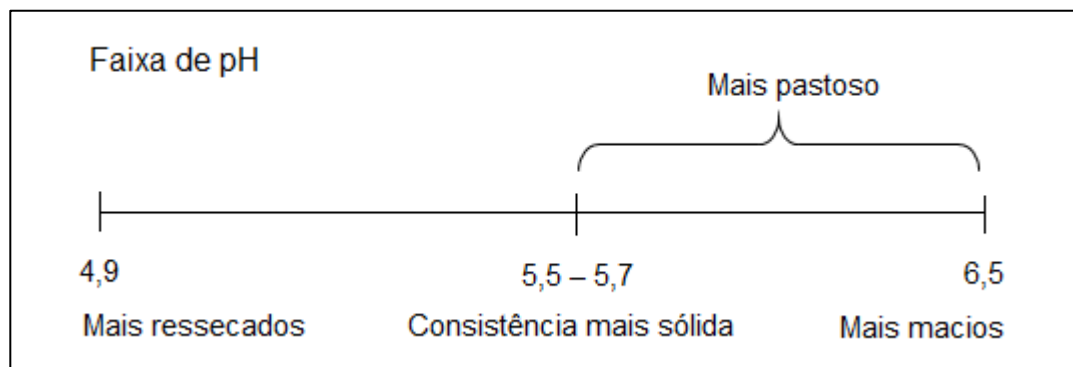
Além disso, faz-se necessária a inclusão de outros ingredientes, tais como, gordura (vegetal ou animal), leite em pó, soro de leite, amidos, entre outras matérias-primas específicas de acordo com a formulação ou produto final requerido (FERNANDES, 2008).

O primeiro queijo processado foi desenvolvido por Walter Gerber e Fritz Stettler em 1911 na Suíça. Nesta época o queijo era fatiado e aquecido juntamente com citrato de sódio, a fim de se obter um produto mais homogêneo e mais firme após ser resfriado. Dentre os principais objetivos deste processo, o mais importante era aumentar a vida útil destes queijos, pois muitas vezes eram enviados a regiões de clima mais quentes (VAN DENDER, 2014).

Os queijos processados podem ser produzidos por meio da moagem da massa de quaisquer tipos de queijo. Porém, dependendo do tipo de queijo que será trabalhado, a estrutura e principalmente os aspectos sensoriais do produto final podem ser alterados. Em geral, o tempo de vida útil de um queijo processado varia entre 3 – 4 meses (SOARES, 2019).

A Figura 3 representa um esquema claro da ação do pH na textura dos queijos fundidos, principalmente para os requeijões, onde há uma faixa de pH específica que mantém o produto de forma mais pastosa (VAN DENDER, 2014).

Figura 3: Textura de um queijo processado a partir de mudanças do pH do produto.



Fonte: VAN DENDER, 2014.

2.4 Requeijão

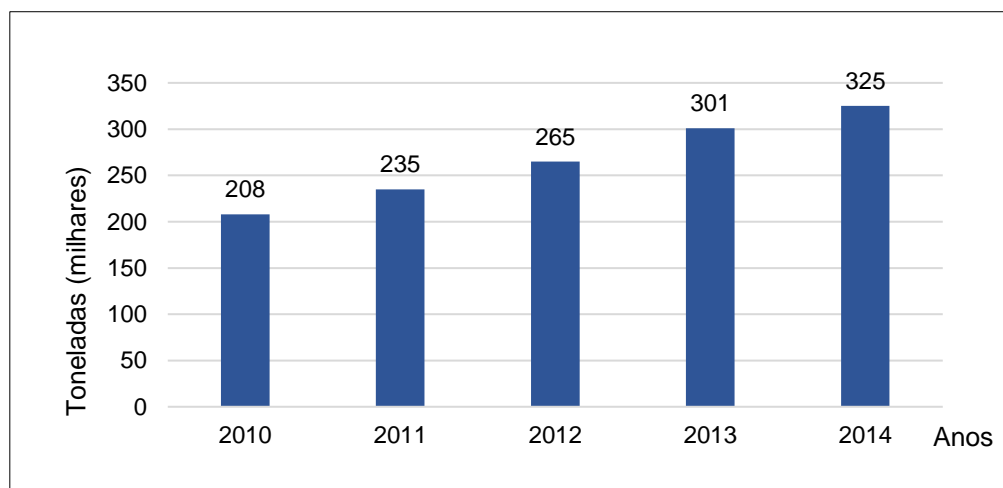
De acordo com a Portaria MA-359, de 04/09/1997 (Regulamento Técnico de Fixação de Identidade e Qualidade do Requeijão ou Requesón) o requeijão pertence ao grupo de queijos fundidos. O requeijão cremoso é definido como: *produto obtido pela fusão da massa coalhada, cozida ou não, dessorada e lavada, obtida por coagulação*

ácida e/ou enzimática do leite opcionalmente adicionada de creme de leite e/ou manteiga e/ou gordura anidra de leite ou butter oil. O produto poderá estar adicionado de condimentos, especiarias e/ou outras substâncias alimentícias. A denominação Requeijão está reservada ao produto no qual a base láctea não contenha gordura e/ou proteína de origem não láctea (PORTARIA, 1997).

O requeijão é um produto tipicamente brasileiro, e que frequentemente é produzido utilizando-se como principal matéria-prima o leite desnatado cru ou pasteurizado. O produto de maior destaque no mercado é o requeijão cremoso, para os quais os teores de umidade, gordura e proteína variam de acordo com a região e principalmente com o fabricante (BOSI, 2008).

A produção de requeijão no Brasil vem crescendo como as principais *commodities* comercializadas no país. A Tabela 4 mostra o crescimento de produção de requeijão no Brasil, de acordo com dados da ABIQ (Associação Brasileira das Indústrias de queijo) entre os anos de 2010 a 2014 (ZACARCHENCO; VAN DENDER; REGO, 2017).

Tabela 4: Produção inspecionada de requeijão no Brasil entre 2010 e 2014.



Fonte: “adaptado de” ZACARCHENCO; VAN DENDER; REGO, 2017.

Contudo, nos últimos anos, principalmente em 2020, a produção de requeijão cremoso e culinário somou cerca de 300 mil toneladas de produtos (MAGRI, 2021).

A composição básica de um requeijão cremoso é de 58-60% de umidade, 1-2% de carboidratos, 1-1,5% de cloreto de sódio, 24-27% de gordura e 9-11% de proteína.

Além de apresentar entre 60 a 62% de gordura no extrato seco e pH entre 5,7 e 6,0 (BOSI, 2008).

A Tabela 5 apresenta os principais requisitos físicos químicos e aditivos permitidos na fabricação de requeijão cremoso segundo a legislação vigente.

Tabela 5: Requisitos físico-químicos e aditivos permitidos na fabricação de requeijão cremoso.

REQUISITOS FÍSICOS-QUÍMICOS / ADITIVOS	CONCENTRAÇÃO	FUNÇÃO
Matéria gorda no extrato seco (g/100g)	Mín. 55,0	-
Umidade (g/100g)	Máx. 65,0	-
Ácido sórbico ou seus sais de Na, K ou Ca	1000/Kg	Conservador
Nisina	12,5 mg/kg	Conservador
Ácido láctico, cítrico, acético e málico	b.p.f.	Reguladores de acidez
Aromas	b.p.f.	Saborizantes
Dióxido de titânio	b.p.f.	Corante
Carmim	b.p.f.	Corante
Fosfato ou Polifosfatos de Na, K ou Ca	40 g/kg *	Emulsificante/Estabilizante

* 40 g/kg só ou combinados com fosfatos ou polifosfatos calculados como substâncias anidra sempre que os fosfatos não superem 20g/kg expressos como P₂O₅.
b.p.f. (boas práticas de fabricação).

Fonte: "adaptado de" PORTARIA, 1997.

2.5 Pulses

Grande parte da composição dos PS é definida por sistemas complexos de proteínas, fibras, amidos e outros componentes. Para cada tipo de vegetal, é possível encontrar diferentes proporções destes constituintes (SINGH, 2017).

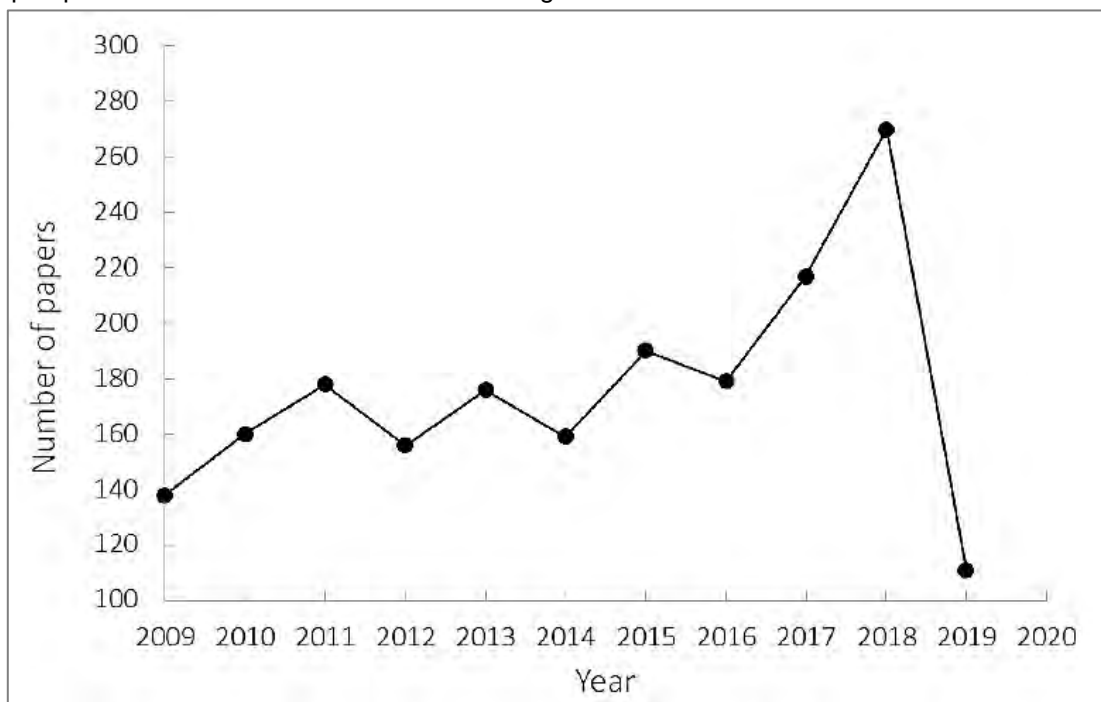
A FAO declarou o ano de 2016 como o ano internacional dos Pulses, com o propósito de divulgar os benefícios nutricionais das leguminosas, bem como o incentivo à produção sustentável (BRESCIANI; MARTI, 2019).

Os pulses de um modo geral, têm sido considerados como componentes importantes em dietas a base de proteínas vegetais. Alguns países apresentam carência

na produção de proteína animal, ou até mesmo não consomem por conta de tradições culturais e, por consequência, acabam desenvolvendo quadros de desnutrição proteica, sobretudo pela dificuldade de encontrar outras fontes de proteína. Por conta destes e de outros fatores, a inclusão de proteínas vegetais pode ajudar a fornecer algumas propriedades nutricionais similares a proteína animal (ASIF et al., 2013).

Apesar de ainda haver poucos estudos relacionados aos Pulses em comparação a outras fontes de proteínas vegetais e, com o aumento da oferta de produtos sem glúten, sem alergênicos e rótulos mais limpos pelas indústrias, nos últimos anos houve um acréscimo no desenvolvimento de artigos científicos relacionados às proteínas provenientes de leguminosas. A Figura 4 apresenta um panorama geral da literatura científica baseado nos últimos anos, onde é possível visualizar a evolução de artigos científicos publicados neste período, exceto no ano de 2019 que ainda não havia sido contabilizado neste estudo. No entanto, considerando os últimos 5 anos, 43% dos artigos destinavam-se aos estudos de ciência e agronomia e, apenas 15% dedicado ao desenvolvimento de novos produtos alimentares (BRESCIANI; MARTI, 2019).

Figura 4: Artigos científicos sobre pulses publicados nos últimos 10 anos no campo de pesquisa em ciência dos alimentos e tecnologia.



Fonte: BRESCIANI; MARTI, 2019.

2.5.1 Variedades dos Pulses e principais produtores

As ervilhas têm sido cultivadas no oriente médio há mais de 9000 anos, e até hoje são produzidas em mais de 87 países, que incluem China, Austrália, Estados Unidos e principalmente Canadá, onde mais de 60 variedades são produzidas. Canadá, França e Rússia são os três principais países que contribuem significativamente com o crescimento da produção de ervilhas secas, com 28, 14 e 10% respectivamente. Além de sua rica composição nutricional com alto teor de fibras, baixa concentração de gordura e sódio, as ervilhas apresentam grandes concentrações de aminoácidos essenciais, como, por exemplo, lisina e triptofano (ROY et al., 2018).

O grão de bico é cultivado globalmente, porém, 70% de toda a produção mundial permanecem alocadas na Índia. Estima-se que a origem do grão de bico tenha ocorrido no sudeste da Turquia. Frequentemente esse ingrediente é consumido cru, em forma de brotos, assados ou até mesmo na forma de farinha. A produção global anual deste produto se baseia entre 10,1 milhões de toneladas. Apesar da Índia ser o maior produtor de grão de bico do mundo, o país também é classificado como o maior consumidor deste ingrediente (KUMAR; YUSUF; NIGAM, 2018).

Existem duas principais espécies de grão de bico largamente comercializadas no mundo todo, a *kabuli* e a *desi*. As sementes da *kabuli* apresentam coloração mais clara, facilidades de cultivo em regiões temperadas e são mais largas do que a *desi*. Esta por sua vez possui superfície irregular e apresenta coloração mais escura, e seu crescimento se dá em terrenos semiáridos (ROY et al., 2018).

As lentilhas fazem parte da dieta de inúmeras pessoas em todo o mundo, especialmente na Índia, onde grande parte da população é vegetariana. Os indianos são considerados os principais produtores de lentilha do mundo, podendo haver mais de 50 variedades de cultivos diferentes. Este ingrediente é largamente utilizado no país para o preparo dos principais pratos oferecidos pela gastronomia indiana. As lentilhas são comumente comercializadas com ou sem cascas e podem ser vendidas com os grãos inteiros ou triturados (ASIF, 2013).

As principais aplicações encontradas nestas regiões da Europa e Oriente médio são em molhos e carnes. As principais espécies de lentilhas são: lentilhas amarelas,

Pardina Espanhola, lentilhas verdes de Eston, lentilhas amarelas Mexicanas e lentilhas marrons (ASIF, 2013).

Nos últimos anos o Canadá vem se destacando como sendo o maior produtor de lentilhas, contribuindo com 48% da produção total mundial (MACWILLIAM et al., 2018).

De acordo com BOYE; ZARE; PLETCH (2009), outro tipo de leguminosa muito explorada e consumida em vários países, são os feijões. Um dos principais gêneros da família dos feijões, é a fava, também conhecida como feijão-fava (*Phaseolus lunatus L.*), e tem como principal fração proteica a globulina (69,5-78,1%).

O feijão-fava, além de outras leguminosas, também é considerado um ótimo alimento como fonte de proteína, além de oferecer carboidratos, fibras, vitaminas e minerais. Seu principal consumo atualmente está presente em regiões como, Ásia, África, Oriente médio e Europa (GETACHEW; VANDENBERG; SMITS, 2018).

De acordo com Kumar, Yusuf e Nigam (2018), a produção de Pulses nos próximos anos pode aumentar de forma considerável. A Tabela 6 apresenta uma projeção para 2050 da produção deste ingrediente comparado aos anos anteriores.

Tabela 6: Projeção de produção, colheita e rendimento de pulses para os próximos anos (2050).

	1961/63	2013/14	2050
Produção (milhões tons)	44	73	100
Colheita (mihões ha)	69	80,8	62
Rendimento (tons/ha)	0,6	0,9	1,6

Fonte: (KUMAR; YUSUF; NIGAM, 2018).

2.5.2 Características nutricionais dos Pulses

Os pulses possuem em sua composição, proteínas, carboidratos e baixos níveis lipídicos. Esses macronutrientes são a base para a definição dos benefícios dos pulses à saúde. No entanto, compostos não nutricionais como os bioativos que normalmente se apresentam em quantidades inferiores aos macronutrientes, como, por exemplo, fibras alimentares e amidos resistentes, têm sido destacado em alguns estudos que ressaltam a importância deles na manutenção da saúde humana, principalmente desempenhando efeitos metabólicos após o consumo. Além disso, esses compostos tornam os pulses aplicáveis em uma vasta gama de produtos alimentícios (SINGH et al., 2017).

Além de todos os macronutrientes e os compostos não nutricionais oferecidos pelos pulses, os mesmos também oferecem várias vitaminas para a saúde humana. A Tabela 7 apresenta os valores nutricionais de algumas leguminosas, e de outras fontes de proteínas vegetais. Os resultados foram baseados nos valores de referência padrão da USDA (Departamento de Agricultura dos Estados Unidos). Os valores foram fundamentados a partir de sementes maduras, cozidas e fervidas sem sal (ÇAKIR et al., 2019).

Tabela 7: Valores nutricionais de proteínas vegetais (porção de 100g).

Informações nutricionais	Unid.	Lentilha	Ervilha	Grão de bico	Fava	Soja	Quinoa
FDC ID		172421	172429	173757	173753	174271	168873
Número NBD		16070	16086	16057	16053	16109	20034
Água	g	69.64	69.49	60.21	71.54	62.55	71.61
Energia	Kcal	116	118	164	110	172	120
Proteína	g	9.02	8.34	8.86	7.6	18.21	4.4
Gordura	g	0.38	0.39	2.59	0.4	8.97	1.92
Carboidrato	g	20.13	21.1	27.42	19.65	8.36	21.3
Fibra	g	7.9	8.3	7.6	5.4	6	2.8
Minerais							
Cálcio, Ca	mg	19	14	49	36	102	17
Ferro, Fe	mg	3.33	1.29	2.89	1.5	5.14	1.49
Magnésio, Mg	mg	36	36	48	43	86	64
Fósforo, P	mg	180	99	168	125	245	152
Potássio, K	mg	369	362	291	268	515	172
Sódio, Na	mg	2	2	7	5	1	7
Zinco, Zn	mg	1.27	1	1.53	1.01	1.15	1.09
Cobre, Cu	mg	0.251	0.181	0.352	0.259	0.407	0.192
Manganês, Mn	mg	0.494	0.396	1.03	0.421	0.824	0.631
Vitaminas							
Vitamina C	mg	1.5	0.4	1.3	0.3	1.7	0
Tiamina	mg	0.169	0.19	0.116	0.097	0.155	0.107
Riboflavina	mg	0.073	0.056	0.063	0.089	0.285	0.11
Niacina	mg	1.06	0.89	0.526	0.711	0.399	0.412
Vitamina B-6	mg	0.178	0.048	0.139	0.072	0.234	0.123
Folato, total	µg	181	65	172	104	54	42
Vitamina B-12	µg	0	0	0	0	0	0
Vitamina A, IU	IU	8	7	27	15	9	5
Vitamina D	IU	0	0	0	0	0	0
Vitamina E	mg	0.11	0.03	0.35	0.02	0.35	0.63
Vitamina K	µg	1.7	5	4	2.9	19.2	0
Ácidos graxos, total saturados	g	0.053	0.054	0.269	0.066	1.297	0.231
Ácidos graxos, monoinsaturados totais	g	0.064	0.081	0.583	0.079	1.981	0.528
Ácidos graxos, poliinsaturados totais	g	0.175	0.165	1.156	0.164	5.064	1.078
Ácidos graxos, trans total	g	0	0	0	0	0	-
Colesterol	mg	0	0	0	0	0	0

Fonte: USDA, 2019.

Apesar de todos os seus benefícios, os pulses de um modo geral possuem níveis limitados de aminoácidos essenciais, tais como triptofano, metionina e cisteína. Desta forma, recomenda-se que a dieta a base de pulses seja equilibrada com outras fontes

vegetais ou até mesmo com a inclusão de fontes de origem animal. Por outro lado, conforme apresentado na Tabela 8, alguns pulses apresentam uma quantidade maior de determinados aminoácidos essenciais em sua composição quando comparado com outras fontes de proteínas vegetais, tais como quinoa e aveia. As principais alterações na composição de proteína e aminoácidos dos pulses estão diretamente relacionadas à germinação, ao meio ambiente, às aplicações de fertilizantes e, principalmente pela vasta variedade dos vegetais (HAVEMEIER; ERICKSON; SLAVIN, 2017).

Tabela 8: Valores de aminoácidos proveniente de algumas proteínas vegetais (porção de 100g).

Aminoácidos ⁽¹⁾	Unid.	Lentilha	Ervilha	Grão de bico	Fava	Soja	Quinoa	Aveia
FDC ID		172421	172429	173757	173753	174271	168873	168873
Número NBD		16070	16086	16057	16053	16109	20034	20034
Triptofano ⁽²⁾	g	0.081	0.093	0.085	0.072	0.242	0.052	0.057
Treonina ⁽²⁾	g	0.323	0.296	0.329	0.270	0.723	0.131	0.086
Isoleucina ⁽²⁾	g	0.390	0.344	0.380	0.306	0.807	0.157	0.114
Leucina ⁽²⁾	g	0.654	0.598	0.631	0.572	1.355	0.261	0.235
Lisina ⁽²⁾	g	0.630	0.602	0.593	0.486	1.108	0.239	0.130
Metionina ⁽²⁾	g	0.077	0.085	0.116	0.062	0.224	0.096	0.057
Cisteína	g	0.118	0.127	0.119	0.097	0.268	0.063	0.099
Fenilalanina ⁽²⁾	g	0.445	0.384	0.475	0.321	0.869	0.185	0.155
Tirosina	g	0.241	0.242	0.220	0.241	0.630	0.083	0.114
Valina ⁽²⁾	g	0.448	0.394	0.372	0.338	0.831	0.185	0.165
Arginina	g	0.697	0.744	0.835	0.702	1.291	0.340	0.219
Histidina ⁽²⁾	g	0.254	0.203	0.244	0.193	0.449	0.127	0.070
Alanina	g	0.377	0.367	0.380	0.311	0.784	0.183	0.149
Ácido aspártico	g	0.998	0.984	1.042	0.849	2.093	0.353	0.270
Ácido glutâmico	g	1.399	1.426	1.550	1.291	3.224	0.580	0.642
Glicina	g	0.367	0.371	0.369	0.319	0.770	0.216	0.162
Prolina	g	0.377	0.344	0.366	0.320	0.973	0.240	0.168
Serina	g	0.416	0.367	0.447	0.348	0.965	0.176	0.152

⁽¹⁾ Não há informações dos aminoácidos Asparagina e Glutamina.

⁽²⁾ Aminoácidos essenciais.

Fonte: USDA, 2019.

2.5.3 Aplicações industriais de pulses

As principais características funcionais das proteínas para as diversas aplicações industriais incluem principalmente, capacidade de retenção de água (CRA), solubilidade, capacidade de ligação de gordura, propriedades emulsificantes, formação de espumas, agente texturizante e formação de gel. Estes atributos são de extrema importância na produção de alimentos em diversas aplicações e interferem diretamente na textura e em propriedades sensoriais do produto (BOYE et al., 2010).

Estudos recentes afirmam que o consumo diário de proteínas vegetais reduz significativamente problemas de diabetes, doenças cardiovasculares, câncer, hipertensão, osteoporose, doença gastrointestinal, e níveis do colesterol LDL (*Low Density Lipoproteins*). A inserção destas proteínas na dieta dos consumidores também fornece alguns aminoácidos essenciais ao organismo (BOER; AIKING, 2017).

2.5.4 Processamento e obtenção das proteínas de pulses

Para adquirir frações diferentes de proteínas, sejam elas, farinhas, concentrados ou isolados, comumente são empregadas algumas técnicas de fracionamento via úmida ou seca. A escolha do tipo de processamento, pode interferir de forma significativa no resultado final e principalmente no desenvolvimento de novos ingredientes (SOZER; HOLOPAINEN; POUTANEN, 2017).

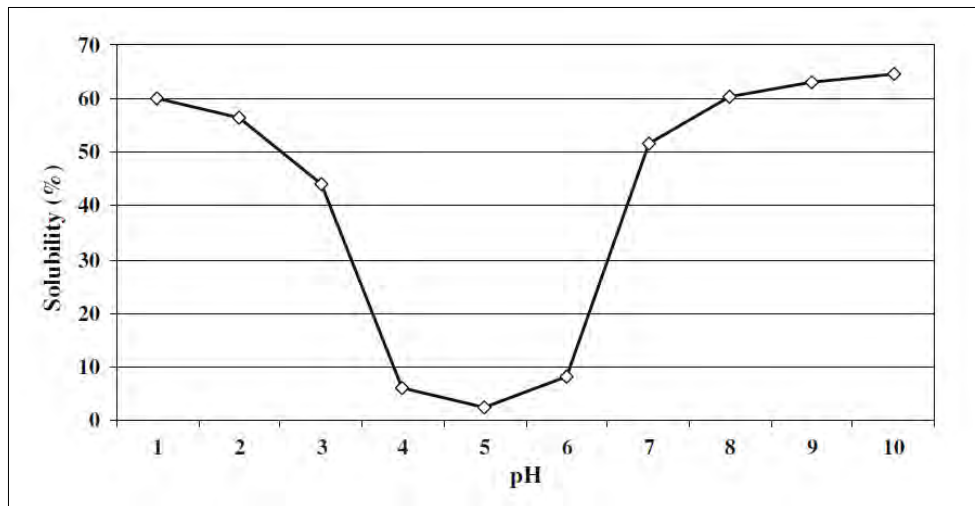
2.5.4.1. Classificação aérea

Este processo consiste basicamente na realização da moagem de grãos principalmente sob produtos com alto teor de amido e proteínas, como é o caso dos pulses. A moagem das sementes de leguminosas resulta na formação de farinhas com diferentes tamanhos de partículas e densidades. O processo de classificação aérea incide sobretudo na separação das frações mais leves (proteínas) e pesadas (amidos) por meio de uma corrente de ar em espiral (BOYE; ZARE; PLETCH, 2010; SOZER; HOLOPAINEN; POUTANEN, 2017).

2.5.4.2. Extração alcalina/precipitação isoelétrica

Outra técnica de extração de proteínas de pulses é a extração alcalina acompanhada da precipitação isoelétrica, onde o processo atua principalmente levando em consideração a solubilidade dos Pulses em função do pH. Em meio alcalino (pH > 7,0), as proteínas de pulses apresentam alta solubilidade, porém, em pH próximo ao ponto isoelétrico (4,5), proporciona baixa solubilidade (Figura 5) (BOYE; ZARE; PLETCH, 2010).

Figura 5: Solubilidade da proteína isolada de grão de bico em função do pH.



Fonte: BOYE; ZARE; PLETCH, 2010.

O processo para obtenção de proteínas por meio da extração alcalina/precipitação isoelétrica resume-se em realizar a moagem das sementes de pulses com ou sem cascas, resultando em uma farinha que será submetida à uma suspensão de 1:5 a 1:20 (farinha:água). Em seguida, é ajustado o pH da solução entre 8-11, deixando a mesma em repouso por 30-180 minutos a uma temperatura de 55-65°C. Este processo auxilia na solubilização e extração das proteínas de forma mais eficaz. Posteriormente, é feita a centrifugação e filtração da solução a fim de remover quaisquer materiais insolúveis na mistura. Para ocorrer o processo de precipitação das proteínas, o material é submetido a um pH de aproximadamente 4,5 (ponto isoelétrico). Por fim, para alcançar o

concentrado/isolado proteico, realiza-se o processo de centrifugação da mistura novamente, lavagem do material proteico para remoção dos sais indesejados, neutralização e, processo de secagem (BOYE; ZARE; PLETCH, 2010).

2.5.4.3. Extração ácida

O processo de extração ácida é muito semelhante ao processo por via alcalina, pois em condições ácidas os pulses também apresentam boa solubilidade (Figura 4). Deste modo, baixos níveis de pH (1-3) podem auxiliar na solubilidade antes da realização do processo de precipitação. Portanto, a principal diferença entre os dois procedimentos, está atrelada ao início da extração que é inicialmente conduzida sob condições ácidas (BOYE; ZARE; PLETCH, 2010).

2.5.4.4. Ultrafiltração

Este processo também é muito utilizado com o objetivo de concentrar as frações de proteínas. Trata-se de um processo complementar proveniente da precipitação isoelétrica por via ácida ou alcalina, onde a solução sobrenadante é inserida ao processo de ultrafiltração com membranas de tamanhos característicos capazes de selecionar proteínas com pesos moleculares específicos (BOYE et al., 2010).

2.5.5. Características tecnológicas dos Pulses

De acordo com Shevkani (2019), além dos aspectos nutricionais dos pulses, a efetividade da utilização deste ingrediente está totalmente atrelada às suas propriedades funcionais. Essas características estão diretamente relacionadas às propriedades físico-químicas e estruturais, além das condições de processamento e tipo de leguminosa, pois cada espécie ou família dentre os gêneros distintos dos pulses, podem apresentar características distintas entre si.

Dentre as principais características funcionais comumente avaliadas nas aplicações industriais, incluem, a solubilidade da proteína, capacidade de absorção de

água e óleo, propriedades emulsificantes, formação de espumas e propriedades de gelificação. No entanto, estas características variam de acordo com a massa molecular, cadeias de aminoácidos, estrutura secundária, distribuição de carga, entre outros atributos (BOYE et al., 2010).

2.5.5.1 Solubilidade dos Pulses

Em relação a solubilidade, apesar dos pulses serem solúveis em soluções ácidas e alcalinas, como é o caso principalmente das frações de glutelinas, outras frações de proteínas como, por exemplo, as globulinas, albuminas e as prolaminas, são altamente solúveis em soluções salinas, em água e álcool respectivamente (SHEVKANI, K. et al. 2019).

2.5.5.2. Capacidade de absorção de água e óleo

Basicamente a capacidade de absorção de água (CAA) tem como definição a habilidade de reter fisicamente a água contra a gravidade, ou seja, trata-se da absorção de massa de água que eventualmente é absorvida por um peso conhecido de proteína. Além disso, a CAA é particularmente uma das principais propriedades funcionais no desempenho da funcionalidade das proteínas, principalmente quando são empregadas na produção de alimentos viscosos, como, por exemplo, massas, sopas, cremes, entre outros (SHEVKANI, K. et al. 2019).

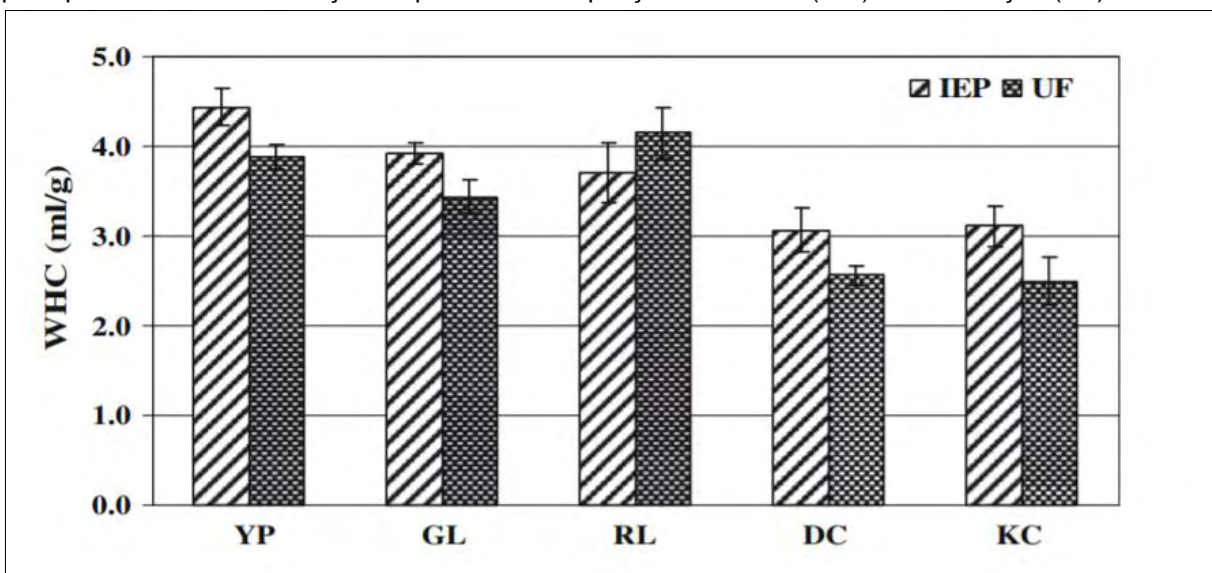
Considerando os diferentes níveis de concentração de proteína, os isolados/concentrados proteicos apresentam maior absorção de água/óleo quando comparado às farinhas que, por sua vez, possuem uma concentração de proteína inferior (SHEVKANI, K. et al. 2019).

Em sua grande maioria, as proteínas concentradas de pulses podem apresentar uma capacidade de retenção de água entre 0,6 e 2,7g/g. No entanto, a CAA pode variar significativamente aplicando diferentes métodos de extração de proteína, bem como a variedade das espécies e, a fonte das leguminosas. Por exemplo: pulses provenientes

da família dos feijões roxo (*Kiney bean*), feijão-de-corda (*cowpea*) e ervilhas (*field pea*), apresentam CAA entre 1,6 e 4,8 g/g, enquanto as proteínas isoladas de grão de bico permanecem com valores entre 2,3 e 3,5 g/g e, proteína isolada de fava (*Vicia fava*) e lentilha, apresentam CAA de 2,6 g/g e 2,8–2,9 g/g respectivamente (BOYE et al., 2010; SHEVKANI, K. et al. 2019).

Conforme ilustrado na Figura 6, é possível perceber que, considerando a aplicação de diferentes métodos de extração de proteínas e, variando a fonte de cada pulse, observa-se que a CAA é automaticamente alterada. Além disso, por meio da precipitação isoeletrica, a CAA apresenta resultados superiores quando comparado ao processo de ultrafiltração. Porém, nota-se que apenas a proteína concentrada de lentilha vermelha, obteve um valor superior às demais fontes de pulses neste método de extração (BOYE et al., 2010).

Figura 6: Capacidade de retenção de água (mL/g) de diferentes fontes de pulses, considerando dois principais métodos de extração de proteína: Precipitação Isoelétrica (IEP) e ultrafiltração (UF).



* YP (*Yellow pea*): proteína concentrada de ervilha; GL (*Green lentil*): proteína concentrada de lentilha; RL (*Red Lentil*): proteína concentrada de lentilha vermelha; DC (*Deci Chickpea*): proteína concentrada de grão de bico gênero Deci; e KC (*Kabuli Chickpea*): proteína concentrada de grão de bico gênero Kabuli.

Fonte: BOYE et al., 2010.

Por outro lado, a capacidade de absorção de óleo (CAO) das proteínas exerce um papel fundamental para ajudar nos atributos sensoriais do produto, principalmente o sabor, que é uma das características essenciais para distinguir as diferentes experiências sensoriais durante o processo de degustação dos produtos. Assim como a absorção de água, a CAO pode ser definida como a quantidade de óleo que eventualmente é absorvida pela proteína. Essa absorção ocorre principalmente por meio da ligação de cadeias laterais não polares de aminoácidos com cadeias alifáticas de óleo (SHEVKANI, K. et al. 2019).

As variações de diferentes espécies e fonte das proteínas, podem interferir na CAO, como por exemplo: proteína isolada de fava (*Vicia faba*), apresenta valores de CAO de 2,31 g/g, variedades de proteínas isoladas das famílias de grão de bico, ervilha (*field pea*) e Feijão roxo (*Kidney bean*), exibem valores entre 1,4-2,0 g/g, 5,5-7,2 g/g e 4,7-6,9 g/g respectivamente.

2.5.5.3. Propriedades emulsificantes

As emulsões são basicamente formadas por dois líquidos imiscíveis, e que sem a inclusão de agentes emulsificantes no meio, tornam-se um sistema de baixa estabilidade por conta da tensão superficial interfacial. Devido a presença de grupos hidrofóbicos e hidrofílicos na mesma estrutura das proteínas de pulses, estas características permitem a formação de emulsão e evitam a coalescência entre essas duas fases distintas. Este fenômeno ocorre justamente pela ação dos pulses em aumentar a viscosidade da fase contínua e automaticamente diminuir a taxa de movimento das gotículas de óleo no meio. Por promover tais propriedades emulsificantes, os pulses têm sido largamente estudados e empregados em diversas aplicações, onde a matriz principal do produto compõe altos índices de gorduras/óleo, como, por exemplo, maionese, sorvetes, massas em geral, sopas, produtos cárneos, etc (BOYE et al., 2010; SHEVKANI, K. et al. 2019).

Desta forma, dependendo da base a ser empregada os pulses, além de oferecer textura ao produto e o aporte proteico, podem conferir a função de estabilização da estrutura alimentícia (BOYE et al., 2010).

2.5.5.4. Propriedades de gelificação

Um dos processos primordiais no processamento e formulação de alimentos com base nas proteínas, é a capacidade de formação de géis durante e após o aquecimento. Tal gelificação ocorre principalmente quando as proteínas são submetidas ao calor, pressão e força iônica, formando uma rede tridimensional resistente ao fluxo. No entanto, além da estrutura proteica oferecer esta capacidade de gelificação, observa-se que a composição das proteínas também contém amidos em sua composição e, com a aplicação de calor e água disponível para este carboidrato, a formação de gel pode também ser potencializada. Permanecendo com as propriedades de gelificação estáveis, características de textura e rendimento são relativamente interessantes principalmente para o setor de produtos cárneos, que incluem salsichas, nuggets, hambúrguer, etc (SHEVKANI, K. et al. 2019).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Material

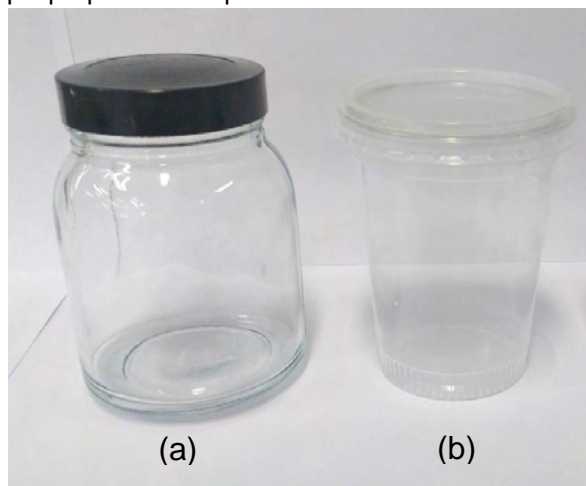
3.1.1 Embalagem

As amostras de requeijão produzidas foram acondicionadas em potes de vidro transparentes (Figura 7-a) com capacidade nominal de 210g, com dimensões de altura total de 103mm, diâmetro externo de 72mm, massa de 245g e, tampas convencionais plásticas com fechamento rosqueável.

Também foram utilizados recipientes de polipropileno transparentes (Figura 7-b), com capacidade nominal de 200g, altura total de 92mm, diâmetro de 64mm na margem superior e 55mm na base inferior, com massa de 3,8g. Para este recipiente em questão, utilizou-se um selo de alumínio/polietileno, termoselado após o envase a quente, com equipamento manual de selagem, marca Huhtamaki, modelo 111 - série AD. Sobre o selo, utilizou-se uma tampa tradicional de polipropileno transparente de simples encaixe.

Ambos os recipientes foram utilizados a fim de armazenar o produto para posterior realização das análises físico-químicas e instrumentais.

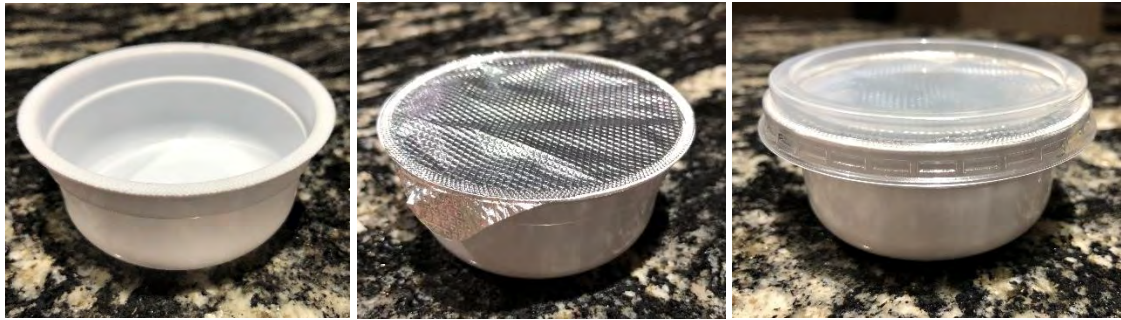
Figura 7: Imagem das embalagens para envase do requeijão cremoso; a: pote de vidro transparente com tampa rosqueável; b: recipiente de polipropileno transparente.



Fonte: Autor, 2021.

Para as análises sensoriais, foram empregadas as embalagens conforme ilustrado na Figura 8. Trata-se de um recipiente de polipropileno de cor branca, com capacidade nominal de 60g, altura total de 32mm, diâmetro de 67mm na margem superior e 60mm na base inferior, com massa de 1,7g. Utilizou-se um selo de alumínio/Polietileno, termoselado após o envase a quente, acrescido de uma tampa tradicional de polipropileno transparente de simples encaixe. Para o processo de selagem, foi utilizado o mesmo equipamento mencionado anteriormente.

Figura 8: Imagem das embalagens utilizadas o para envase do requeijão cremoso para realização do teste sensorial.



Fonte: Autor, 2021.

3.1.2 Equipamentos industriais utilizados para a produção de requeijão cremoso

O equipamento utilizado para o processo de fabricação do requeijão cremoso foi a máquina *Geiger*, modelo UMMSK-12E que contempla um tacho encamisado de cozimento com capacidade total para 12 Kg de produção. No entanto, com o intuito de otimizar o uso de matérias-primas, foram realizadas bateladas com a capacidade mínima de produção, cerca de 5 kg.

O tacho encamisado possui uma pá homogeneizadora e uma faca cortante localizada internamente na cuba. Pode-se utilizar vapor direto ou indireto. Para este trabalho, foi utilizado apenas vapor indireto, para que o produto não incorporasse umidade ao longo do processo de produção. A Figura 9 apresenta a imagem do equipamento *Geiger* utilizado na produção dos protótipos.

Figura 9: Tacho de cozimento Geiger modelo UMMSK-12E.



Fonte: Autor, 2021.

3.1.3 Materiais empregados para higienização de embalagens e equipamentos

Para a higienização/sanitização dos equipamentos e embalagens, onde foram produzidos e envasados os produtos, utilizou-se os seguintes materiais: detergente neutro, agente químico alcalino clorado, água potável, agente sanitizante a base de álcool isopropílico e quaternários de amônio e álcool 70%.

3.1.4 Equipamentos utilizados para as análises físico-químicas e instrumentais

Para as avaliações dos protótipos após a produção, foram utilizados os principais equipamentos: Texturômetro: marca Stable micro system, modelo TA.XT.*plus*C; Viscosímetro: marca Brookfield, modelo RVDII+; pHmetro: marca Metrohm, modelo 913; Espectrofotômetro: marca Konica Minolta, modelo CM-2600D.

3.1.5 Ingredientes

Para a elaboração do requeijão cremoso utilizou-se os seguintes ingredientes: massa de queijo obtida pelo processo de coagulação enzimática, creme de leite (35% gordura), leite em pó desnatado (LPD), composto lácteo MPC 70 (*Milk Protein Concentrate*), sal refinado (NaCl), sal fundente (mistura composta de citrato de sódio, (E331), polifosfato (E339) e ortofosfatos (E340) de sódio), água, conservante sorbato de potássio, regulador de acidez (ácido láctico e ácido cítrico), aromatizante sintético idêntico ao natural de queijo e proteínas vegetais (fava, ervilha e lentilha). Todos os insumos utilizados neste trabalho foram majoritariamente cedidos pelas empresas fabricantes de cada produto.

Tratando-se exclusivamente das proteínas vegetais, a Tabela 9 apresenta algumas informações nutricionais e físico-químicas dos pulses. Importante ressaltar que, em virtude de questões de confidencialidade, não foi possível mencionar a empresa que eventualmente forneceu estes insumos.

Tabela 9: Informações dos valores físico-químicos e nutricionais dos pulses.

Propriedades Físico-química / Nutricionais (*)	Fava	Ervilha	Lentilha
Umidade	Max. 10%	Max. 10%	Max. 8%
Proteínas	Min. 60%	Min. 60%	Min. 55%
Carboidrato	25,9g / 100g	34,1g / 100g	31,8g / 100g
Gordura total	3,7g / 100g	4,3g / 100g	4,2g / 100g
Fibra	13,4g / 100g	16,5g / 100g	13,7g / 100g

* Os dados físico-químicos e nutricionais foram coletados de suas respectivas fichas técnicas fornecidas pelo fabricante.

Fonte: Autor, 2021.

3.2 Métodos

3.2.1 Processo de fabricação dos protótipos

Antes do processo de produção do requeijão cremoso, é importante ressaltar que todas as embalagens e equipamento de produção (Geiger) foram devidamente sanitizados.

Para o equipamento de produção Geiger, sempre antes e depois de cada teste realizado, o mesmo foi submetido ao processo de limpeza denominado COP (*Clean Out Place*), em que inicialmente foi realizada a limpeza manual com detergente neutro para remover a sujidade com resíduos maiores e, posteriormente feita a adição de um agente químico alcalino clorado com solução de 3% à uma temperatura de aproximadamente 40°C em constante agitação (400 rpm) por 30 minutos. Em seguida, realizou-se o enxague com água corrente e finalizou-se o processo de limpeza com a aspersão de álcool 70% no interior da cuba de cozimento.

As embalagens foram higienizadas utilizando inicialmente sabão neutro e, enxague com água corrente. Posteriormente, utilizou-se um agente sanitizante a base de álcool isopropílico e quaternários de amônio, com o intuito de inibir o desenvolvimento de microrganismos. Para finalizar, os recipientes foram higienizados com álcool 70% e segregados em ambiente controlado e climatizado (22°C) por algumas horas antes do início do processo de produção do requeijão.

Para a produção dos protótipos, adotou-se um fluxograma básico frequentemente utilizado pelos laticínios para a fabricação desta categoria de produto, conforme representado na Figura 10. No entanto, é importante ressaltar que, dependendo de cada produtor, o mesmo pode apresentar variações ao longo da cadeia de produção, especialmente se houver a incorporação de determinados insumos, que eventualmente necessitem a inclusão de algumas etapas a mais durante o processo. Portanto, o fluxograma de produção conduzido neste trabalho, foi utilizado para produzir todas as amostras para os testes físico-químicos, instrumental e sensorial.

O processo de produção do requeijão cremoso destinou-se inicialmente ao manuseio da massa de queijo previamente coalhada ao processo de trituração em

equipamento Geiger. Nesta etapa, a massa de queijo (previamente refrigerada entre 5-7°C) foi submetida ao processo de cisalhamento por no mínimo três minutos a uma velocidade de 600 rpm. Tal agitação foi fundamental para manter a estrutura (porções) da massa de queijo devidamente uniforme e, possibilitar posteriormente o contato direto do sal fundente com o queijo durante a etapa de processamento.

A próxima etapa refere-se à adição dos sais envolvidos na formulação (sal fundente e sal comum).

Nestas duas primeiras etapas do procedimento, não foi necessário submeter as matérias-primas ao aquecimento, pois inicialmente foi requerido apenas a homogeneização e dispersão uniforme dos sais em toda a massa de queijo triturada.

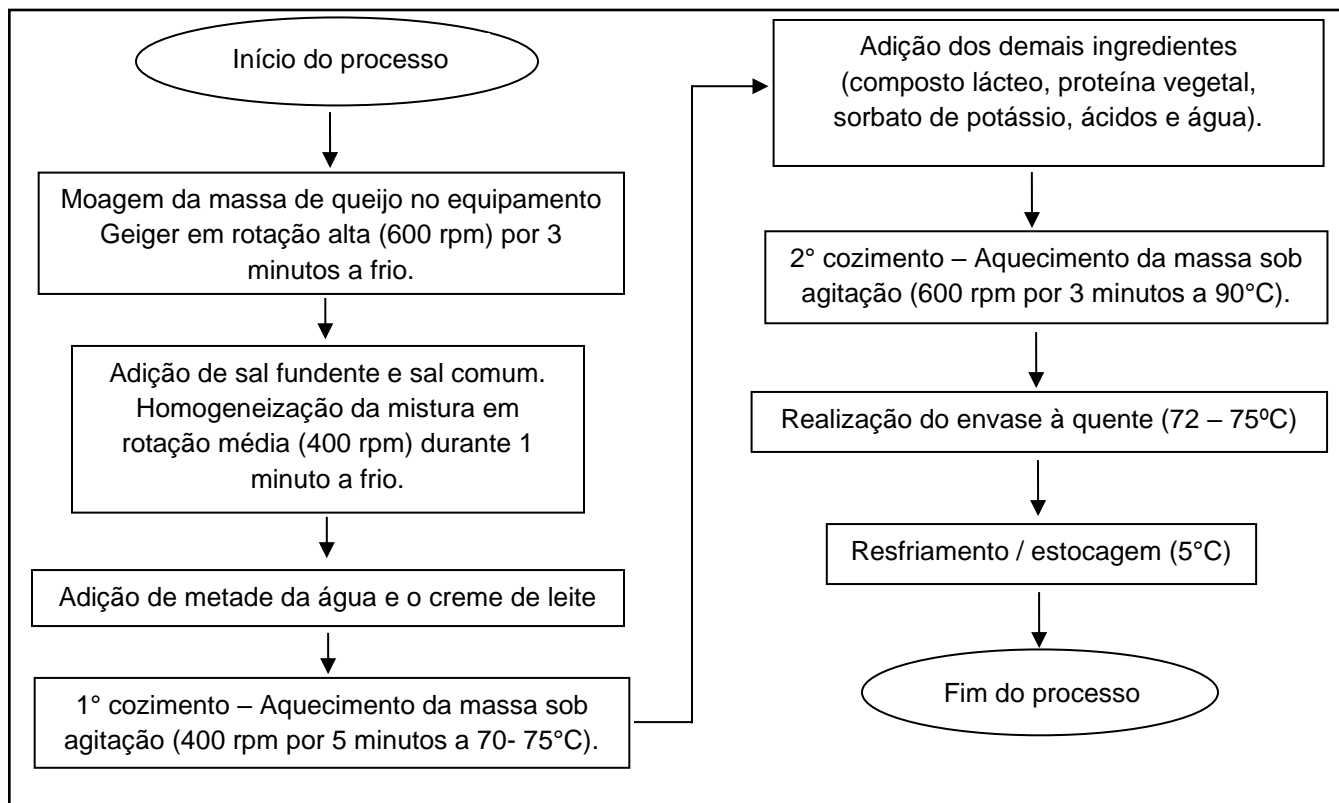
Em seguida, adicionou-se metade da água da formulação, creme de leite e, iniciou-se o processo de cozimento sob vácuo com agitação constante de 400 rpm. Após a solução atingir uma temperatura interna de 70-75°C, a mesma foi mantida em agitação por cinco minutos. Este procedimento foi de suma importância para iniciar o processo de fusão entre os ingredientes.

Em seguida, adicionou-se ao equipamento as demais matérias-primas restantes da formulação. Os ingredientes em pó, como, por exemplo, MPC, proteína vegetal e sorbato de potássio, foram previamente misturados juntos para adição no equipamento, assim como a outra metade da água junto com os ácidos. Logo, iniciou-se o processo do segundo aquecimento, onde a solução foi submetida a uma temperatura de 90°C por três minutos a 600 rpm. Esta última fase de aquecimento, foi fundamental para complementar o processo de fusão, pois de acordo com Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos Processados ou Fundidos, prevê-se que durante este processo, a solução deve atingir no mínimo 80°C por 15 segundos ou qualquer outra combinação de tempo e temperatura equivalente. Além disso, esta última etapa de aquecimento, auxilia para o controle de qualidade do produto, principalmente do ponto de vista microbiológico, inibindo o crescimento de formas vegetativas de microrganismos.

Por fim, após a produção do requeijão cremoso, o produto foi envasado a quente (72-75°C), em recipientes devidamente sanitizados, selados com tampas de alumínio e, rapidamente invertidos para evitar a formação de crescimento microbiano junto à tampa. Após este procedimento, o produto foi resfriado a uma temperatura inferior a 25°C em

aproximadamente 30 minutos, para diminuir a possibilidade de desenvolvimento microbiano durante esta fase de decaimento de temperatura. O processo de produção do requeijão cremoso foi concluído mantendo-o estocado em câmara refrigerada a 5-7°C.

Figura 10: Etapas básicas da produção de requeijão cremoso em equipamento Geiger.



Fonte: VAN DENDER, 2014.

3.2.2 Desenvolvimento das formulações

Inicialmente para o desenvolvimento das formulações dos requeijões, foram consultados os rótulos nutricionais de 20 marcas diferentes de requeijão no mercado (Tabela 10). A formulação a ser trabalhada baseou-se na média dos valores nutricionais destes produtos, que permaneceram com 9-10% de proteína, 24-26% de gordura e, 3-5% de carboidrato. Além disso, procurou-se obter um produto com aproximadamente 60% de matéria graxa no extrato seco.

Tabela 10: Informação nutricional de alguns dos principais requeijões cremosos comumente disponíveis nos supermercados.

Marcas (*)	Informação nutricional (porção – 100g)		
	Carboidrato	Proteína	Gordura total
A	3,00	9,00	25,00
B	-	7,00	27,00
C	3,33	10,33	25,00
D	2,00	9,00	30,00
E	4,00	10,33	21,00
F	6,00	6,66	20,66
G	2,00	9,70	26,00
H	4,66	4,66	21,66
I	4,66	9,33	24,00
J	3,00	9,66	24,66
K	2,33	10,66	21,00
L	2,66	10,00	24,00
M	2,00	9,33	27,30
N	-	10,00	23,66
O	-	6,67	26,67
P	-	12,00	24,66
Q	-	10,00	23,00
R	2,33	10,66	21,00
S	4,33	10,00	30,00
T	1,66	10,66	22,66
Média	2,40	9,28	24,45

* Para preservar a identidade das marcas, as mesmas foram substituídas por letras.

Fonte: Autor, 2021.

3.2.3 Testes Preliminares

A fim de validar uma formulação padrão para todos os protótipos a serem trabalhados no projeto, foram realizados três conjuntos de ensaios, totalizando sete testes preliminares de formulações e procedimentos de produção.

Os primeiros testes preliminares foram realizados conforme formulações apresentadas na Tabela 11, que incluíram: Ensaio 1, Padrão A e teste; Ensaio 2, Padrão B e C; Ensaio 3, Padrão D, E e F. Por motivo de confidencialidade entre as partes (empresa e instituição de ensino), as formulações foram apresentadas respeitando uma margem de variação entre os percentuais aplicados de cada ingrediente.

Com o propósito de observar como a proteína vegetal se comportaria na aplicação em requeijão cremoso, foi reduzido 10% da proteína de origem láctea com a aplicação de proteína de fava no ensaio 1.

O ensaio 2 foi realizado a fim de avaliar a melhor opção de reguladores de acidez principalmente em termos de sabor/odor na formulação de requeijão cremoso.

Por fim, foram realizados outros três testes preliminares (Ensaio 3), com uma formulação padrão “negativo”, onde não havia a presença de agentes reguladores de acidez e, duas formulações com o aumento da taxa de aplicação de ácido láctico e cítrico. Além disso, houve uma pequena alteração na formulação, na qual foi retirada a aplicação de LDP para rebalancear os aspectos nutricionais do produto. Os parâmetros de processo para este ensaio foram intensificados para avaliação dos resultados. Todos os testes foram conduzidos em duplicata.

Tabela 11: Formulações de requeijão cremoso (%) utilizadas nos testes preliminares.

INGREDIENTES	ENSAIO 1		ENSAIO 2			ENSAIO 3	
	Padrão A	Teste	Padrão B	Padrão C	Padrão D	Padrão E	Padrão F
Massa de queijo	23-25	23-25	23-25	23-25	18-20	18-20	18-20
Creme de leite	55-57	55-57	55-57	55-57	52-54	52-54	52-54
LDP	1-3	1-3	1-3	1-3	-	-	-
Composto lácteo MPC	3-5	2-4	3-5	3-5	6-8	6-8	6-8
Sal refinado	0,5-1,5	0,5-1,5	0,5-1,5	0,5-1,5	0,5-1,5	0,5-1,5	0,5-1,5
Sal fundente	1-3	1-3	1-3	1-3	0,7-0,9	0,7-0,9	0,7-0,9
Água	13-15	12-14	12-14	12-14	19-21	19-21	19-21
Sorbato de potássio	0,1-0,3	0,1-0,3	0,1-0,3	0,1-0,3	0,1-0,3	0,1-0,3	0,1-0,3
Proteína de fava	-	1-3	-	-	-	-	-
Ácido láctico	-	-	0,1-0,3	-	-	0,2-0,4	-
Ácido cítrico	-	-	-	0,1-0,3	-	-	0,2-0,4
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

Fonte: Autor, 2021.

Os testes foram conduzidos seguindo os parâmetros indicativos da Tabela 12, que foram baseados a partir de testes internos conduzidos previamente para a determinação dos índices de rotação. É possível observar as variações de velocidade de agitação durante o procedimento de produção, de forma a identificar a melhor condição de processo para o desenvolvimento do requeijão cremoso.

Tabela 12: Parâmetros de rotação (rpm) de processo para a produção de requeijão cremoso.

Itens de processo	ENSAIO 1	ENSAIO 2	ENSAIO 3
Moagem da massa de queijo	600	600	1100
Homogeneização a frio dos ingredientes	360	360	400
1° cozimento	360	360	500
2° cozimento	480	600	800

Fonte: Autor, 2021.

Após a realização dos testes preliminares para validação da formulação e parâmetros de processo, foram realizados três testes de bancada adicionais utilizando o equipamento Thermomix, marca Vorwerk, modelo 5.1, para avaliar os níveis máximos de substituição de proteína láctea no produto, evitando possíveis variações nas características originais do produto. De acordo com o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Requeijão, os requisitos básicos atrelados às características sensoriais do produto são: consistência (untável ou fatiável); textura (cremosa, fina, lisa ou compacta); formato (variável); cor e odor (característico); sabor (a creme, levemente ácido), sendo opcionalmente salgado para o requeijão cremoso e levemente ácido, salgado a ranço para produtos para o requeijão de manteiga. Portanto, características que eventualmente não permanecem de acordo com o regulamento técnico, estão devidamente fora dos padrões aceitáveis de qualidade.

Desta forma, considerou-se respectivamente 10, 25 e 50% de substituição utilizando a proteína vegetal de fava. Utilizou-se como parâmetros de processo os mesmos utilizados no Ensaio 3.

3.2.4 Delineamento experimental final

Considerando os resultados parciais dos testes preliminares, foi realizado um planejamento de mistura de acordo com a Tabela 13, onde optou-se pela substituição de 25% da proteína de origem animal pela proteína vegetal. Baseado na formulação de requeijão proposta neste estudo, substituições acima deste valor, apresentavam características distintas de acordo com os requisitos básicos de qualidade do produto.

Tabela 13: Matriz de planejamento de mistura para avaliar a proporção de proteínas de fava, ervilha e lentilha em requeijão cremoso.

Ensaio	Fava	Ervilha	Lentilha
1	25% (1)	0% (0)	0% (0)
2	0% (0)	25% (1)	0% (0)
3	0% (0)	0% (0)	25% (1)
4	12,5% (1/2)	12,5% (1/2)	0% (0)
5	12,5% (1/2)	0% (0)	12,5% (1/2)
6	0% (0)	12,5% (1/2)	12,5% (1/2)
7	16,6% (2/3)	4,2% (1/6)	4,2% (1/6)
8	4,2% (1/6)	16,6% (2/3)	4,2% (1/6)
9	4,2% (1/6)	4,2% (1/6)	16,6% (2/3)
10	8,33% (1/3)	8,33% (1/3)	8,33% (1/3)
11	8,33% (1/3)	8,33% (1/3)	8,33% (1/3)
12	8,33% (1/3)	8,33% (1/3)	8,33% (1/3)

Fonte: Autor, 2021.

Considerou-se para o delineamento experimental, um planejamento de mistura ternária, posteriormente com a adição de superfícies de respostas a fim de facilitar a interpretação gráfica.

Foi utilizado um planejamento denominado centroide simplex, em que de acordo com Novaes et al. (2018), este planejamento auxilia na redução do número de coeficientes de um modelo, gerando assim, uma diminuição no número de pontos experimentais. Portanto, cada ponto nas extremidades do triângulo equilátero no modelo, corresponde aos componentes (proteínas vegetais) puros. Os pontos localizados nas laterais representam as misturas binárias e, os vértices situados no interior do triângulo,

representam as misturas em que as três proteínas estão presentes (fava, ervilha e lentilha).

3.2.4.1 Resultados do delineamento experimental

Os dados foram analisados estatisticamente por análise de variância (ANOVA), utilizando o programa MINITAB 17, a fim de identificar se as amostras são significativamente diferentes entre si ao nível de significância de 5%. Diferenças mínimas significativas foram calculadas pelo teste de Tukey.

3.2.5 Formulações

Baseado no delineamento experimental, foram realizadas doze formulações testes e uma formulação padrão. A Tabela 14 apresenta todas as formulações realizadas no delineamento.

Tabela 14: Formulações de requeijão cremoso (%) utilizado no delineamento experimental.

INGREDIENTES	Padrão	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10, 11, 12
Água	18-20	18-20	17-19	17-19	17-19	17-19	17-19	17-19	17-19	17-19	17-19
Massa de queijo	18-20	18-20	18-20	18-20	18-20	18-20	18-20	18-20	18-20	18-20	18-20
Creme de leite	52-54	52-54	52-54	52-54	52-54	52-54	52-54	52-54	52-54	52-54	52-54
Amido modificado	1-3	1-3	1-3	1-3	1-3	1-3	1-3	1-3	1-3	1-3	1-3
MPC	5-7	2-4	2-4	2-4	2-4	2-4	2-4	2-4	2-4	2-4	2-4
Sal refinado	0,5-1,5	0,5-1,5	0,5-1,5	0,5-1,5	0,5-1,5	0,5-1,5	0,5-1,5	0,5-1,5	0,5-1,5	0,5-1,5	0,5-1,5
Sal fundente	0,7-0,9	0,6-0,9	0,6-0,9	0,6-0,9	0,6-0,9	0,6-0,9	0,6-0,9	0,6-0,9	0,6-0,9	0,6-0,9	0,6-0,9
Sorbato de potássio	0,1-0,3	0,1-0,3	0,1-0,3	0,1-0,3	0,1-0,3	0,1-0,3	0,1-0,3	0,1-0,3	0,1-0,3	0,1-0,3	0,1-0,3
Ácido láctico	0,2-0,4	0,2-0,4	0,2-0,4	0,2-0,4	0,2-0,4	0,2-0,4	0,2-0,4	0,2-0,4	0,2-0,4	0,2-0,4	0,2-0,4
Aroma	-	0,2-0,4	0,2-0,4	0,2-0,4	0,2-0,4	0,2-0,4	0,2-0,4	0,2-0,4	0,2-0,4	0,2-0,4	0,2-0,4
Masking*	-	0,2-0,4	0,2-0,4	0,2-0,4	0,2-0,4	0,2-0,4	0,2-0,4	0,2-0,4	0,2-0,4	0,2-0,4	0,2-0,4
Proteína de fava	-	3-5	-	-	1-3	1-3	-	2-4	0,6-0,8	0,6-0,8	1-3
Proteína de ervilha	-	-	3-5	-	2-4	-	2-4	0,6-0,8	2-4	0,6-0,8	1-3
Proteína de lentilha	-	-	-	3-5	-	2-4	2-4	0,6-0,8	0,6-0,8	2-4	1-3
TOTAL	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

*Agente aromático “mascarador” para inibição de residual de proteínas vegetais.

Fonte: Autor, 2021.

3.2.6 Análises físico-químicas e instrumentais

Como forma de avaliação dos protótipos, a fim de comparar o teste padrão com as demais amostras (T1 a T12), foram realizadas análises físico-químicas e instrumentais de acordo com a Tabela 15. As análises físico-químicas foram executadas de acordo com a metodologia da AOAC (Official Methods of Analysis, 2019).

Tabela 15: Análises físico-químicas e instrumentais dos protótipos desenvolvidos de requeijão cremoso.

	Análises	Métodos/Referência
Físico-química	pH	AOAC, nº 945.10
	Umidade	AOAC, nº 926.07
	Proteína	AOAC, nº 2001.14
	Gordura	AOAC, nº 983.23
Instrumentais	Textura	TTC Spreadability
	Viscosidade	Brookfield
	Cor	Coordenadas L*, a*, b*

Fonte: Autor, 2021.

3.2.6.1 pH

A fim de analisar as amostras em triplicata, cada teste foi acondicionado em três recipientes de polipropileno, contendo cerca de 100g de produto em cada embalagem. A análise de pH foi conduzida após três dias de produção, permanecendo as amostras estocadas a uma temperatura entre 8 – 10°C.

Inicialmente calibrou-se o equipamento utilizando as soluções tampão de pH 7 e 4, onde obteve-se um *Slope* de 99,92%.

Para a execução da análise, o eletrodo do pHmetro foi inserido diretamente dentro do recipiente contendo a amostra. Após a estabilização do equipamento, realizou-se a leitura do resultado. Entre uma amostra e outra, utilizou-se água destilada para remoção do produto, posteriormente utilizando papel toalha macio para secagem do eletrodo.

3.2.6.2 Umidade

A análise de umidade foi realizada em duplicata para cada teste, após três dias de produção. Utilizou-se a metodologia por areia em estufa com vácuo.

Foi realizada uma pré-secagem das cápsulas de inox a 100°C por 1 hora em estufa. A seguir, as cápsulas foram colocadas em um dessecador de vidro para que as mesmas atingissem temperatura ambiente. Após esta etapa, anotou-se o peso da tara de cada cápsula. Foram adicionados cerca de 4 gramas de areia purificada e calcinada P.A. Em seguida, pesou-se cerca de 5 gramas do produto e anotou-se a massa. As amostras seguiram para a estufa por 4 horas a uma temperatura de 100°C com vácuo. Em seguida, os recipientes de inox foram retirados da estufa e colocados novamente no dessecador de vidro. Após 1 hora, repesou-se todas as cápsulas e anotou-se as respectivas massas. A obtenção dos resultados de umidade, foi realizada baseado na eq. (1).

$$\text{Umidade} = \frac{(TARA + \text{massa da amostra} - \text{Repeso})}{\text{massa da amostra}} \times 100 \quad (1)$$

3.2.6.3 Proteína

A análise de proteína foi realizada pelo método micro-Kjeldahl após 10 dias de produção. Foram envasados 140g de cada amostra em recipientes de polipropileno conforme mencionado anteriormente.

Inicialmente pesou-se cerca de 0,5g de produto e adicionou-se no tubo digestor. Em seguida, foi adicionado 1g de catalisador CuSO₄. Imediatamente, antes do processo de aquecimento (digestão), adicionou-se 5mL de H₂SO₄ concentrado.

Iniciou-se o processo de aquecimento no digestor, até atingir 350°C. Este processo de aquecimento foi realizado aumentando gradativamente a temperatura a cada 15 minutos, variando de 50°C, 100°C até 350°C.

Após três horas de aquecimento, obteve-se um produto de cor verde. Em seguida, o aquecimento foi cessado, deixando as amostras esfriarem lentamente (temperatura ambiente). Logo, deu-se início ao processo de destilação.

Com o auxílio de uma pipeta volumétrica, adicionou-se 20 mL de solução de ácido bórico em um erlenmeyer de 250 mL. Posteriormente adicionou-se 100 mL de água destilada. Colocou-se o erlenmeyer na saída do condensador, de modo que a ponta de saída do condensador ficou totalmente submersa no líquido.

Adicionou-se 15 mL de uma solução de NaOH (30%) no tubo digestor, seguido de 20 mL de água destilada. Conectou-se o tubo ao aparelho de destilação.

Destilou-se aproximadamente 100 mL de solução e, logo retirou-se o erlenmeyer da saída do condensador para não ocorrer o refluxo.

Por fim, a solução obtida no erlenmeyer foi titulada com solução de HCl 0,2N padronizada. Para a obtenção do resultado de proteína, utilizou-se as eq. (2, 3 e 4).

$$1000 \text{ ml de solução de HCl} \text{ -----} 0,2 \text{ equivalentes (N eq.)} \quad (2)$$

$$V_{\text{gasto na titulação}} \text{ -----} x \text{ equivalentes}$$

$$1 \text{ equivalente de nitrogênio} \text{ -----} 14\text{g} \quad (3)$$

$$x \text{ eq.} \text{ -----} y \text{ g}$$

$$\text{Peso da amostra} \text{ -----} 100\% \quad (4)$$

$$y \text{ g} \text{ -----} z\%$$

$$z\% = \% \text{ de nitrogênio na amostra} = \%N$$

$$\% \text{ de proteína} = \% N \times \text{fator (6,38)}$$

3.2.6.4 Gordura (*partição gravimétrica*)

As amostras foram analisadas após 10 dias de produção e envasados aproximadamente 140g de produto em recipientes de polipropileno.

Inicialmente foi colocado um béquer de vidro em estufa por uma hora a 100°C para secagem. Após este processo, o béquer foi resfriado a temperatura ambiente em dessecador de vidro. Posteriormente anotou-se a massa do béquer.

Pesou-se cerca de 1g de amostra e, em seguida a alíquota foi transferida para um funil de separação. Adicionou-se 10 mL de CHCl_3 , 20 mL de CH_3OH e 8 mL de água destilada. Tampou-se hermeticamente o funil de separação e agitou-se por 30 minutos. Logo, adicionou-se 10 mL de clorofórmio e 10 mL de solução Na_2SO_4 1,5%. Tampou-se novamente o funil e agitou-se por mais 2 minutos. Após este período o funil permaneceu em repouso para separação das camadas.

Adicionou-se cerca de 1g de Na_2SO_4 sólido em um tubo de ensaio com rosca e, em seguida, coletou-se a camada inferior do funil e separação.

Filtrou-se a solução com a utilização de um filtro de algodão e coletou-se o filtrado com o auxílio de um béquer de vidro previamente seco em estufa.

A amostra foi levada para estufa por 3 horas a uma temperatura de 105°C. Logo após, esfriou-se o béquer em dessecador. Por fim, pesou-se a massa do conjunto seco. Utilizou-se a eq. (5) para a determinação do cálculo de gordura.

$$\text{Gordura} = \frac{\text{Leitura} * 11,33}{\text{massa}} \quad (5)$$

Para a obtenção do resultado de (gordura no extrato seco) GES, utilizou a eq. (6), conforme apresentada abaixo.

$$\text{GES} = \frac{\text{Gordura}}{\text{EST}} * 100 \quad (6)$$

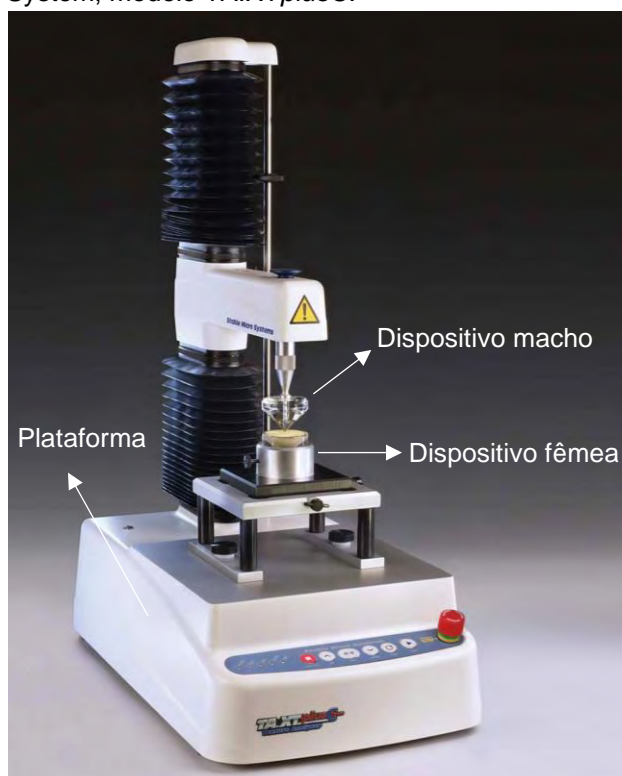
3.2.6.5 Textura

As amostras foram analisadas quatro dias após a data de fabricação. Para cada amostra seis repetições foram avaliadas a temperatura refrigerada (8 – 10°C). O produto a ser analisado foi estocado em recipientes de polipropileno com aproximadamente 180 g de amostra em cada frasco.

O conjunto do dispositivo de espalhamento do equipamento é composto por cones macho e fêmea de Polímero sintético do metacrilato de metilo, com ângulos de 90° precisamente. O conjunto de *probes* (peça macho/fêmea) utilizado nesta análise foi o *TTC Spreadability Rig* (HDP/SR). Além disso, utilizou-se a plataforma *Heavy Duty* (HDP/90). A Figura 11 apresenta a imagem do texturômetro utilizado para avaliação dos protótipos.

Utilizou-se o programa de análise *Spreadability/Softness of cheese spread*, software fornecido pelo próprio fabricante do equipamento.

Figura 11: Imagem do texturômetro Stable Micro System, modelo TA.XTplusC.



Fonte: TA.XT, 2020.

As configurações de análise foram determinadas seguindo instruções do fabricante. A Tabela 16 apresenta os parâmetros utilizados nas análises.

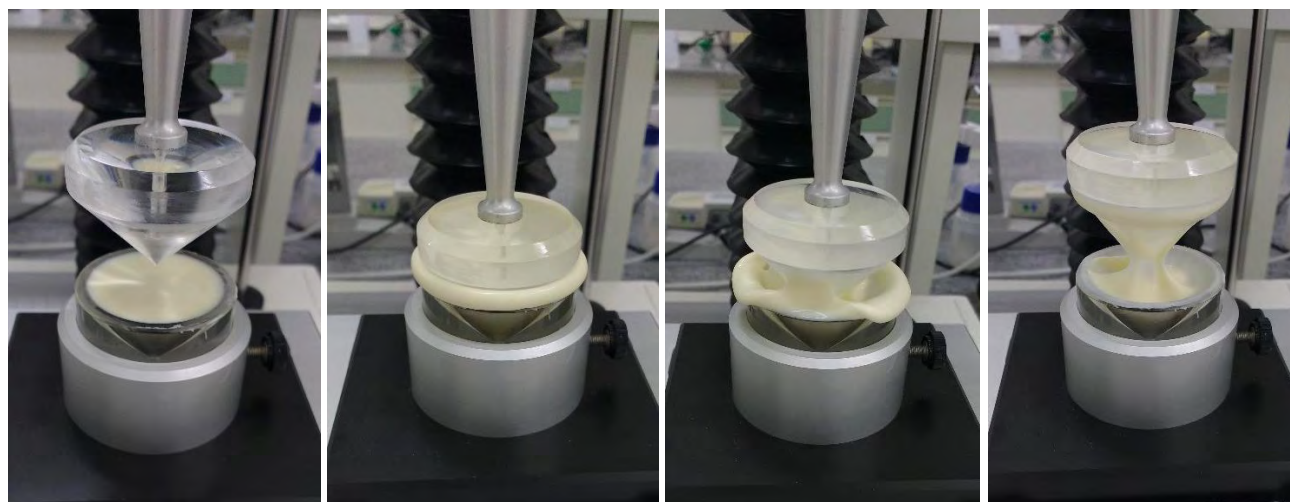
Tabela 16: Parâmetros de análise para obtenção dos resultados de textura do requeijão cremoso.

TA Settings	
<i>Mode</i>	Measure Force in Compression
<i>Option</i>	Return to Start
<i>Pre-Test Speed</i>	N/A
<i>Test Speed</i>	3.0 mm/s
<i>Post-Test Speed</i>	10.0 mm/s
<i>Distance</i>	23 mm
<i>Trigger Type</i>	Button
<i>Tare Mode</i>	Auto
<i>Data Acquisition Rate</i>	200pps

Fonte: Autor, 2021.

Utilizou-se apenas 10 gramas de requeijão cremoso para cada repetição (total de 6 repetições). Com a utilização de uma espátula metálica, as amostras foram adicionadas no interior da sonda até preencher toda a cavidade e, em seguida, nivelada até a altura da borda. A Figura 12 ilustra o processo de análise realizado no Texturômetro, onde basicamente a amostra é pressionada na sonda e, em seguida, retorna para a posição inicial.

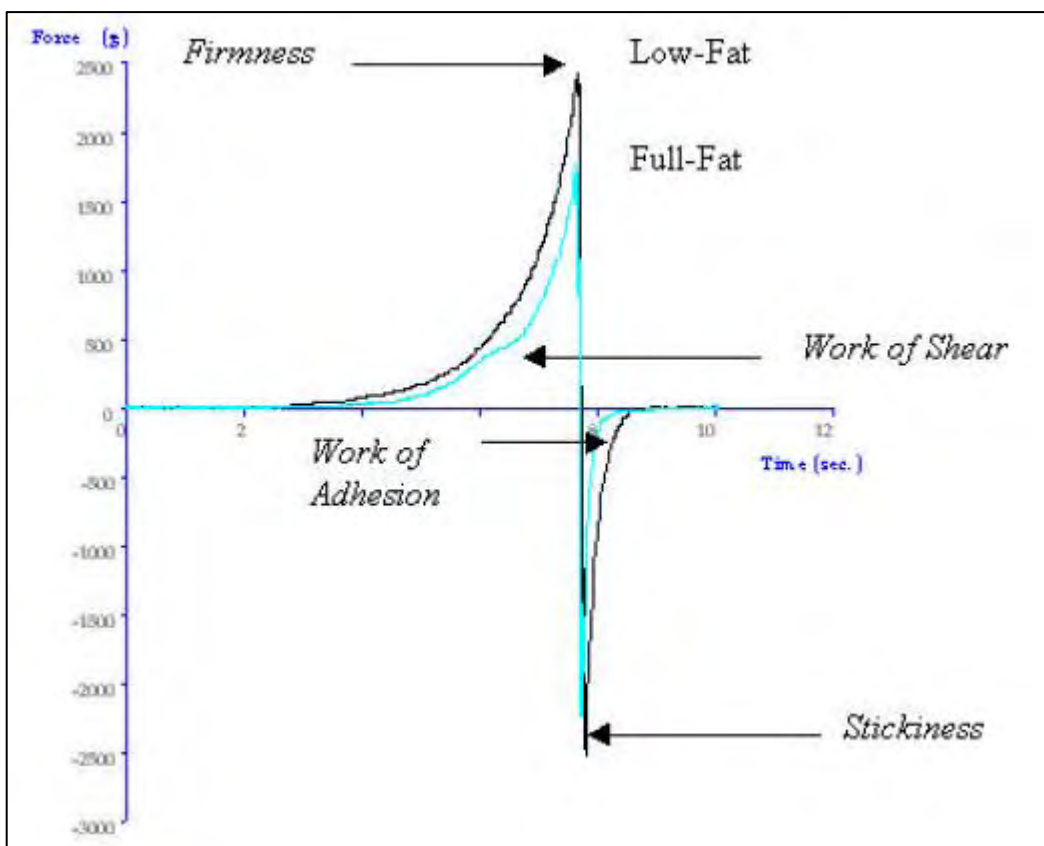
Figura 12: Imagem do equipamento Texturômetro durante o processo de análise de textura.



Fonte: Autor, 2021.

O processo de introdução do *probe* na amostra consiste em dois movimentos únicos, o positivo e o negativo. Este primeiro incide em movimentar o *probe* por toda a cavidade “fêmea”, deslocando sensivelmente a amostra nas paredes da parte “macho”. Esta operação, consegue extrair informações dos atributos de firmeza e cisalhamento. O movimento negativo consiste no retorno do *probe* para sua posição inicial. Desta forma, os resultados são obtidos negativamente. Nesta etapa, o sistema consegue destacar os atributos de adesão e pegajosidade. Na Figura 13, é possível visualizar graficamente o movimento realizado pelo texturômetro.

Figura 13: Exemplo de apresentação gráfica dos resultados obtidos durante o processo de análise de textura.



Fonte: Autor, 2021.

3.2.6.6 Viscosidade

As análises de viscosidade foram realizadas após quatro dias de produção e, executadas em triplicatas. As amostras foram acondicionadas em recipientes de vidro, nos quais foram envasados cerca de 200g de produto em cada recipiente. No momento da realização da análise de viscosidade, as amostras permaneceram em temperaturas entre 10 – 12°C.

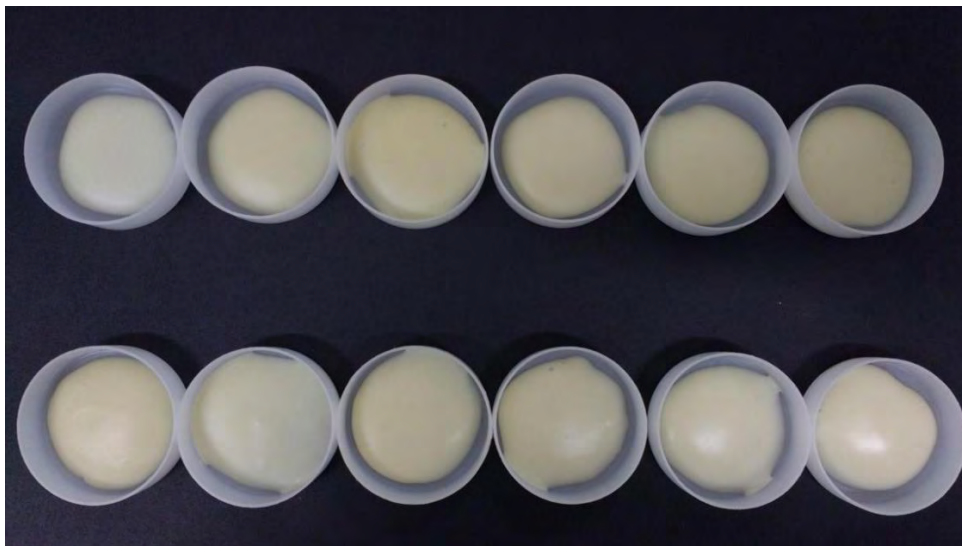
Para a realização da análise, utilizou-se os seguintes parâmetros: Spindle de nº 6; Velocidade de rotação do Spindle de 10 RPM; Torque de 50%.

3.2.6.7 Cor (L^* , a^* , b^*)

Realizou-se a análise de cor após três dias da data de produção. As amostras utilizadas para esta análise foram envasadas inicialmente em recipientes de vidro com 200 g de produto e, estocadas a temperatura de 6°C. Em seguida, as amostras ficaram expostas a temperatura ambiente até atingirem cerca de 10 – 15°C.

Para a execução da leitura de cor no equipamento, foram adicionados 5 gramas de produto em cápsulas de plástico conforme Figura 14.

Figura 14: Imagem das amostras para realização de cor (L^* , a^* , b^*).



Fonte: Autor, 2021.

Os dados das análises instrumentais e físico-química foram analisados estatisticamente por análise de variância (ANOVA), utilizando o programa MINITAB 17, a fim de identificar se as amostras são significativamente diferentes entre si ao nível de 5% de significância. Diferenças mínimas significativas foram calculadas pelo teste de Tukey.

3.2.7 Análise sensorial

O teste sensorial foi aprovado, antes do início da pandemia COVID 19, pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEPH – nº 3.401.382). Em virtude da paralisação das atividades presenciais nas universidades, decorrente da pandemia, a condução dos ensaios foi adaptada para atender aos protocolos de segurança estabelecidos pelo governo do estado de São Paulo e pela Universidade de São Paulo.

Em princípio o teste sensorial seria realizado aplicando-se todas as fórmulas do planejamento de misturas, em um total de 13 amostras por participante. No entanto, considerando as dificuldades de se realizar um teste sensorial com um número de amostragem elevada, optou-se em aplicar apenas três amostras na avaliação sensorial. Portanto, as amostras a serem empregadas no teste sensorial, foram definidas com base nos resultados físico-químicos e instrumentais previamente finalizados, que apresentaram resultados mais próximos ao padrão (produto sem a adição de proteína vegetal). Além disso, utilizou-se como critério de definição, o custo final de formulação de cada teste. Deste modo, considerou-se os testes, Padrão, T1 (menor custo) e T4 (resultados físico-químicos e instrumental mais similares ao padrão).

Para maior entendimento em relação ao custo, a Tabela 17 indica o custo total de cada formulação baseada nos valores atuais de mercado para cada insumo. Cabe considerar que esses valores podem sofrer variações significativas dependendo de cada fornecedor e região. Portanto, levou-se em consideração o custo local de cada matéria-prima para o custeio das fórmulas, em que é possível observar que o T1 apresenta menor custo em relação aos demais testes.

Tabela 17: Avaliação de custo das fórmulas do delineamento de misturas.

Testes	Aplicação de Pulses	Custo de formulação (R\$/Kg)
Padrão	-	16,40
T1	Fava (25%)	16,03
T2	Ervilha (25%)	16,07
T3	Lentilha (25%)	16,44
T4	Fava (12,5%) + Ervilha (12,5%)	16,05
T5	Fava (12,5%) + Lentilha (12,5%)	16,25
T6	Ervilha (12,5%) + Lentilha (12,5%)	16,23
T7	Fava (16,6%) + Ervilha (4,2%) + Lentilha (4,2%)	16,13
T8	Fava (4,2%)+ Ervilha (16,6%) + Lentilha (4,2%)	16,10
T9	Fava (4,2%)+ Ervilha (4,2%) + Lentilha (16,6%)	16,31
T10, 11 e 12	Fava (8,33%)+ Ervilha (8,33%) + Lentilha (8,33%)	16,18

Fonte: Autor, 2021.

A avaliação sensorial foi realizada com 63 provadores não treinados, consumidores de requeijão. Após a sua produção, as amostras de requeijão foram envasadas em potes de polipropileno de cor branca previamente higienizados, com aproximadamente 20g de produto em cada recipiente. Cada amostra foi devidamente selada com tampa de alumínio, identificada e posteriormente mantida sob refrigeração (5-7°C) até o momento das avaliações.

Como medida de precaução, os ensaios foram realizados mediante uso de aplicativo por celular. Para tanto, a identificação das amostras foi realizada com base na codificação gerada pelo programa sensorial *Compusense cloud*. Para cada grupo de testes (Padrão, T1 e T4), gerou-se uma numeração específica, ou seja, todos os provadores detinham da mesma numeração para cada teste avaliado, porém, o próprio programa alternava a ordem de distribuição das amostras de acordo com o delineamento interno do software.

De forma a evitar quaisquer riscos de exposição ao vírus (Covid 19), todos os provadores receberam instruções prévias, por e-mail, incluindo orientações para uso do aplicativo por celular. Nessas instruções os participantes foram informados que após completarem o preenchimento do questionário para cada amostra, o processo era

finalizado, não sendo possível retornar para a mesma amostra para nova avaliação ou para modificar notas já atribuídas. Este procedimento simulou a apresentação monádica de amostras. Para a realização do teste, receberam ainda, por e-mail, um link e um QR Code para acessar o questionário (ANEXO II), gerado pela ferramenta *Compusense Cloud*, ficando a critério do participante a escolha de qual ferramenta utilizar.

No que se refere à caracterização das amostras, receberam também informações importantes sobre principais alergênicos envolvidos no produto, sobre métodos de conservação aplicados e validade dos produtos.

Para evitar contaminações por manipulação de amostras, cada provador, recebeu um kit (Figura 15) que continha: Três amostras codificadas de requeijão, documento do Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) conforme Anexo I, guardanapos de papel e colheres descartáveis, biscoito (cream cracker) e, um brinde (chocolate) pela participação. Os protótipos foram entregues a uma temperatura de aproximadamente 8-10°C.

Figura 15: Kit de amostras entregue para cada participante do teste sensorial.



Fonte: Autor, 2021.

Durante a avaliação sensorial, os provadores foram solicitados a espalhar a amostra sobre os biscoitos recebidos no kit e, entre uma amostra e outra, foram instruídos a beber água para reduzir a fadiga sensorial. O teste foi realizado durante cinco dias.

Os provadores avaliaram as amostras em escala hedônica de 9 e 5 pontos considerando a escala de respostas previamente estabelecida conforme apresentado na Tabela 18. Para os atributos da escala hedônica de 5 pontos (Tabela 18-b), foi realizado um teste de preferência, em que aplicou-se a metodologia JAR (Just-About-Right). Por outro lado, para as propriedades sensoriais da escala hedônica de 9 pontos (Tabela 18-a), foi realizado um teste de aceitação, incluindo teste de Kolmogorov-Smirnov e, Análise de Componentes principais (ACP), com o tratamento dos dados realizado por meio de análise estatística de variância ANOVA. As diferenças mínimas significativas foram calculadas pelo teste de Tukey.

Tabela 18: Escalas hedônicas usadas na avaliação das amostras de requeijão durante o teste sensorial.

Escala de 9 pontos ^(a)	Escala de 5 pontos ^(b)	Escala de 5 pontos ^(c)
1 = desgostei muitíssimo	1 = muito menos.....do que eu gosto	1 = certamente não compraria
2 = desgostei muito	2 = menos..... que eu gosto	2 = provavelmente não compraria
3 = desgostei moderadamente	3 =do jeito que eu gosto	3 = talvez sim / Talvez não
4 = desgostei ligeiramente	4 = mais.....do que eu gosto	4 = provavelmente compraria
5 = nem gostei, nem desgostei	5 = muito mais.....do que eu gosto	5 = certamente compraria
6 = gostei ligeiramente		
7 = gostei moderadamente		
8 = gostei muito		
9 = gostei muitíssimo		

^a Aparência, cheiro, sabor, consistência, maneira geral.

^b Sabor típico de requeijão, cremosidade, espalhabilidade.

^c Intenção de compra.

Fonte: Autor, 2021.

3.2.7.1 Escala JAR (Just-About-Right) de avaliação

Para sabor típico de requeijão, cremosidade e espalhabilidade, atribuiu-se a estas características, a escala JAR (Just-About-Right) de avaliação.

A escala JAR de avaliação tem como principal objetivo demonstrar se as percepções sensoriais provocadas pelas características básicas do produto atendem às expectativas do consumidor, ou seja, se o produto se apresenta do jeito que o consumidor gosta. Sendo assim, o nível ideal dentro da escala de avaliação é

representado pelo numerador médio 3 (“do jeito que eu gosto”), considerando a escala hedônica de 5 pontos (NARAYANAN et al., 2014).

De acordo com Ares et al. (2014), essa metodologia é frequentemente utilizada para as abordagens baseadas no consumidor, com o propósito de obter informações sobre a intensidade ideal dos atributos sensoriais. Neste caso, os provadores são solicitados a realizarem tal avaliação considerando os desvios do nível ideal. Sendo assim, o teste JAR avalia posteriormente as questões indicando a intensidade como muito fraca, em que se considera a somatória dos níveis 1 e 2 da escala hedônica, ideal (JAR), com as respostas do nível 3 e, muito forte, com a somatória dos níveis 4 e 5. Além disso, análises de penalidades nos dados do JAR foram introduzidas para identificar os atributos sensoriais que eventualmente possuem maior influência na preferência do consumidor. Estas informações são de suma importância para o desenvolvimento dos produtos, pois contribuem mais efetivamente para identificar quais direções de reformulação do produto devem necessariamente serem retrabalhadas. Deste modo, as análises de penalidades do teste JAR permitem, sobretudo, identificar os produtos que estão devidamente mais próximos do ideal (JAR). Para esta avaliação utilizou-se o software XLSTAT (Versão 2020).

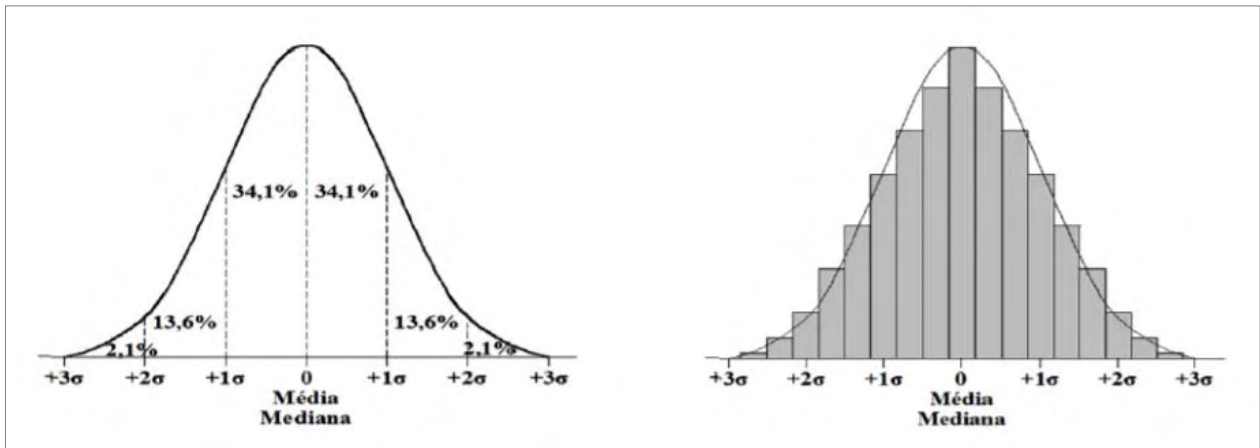
3.2.7.2 Teste de Kolmogorov-Smirnov

A fim de avaliar se as respostas seguiram uma distribuição normal, aplicou-se o teste de Kolmogorov-Smirnov (*K-S*) para os atributos de aparência, cheiro, sabor, consistência e maneira geral, de acordo com a indicação da Tabela 18 (a). O teste em questão não possui nenhuma relação com o teste anteriormente empregado (JAR).

De acordo com Genesseeux et al. (2013), a distribuição normal é considerada uma das mais importantes distribuições de probabilidade usualmente empregadas em diversos estudos. Matematicamente, para maior entendimento sobre os resultados do teste de *K-S*, a Figura 16 exemplifica por meio de um gráfico simétrico a proporção dos valores para a avaliação do teste. Para a distribuição normal dos resultados, emprega-se a proporção de valores de um, dois e três desvios padrão positivo e negativo de sua média ($\pm 1\sigma$, 2σ e 3σ), considerando os valores de 68,26, 95,44 e 99,72%

respectivamente. Sendo assim, os valores que eventualmente permanecerem afastados três desvios padrão abaixo ou acima da média, são automaticamente considerados resultados *outliers*, ou seja, são dados que se distanciam radicalmente e que fogem da normalidade, podendo causar um desequilíbrio nos resultados obtidos.

Figura 16: Modelo de gráfico simétrico para distribuição normal dos dados.



Fonte: GENNESSEAU ET AL. (2013).

O teste de *K-S* fornece o valor de significância (*p*-valor) podendo ser interpretado por meio da medida de concordância entre aos dados obtidos e a hipótese nula (H_0). Sendo este, correspondente a distribuição normal dos dados. Portanto, se o *p*-valor $> \alpha$ (nível de significância), não se deve rejeitar H_0 , isto é, a distribuição normal dos valores é uma distribuição caracterizada possível para o conjunto de dados. Entretanto, se *p*-valor $\leq \alpha$, deve-se rejeitar H_0 e, conseqüentemente não se pode admitir que os dados apresentam uma distribuição normal. No geral, quanto menor o *p*-valor, menor será a consistência dos dados obtidos. Em outras palavras, o teste de *K-S* é comumente realizado para observar o ajuste de distribuição entre as respostas. Caso não haja uma distribuição normal, pressupõe que exista grupos de consumidores distintos (*clusters*).

3.2.7.3 Análise de Componentes Principais (ACP)

De acordo com Hongyu (2015), a ACP refere-se basicamente a metodologia multivariada de formação da estrutura de covariância. Trata-se da combinação linear dos conjuntos originais de variáveis para um conjunto consideravelmente menor de variáveis não correlacionadas, que eventualmente explicam grande parte da variabilidade dos dados originais. Em outras palavras, a técnica está intimamente relacionada com a ideia de redução de conjuntos de dados de dimensão elevada, conseqüentemente com menor perda possível de informação. Com a inclusão da ACP, é possível identificar em um espaço de distribuição, onde está localizado cada grupo de *cluster*.

3.2.7.4 Análise Estatística para testes de aceitação (escala hedônica de 9 pontos)

Os dados das análises sensoriais foram analisados estatisticamente por análise de variância (ANOVA), utilizando software XLSTAT versão 2020, a fim de identificar se as amostras são significativamente diferentes entre si ao nível de significância de 5%. Diferenças mínimas significativas foram calculadas pelo teste de Tukey.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

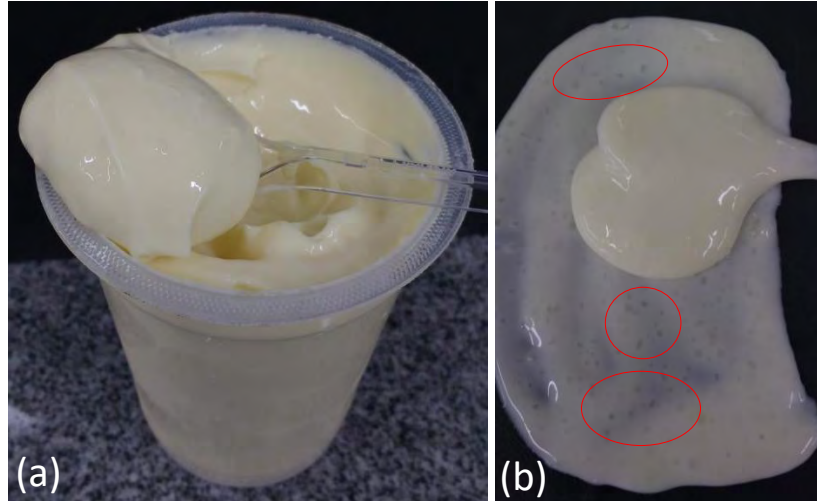
4.1 Testes preliminares

4.1.1 Ensaio 1

O teste em questão não apresentou resultados satisfatórios, pois o produto apresentou viscosidade elevada e presença de pequenos grumos. O pH da massa de queijo foi, em média, 5,52, o produto final apresentou 6,22, acima dos padrões de requeijão cremoso, que frequentemente apresentam resultados entre 5,7 – 6,0. A presença de pequenos grumos em toda a superfície do produto, de acordo com Van Dender (2014), pode estar associada à quantidade de sal fundente aplicado no produto, podendo ser superior ou inferior à taxa ideal de aplicação deste ingrediente. Outro fator de extrema importância, é a variação de processo, atrelada a três parâmetros fundamentais de tecnologia para a realização completa da fusão entre os ingredientes, são eles, temperatura, agitação e tempo. Todos estes aspectos estão diretamente associados entre si, pois interferem inteiramente no aspecto e textura do produto final. Para este primeiro ensaio, percebeu-se que mesmo mantendo a temperatura ideal de processo e permanecendo no tempo indicado conforme metodologia, o produto não sofreu a homogeneização completa, pois a agitação não foi suficiente para realizar a fusão completa dos ingredientes.

No entanto, pelo fato da alta taxa de aplicação de sal fundente empregada na formulação, bem como o resultado de pH mais elevado, o produto apresentou gosto residual amargo, tanto para a formulação padrão como para a formulação teste. A Figura 17 ilustra a imagem do requeijão produzido neste primeiro teste, onde é possível perceber os inúmeros grumos de partículas aglomeradas em todo o produto. Logo, este tipo de falha, gerou um produto com aspecto irregular do requeijão comprometendo sua textura, principalmente no que se refere a propriedade de espalhabilidade do produto em determinada superfície. Além disso, sensorialmente foi possível perceber que os grumos não se dissolviam na boca durante toda a degustação (em fase de teste pela equipe de pesquisadores), proporcionando uma experiência desagradável ao paladar.

Figura 17: Imagem dos primeiros testes realizados de requeijão cremoso com substituição parcial de proteína láctea por proteína de fava; (a): amostra padrão A; (b): amostra teste com a indicação dos grumos visíveis no produto.



Fonte: Autor, 2021.

Entende-se que o produto ficou muito viscoso pelo fato de não ter sido adicionada toda a quantidade de água conforme indicado na formulação. O produto no início da fusão apresentava baixa viscosidade, e por esse motivo, erroneamente não foi adicionada toda a água no produto. Adicionou-se apenas 6,60% de água.

4.1.2 Ensaio 2

Os resultados obtidos no primeiro teste indicaram que a aplicação da proteína vegetal na matriz requeijão, resultou em um produto final com falhas facilmente contornáveis. Desta forma, a segunda batelada de testes foi realizada com o intuito de consolidar uma formulação padrão para os demais testes.

Após a realização dos testes, percebeu-se que o produto ainda permanecia com pequenos grumos em sua superfície mesmo alterando alguns parâmetros de velocidade de processo. O aumento da rotação ao final do cozimento ainda foi insuficiente para a completa fusão dos ingredientes, pois ao término do processo do segundo cozimento, o produto ainda apresentava pequenos grumos em sua formação. No entanto, observou-

se que elevando a agitação mecânica do sistema houve uma melhora importante na homogeneidade do produto, reduzindo o tamanho dos grumos de proteína conforme Figura 18.

Figura 18: Imagem do requeijão cremoso produzido com o aumento da rotação mecânica no processo final de cozimento.



Fonte: Autor, 2021.

É importante destacar que a única diferença entre as duas formulações está relacionada com a porcentagem de aplicação de ácidos diferentes, a fim de buscar a acidez e pH ideais para este tipo de produto. A Tabela 19 indica os níveis de pH ao longo do processo de produção do requeijão.

Tabela 19: Resultados de pH do requeijão cremoso durante o processo de produção.

Etapas	pH
Massa de queijo	5,17
Produto sem a aplicação de ácido	6,16
Formulação Padrão B*	5,86
Formulação Padrão C**	5,78

* Padrão B: Formulação de requeijão com ácido láctico.

** Padrão C: Formulação de requeijão com ácido cítrico.

Fonte: Autor, 2021.

Apesar da grande maioria dos produtores de requeijão cremoso no país não utilizar ácido cítrico como meio de regulador de acidez no produto, a adição do ácido na formulação fez com que o valor de pH diminuísse sensivelmente, deixando o produto final dentro da faixa ideal de pH para este tipo de produto. No entanto, com a inclusão de ácido cítrico, o produto apresentou gosto residual amargo, detectado sensorialmente pela equipe de pesquisadores (testes preliminares), descaracterizando o produto.

4.1.3 Ensaio 3

A fim de eliminar os pequenos grumos no produto, foram realizados três novos ensaios, onde se estabeleceu uma formulação padrão variando apenas a inclusão de ácido láctico e cítrico. Realizou-se também, um teste “negativo” no qual não se adicionou qualquer agente químico para controlar o pH do produto. Todos os testes foram conduzidos em duplicata. Os parâmetros de processo (velocidade de agitação) foram intensificados para melhores resultados.

Após a realização dos testes (seção 3.2.3 – testes preliminares), percebeu-se que a adição de agentes acidificantes nos produtos, durante o manuseio, resultou em produtos com uma viscosidade menor quando comparado ao produto sem a adição de ácidos, ou seja, os produtos resultantes dos padrões E e F permaneceram mais fluídos do que o padrão D.

É importante ressaltar que a adição de agentes acidulantes no produto é necessária principalmente para ajustar o pH que deve ser mantido na faixa entre 5,7 – 5,9 justamente para promover um sabor levemente ácido, que seja agradável ao paladar. Um pH abaixo de 5,7 pode ocasionar a formação de precipitados, bem como originar uma textura mais ressecada, descaracterizando o produto. Entretanto, valores de pH acima de 6,0 podem interferir na vida útil do produto, além de deixar o produto sem as notas sensoriais ácidas típica de um requeijão cremoso (VAN DENDER, 2014).

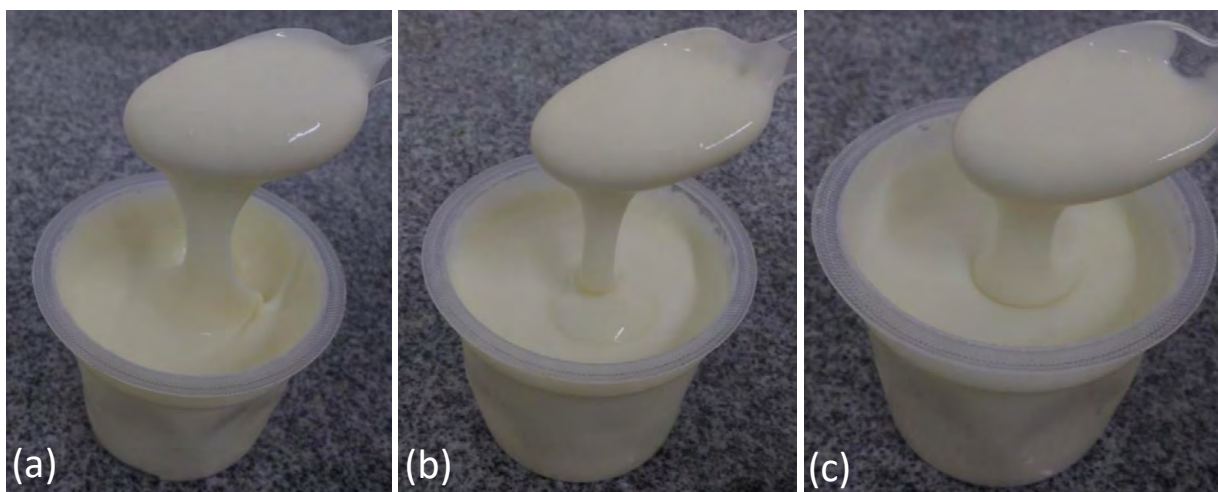
De acordo com a Portaria nº359, de 04 de setembro de 1997, do Ministério da Agricultura, o uso de ácidos no produto não é obrigatório. No entanto, a própria legislação, com ênfase em requeijão cremoso, denomina o requisito *Sabor*, como sendo levemente ácido. Porém, não especifica uma faixa de pH limitante para a inclusão do ingrediente.

Segundo a legislação, os ingredientes acidificantes são considerados como aditivos, fazendo a função de reguladores de acidez no produto.

Após a finalização dos ensaios, os produtos gerados pelos testes Padrão D, E e F, apresentaram pH em 6,18, 5,83 e 5,75 respectivamente.

Em relação à formação de grumos no produto, percebeu-se que em ambos os testes, não houve a presença de precipitados. Pode-se perceber que trabalhando em um processo de agitação mais intenso, o resultado final é um produto com uma textura mais lisa e uniforme. A Figura 19 mostra os testes realizados, onde é possível analisar que não há mais a presença de grumos na superfície do produto.

Figura 19: Imagem dos requeijões cremosos padrão D (a), E (b) e F (c) realizados em planta piloto sem a formação de grumos.



Fonte: Autor, 2021.

4.2.1 Análises instrumentais

4.2.1.1 Textura

Para a obtenção dos resultados de textura, foram realizadas seis repetições para cada amostra, onde avaliou-se os atributos de firmeza, cisalhamento, pegajosidade e adesão.

A Tabela 20 apresenta os percentuais utilizados de cada pulse nas formulações trabalhadas considerando o delineamento experimental. Importante ressaltar que, os percentuais destacados referem-se à substituição de proteína láctea no requeijão, que permaneceram com 25%, cuja relação e o tipo de proteína foram alterados em cada teste. Além disso, a Tabela 20 apresenta as respostas obtidas das análises de textura. Dentre os atributos analisados, é possível perceber que, do ponto de vista de firmeza e cisalhamento, todas as amostras apresentaram diferenças significativas em relação ao padrão (sem proteína vegetal). Para ambos os atributos o teste com o resultado mais próximo foi o T4, que apresentou valores de firmeza e cisalhamento de 677,32 e 451,97 respectivamente. Para a avaliação de pegajosidade, o T4 foi o único teste que resultou em um produto estatisticamente mais próximo ao padrão com valor de -942,63. Para o atributo de adesão, apesar dos testes 7, 9 e 10 apresentarem resultados significativamente similares ao padrão (-173,95 , -176,08 , -167,50 respectivamente), novamente o produto obtido pelo teste 4 apresentou um valor mais próximo ao teste sem a proteína vegetal. Portanto, para esta avaliação de textura, percebe-se que o produto T4, com a inclusão de proteína de fava (12,5%) com ervilha (12,5%), demonstrou características análogas ao produto padrão.

De um modo geral, todos os testes com proteína vegetal apresentaram aumento nos resultados de textura. A variação dos dados obtidos em relação à média para Firmeza foi de 1.5 a 7.2%, Cisalhamento de 2.9 a 8.6%, Pegajosidade de 1.7 a 6.1% e Adesão de 5.4 a 16.9%.

Para as formulações com proteínas aplicadas isoladamente, observou-se um maior acréscimo em todos os atributos em função do aumento das concentrações de fava e lentilha, enquanto que, a aplicação de ervilha, ocasionou um aumento menos expressivo. No entanto, considerando os resultados alcançados empregando-se misturas dos pulses, de acordo com o delineamento experimental, percebeu-se que todos os atributos de textura ficaram abaixo em relação aos testes com as aplicações de leguminosas isoladas.

Tabela 20: Efeitos nos parâmetros de textura para avaliar a porcentagem de substituição de proteína láctea por proteínas vegetais (pulses) nos protótipos de requeijão cremoso.

Testes	Fava	Ervilha	Lentilha	Firmeza (g)	Cisalhamento (g.s.)	Pegajosidade (g)	Adesão (g.s.)
Padrão*	-	-	-	586,49 f	335,02 f	-894,51 f	-127,60 e
T1	25% (1)	0% (0)	0% (0)	992,90 a	669,40 a	-1334,60 a	-247,02 a
T2	0% (0)	25% (1)	0% (0)	786,81 d	553,32 cd	-1070,50 cd	-182,41 cd
T3	0% (0)	0% (0)	25% (1)	901,54 b	654,52 ab	-1192,90 b	-235,91 ab
T4	12,5% (1/2)	12,5% (1/2)	0% (0)	677,32 e	451,97 e	-942,63 ef	-150,21 de
T5	12,5% (1/2)	0% (0)	12,5% (1/2)	805,11 cd	567,40 cd	-1076,60 cd	-187,74 bcd
T6	0% (0)	12,5% (1/2)	12,5% (1/2)	879,70 bc	639,21 ab	-1163,41 bc	-214,71 abc
T7	16,6% (2/3)	4,2% (1/6)	4,2% (1/6)	793,42 cd	556,71 cd	-1071,10 cd	-173,95 cde
T8	4,2% (1/6)	16,6% (2/3)	4,2% (1/6)	803,60 cd	572,90 cd	-1084,73 cd	-180,90 cd
T9	4,2% (1/6)	4,2% (1/6)	16,6% (2/3)	771,91 d	537,90 cd	-1053,91 d	-176,08 cde
T10	8,33% (1/3)	8,33% (1/3)	8,33% (1/3)	751,30 de	512,42 de	-1040,42 de	-167,50 cde
T11	8,33% (1/3)	8,33% (1/3)	8,33% (1/3)	790,02 cd	539,57 cd	-1092,52 bcd	-178,56 cd
T12	8,33% (1/3)	8,33% (1/3)	8,33% (1/3)	836,83 bcd	594,21 bc	-1109,81 bcd	-198,52 abcd
valor-p	-	-	-	0,000	0,000	0,000	0,000

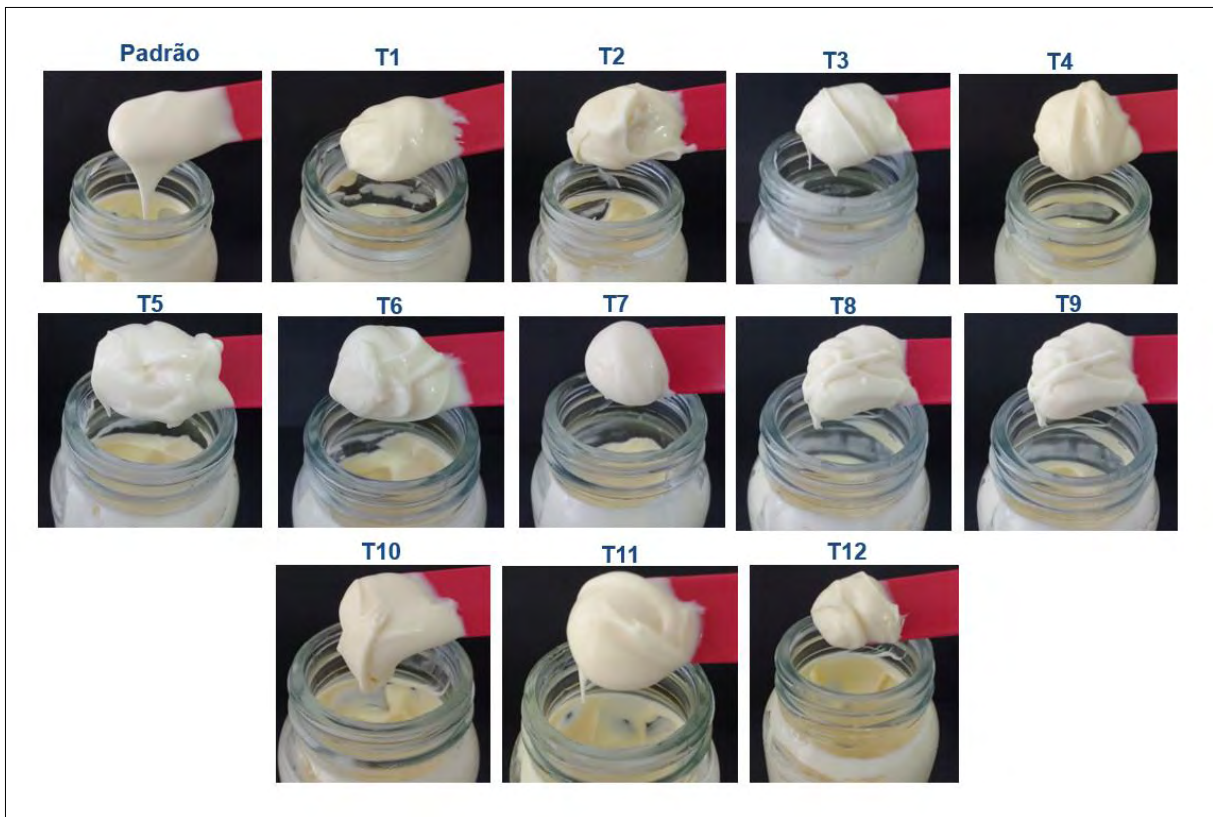
*Padrão = requeijão cremoso sem a adição de proteínas vegetais.

Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Fonte: Autor, 2021.

A Figura 20 apresenta as imagens de todos os protótipos do delineamento experimental, em que é possível observar que visualmente o teste padrão permaneceu com a textura menos firme em relação aos demais testes, comprovando o que os resultados de textura eventualmente apresentaram nas avaliações instrumentais.

Figura 20: Imagem de todos os protótipos realizado com base no delineamento de mistura executado.



Fonte: Autor, 2021.

Segundo Boye, et al. (2010), os principais aminoácidos que estão presentes nas proteínas provenientes de leguminosas são arginina, lisina, metionina, glutamina, ácido aspártico e cisteína. Sendo estes todos de caráter polar, com exceção da metionina. Entretanto, de acordo com Fox et al. (1998), os aminoácidos presentes na proteína do leite, em específico na fração caseína, são leucina, valina, fenilalanina, isoleucina, triptofano e prolina, que são aminoácidos apolares. Desta maneira, a substituição parcial de proteína de origem láctea por proteínas vegetais (pulses), fornece diretamente um aumento no conteúdo de aminoácidos polares. Portanto, esse aumento no caráter hidrofílico oriundo das proteínas presente no requeijão, auxilia na interação proteína-água do meio, o que eventualmente ajuda a explicar o comportamento dos pulses em meio a matriz láctea no aumento em todos os parâmetros de textura do produto.

De acordo com Fernández-Quintela et al. (1997), as proteínas provenientes de fava apresentam maior capacidade de absorção de gordura quando comparado as

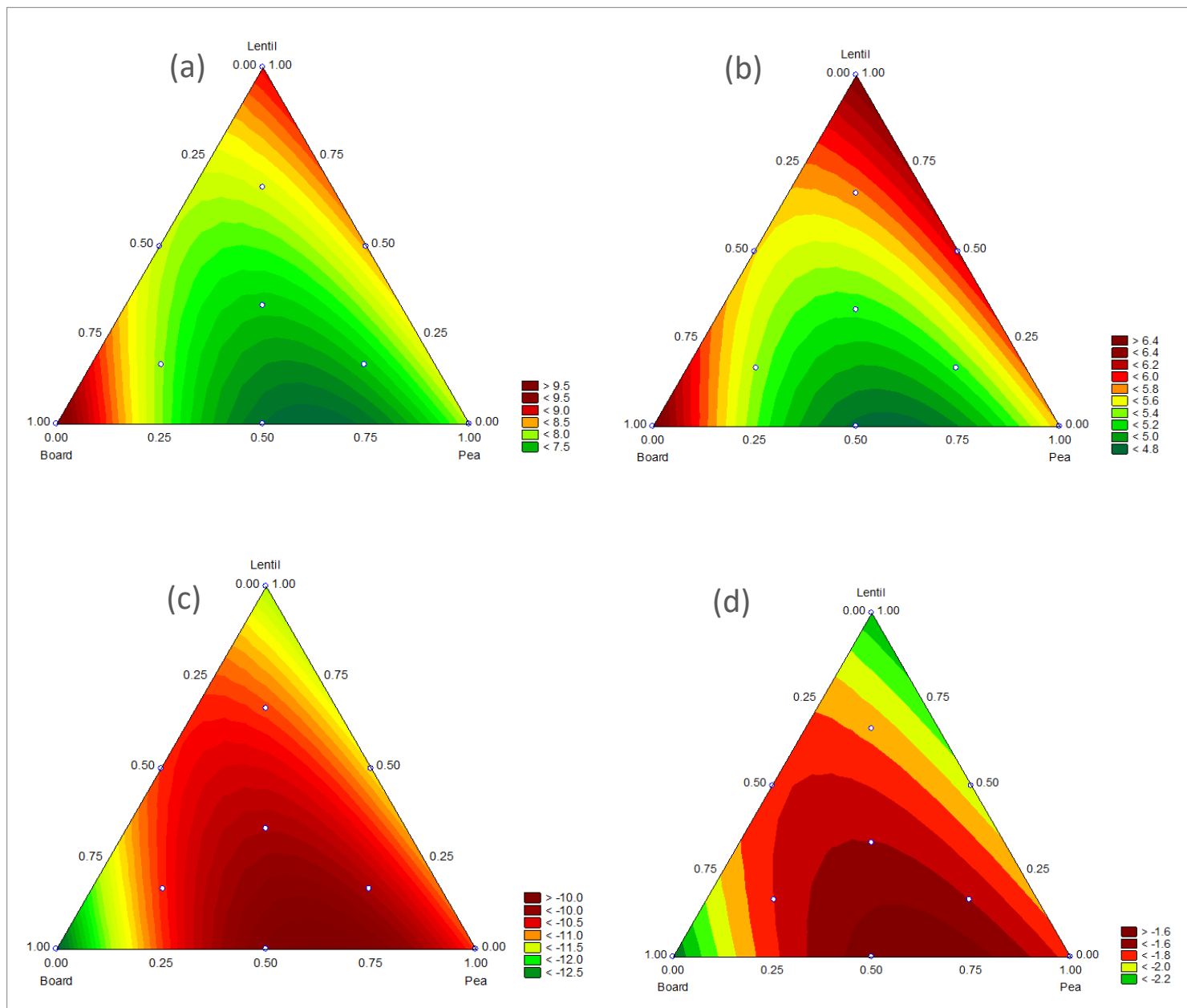
proteínas de ervilha. Esta observação pode auxiliar a explicar os menores valores de textura atrelados às formulações com maior concentração de ervilha, pois quando não há uma interação do grão de ervilha com a gordura, conseqüentemente este componente acaba permanecendo mais susceptível no meio e, de acordo com Van Dender (2014), a gordura é um fator que promove a redução da viscosidade no requeijão.

Além disso, de acordo com Boye et al. (2010) e Shevkani et al. (2019), foi observado uma similaridade entre o poder emulsificante dos pulses de fava, lentilha e ervilha. Tal semelhança pode sustentar a hipótese de que as diferenças entre as formulações com e sem adição de pulses devem estar atreladas à interação das proteínas das leguminosas com a proteína do leite e os demais ingredientes da formulação.

As diferenças observadas nos efeitos das proteínas de cada leguminosa, bem como as interações pulse-pulse e pulse-caseína, podem estar atreladas à composição específica de cada proteína vegetal. Sendo assim, todos estes fatores devem ser mais bem analisados a fim de obter um entendimento mais completo da ação dos pulses sobre os produtos lácteos.

Uma análise de superfície de resposta (Figura 21) foi realizada para cada modelo experimental estudado do planejamento centroide simplex aplicado a otimização das proporções das misturas de pulses, em que se utilizou uma representação gráfica de planejamento de mistura ternária. Nota-se que para o atributo de firmeza, trabalhando com a opção de proteína vegetal de ervilha, baixos índices de textura são obtidos. No entanto, quando a matriz láctea (formulação de requeijão) está associada as proteínas de lentilha e fava, os valores tendem a ser superiores. Também se observou que a proteína de ervilha pura, promoveu resultados menos eficientes para pegajosidade e adesão. Além disso, misturas binárias compostas por fava e ervilha, também promoveram resultados menos expressivos nestes atributos.

Figure 21 – Curva de contorno para as variáveis (a) firmeza, (b) força de cisalhamento, (c) pegajosidade e (d) adesão.



Fonte: Autor, 2021.

Os principais impactos com a aplicação de proteínas de pulses no produto, permaneceram nos resultados de textura, em que se observou que todos os atributos avaliados (firmeza, cisalhamento, espalhabilidade e adesividade) indicaram um aumento significativo. A viscosidade também foi outro parâmetro analítico que permaneceu superior ao teste sem as proteínas vegetais. Sendo assim, pressupõe-se que essas

alterações estão intimamente ligadas ao aumento da quantidade de aminoácidos polares, que possivelmente afetam a matriz proteica com água e a gordura do produto. Além disso, outra causa provável, pode estar relacionada ao intumescimento dos grânulos de amidos que estão eventualmente presentes na composição dos pulses. Este efeito ocorre basicamente em virtude do emprego de calor e água disponível no meio, em que a estrutura cristalina dos grânulos é rompida devido à quebra das ligações de hidrogênio, o que conseqüentemente auxilia as moléculas de água a se ligarem com os grupos hidroxilas de amilose e amilopectina (ALMEIDA, 2012). As condições de processamento também podem ter influência neste contexto, uma vez que alterações no pH, força iônica, temperatura e alta agitação (cisalhamento), contribuem para a alteração das características das proteínas, influenciando principalmente a textura e viscosidade nos resultados finais.

4.2.1.2 Viscosidade e cor

Considerando as avaliações de viscosidade (Tabela 21), observou-se que os diferentes ensaios apresentaram comportamentos distintos, sendo o produto obtido pelo teste 4 com o valor mais próximo ao padrão. Além disso, os maiores valores estavam atrelados às formulações com maior concentração de lentilha. Entretanto, percebeu-se que o teste com a aplicação isolada de fava também apresentou um valor relativamente superior. De forma geral, todas as formulações testes resultaram em valores superiores à amostra padrão com um aumento médio de 54%. Destaque para os produtos obtidos pelos testes 1, 3 e 6 que apresentaram os maiores resultados com 74300cP (fava), 76767cP (lentilha) e 77700cP (mistura de ervilha e lentilha) respectivamente.

Para as avaliações de cor realizadas por meio da análise de espectrofotômetro, a Tabela 21 indica que todos os resultados para o parâmetro “L” (luminosidade), não apresentaram diferença significativa para todos os testes. No entanto, para o parâmetro “a”, correspondente às coordenadas vermelho/verde, percebeu-se uma grande diferença entre os resultados das formulações. O aumento da concentração de proteína de ervilha aumentou a coloração vermelha, enquanto que o acréscimo de pulse base fava aumentou a cor verde. Neste atributo, observa-se que o teste Padrão permaneceu com

a coloração verde mais intensa ($a = -0,94$). A adição das proteínas vegetais (pulses) nas formulações de requeijão, modificou em sua grande maioria a intensidade de coloração do produto para vermelho, sendo o teste 2, com a inclusão de pulse de ervilha, a mais influente para o aumento da coloração vermelha.

Em relação ao parâmetro “b” (coordenada amarelo/azul), observou-se que todos os coeficientes apresentaram resultados superiores ao teste Padrão, indicando que a aplicação dos pulses intensificou a coloração amarela no produto. Os testes com as proteínas de ervilha foram os que apresentaram maior intensidade da cor amarela. Portanto, estas diferenças percebidas, com base nos resultados analíticos gerados, precisam ser avaliados com cautela do ponto de vista industrial, pois estes parâmetros podem influenciar diretamente a aceitação do produto por parte dos consumidores.

Tabela 21: Efeitos nos parâmetros de cor e viscosidade para avaliar a porcentagem de substituição de proteína láctea por proteínas vegetais (Pulses) nos protótipos de requeijão cremoso.

Testes	Fava	Ervilha	Lentilha	L	a	b	Viscosidade (cP)
Padrão*	-	-	-	85,478 a	-0,9400 g	15,588 f	44000 e
T1	25% (1)	0% (0)	0% (0)	84,407 a	-0,7067 f	19,158 cde	74300 ab
T2	0% (0)	25% (1)	0% (0)	84,503 a	0,7067 a	22,101 a	62633 cd
T3	0% (0)	0% (0)	25% (1)	84,455 a	0,1717 cd	19,652 c	76767 a
T4	12,5% (1/2)	12,5% (1/2)	0% (0)	84,363 a	0,0533 d	20,365 b	54100 d
T5	12,5% (1/2)	0% (0)	12,5% (1/2)	84,470 a	-0,2083 e	19,033 de	69800 abc
T6	0% (0)	12,5% (1/2)	12,5% (1/2)	86,097 a	0,5083 ab	20,413 b	77700 a
T7	16,6% (2/3)	4,2% (1/6)	4,2% (1/6)	83,920 a	-0,2983 e	18,748 e	68967 abc
T8	4,2% (1/6)	16,6% (2/3)	4,2% (1/6)	84,178 a	0,3333 bc	20,385 b	62700 cd
T9	4,2% (1/6)	4,2% (1/6)	16,6% (2/3)	83,068 a	0,0450 d	19,042 de	65767 bc
T10	8,33% (1/3)	8,33% (1/3)	8,33% (1/3)	84,002 a	0,0500 d	19,573 cd	65433 bc
T11	8,33% (1/3)	8,33% (1/3)	8,33% (1/3)	84,767 a	0,1250 cd	19,343 cd	68833 abc
T12	8,33% (1/3)	8,33% (1/3)	8,33% (1/3)	84,462 a	0,0933 d	19,372 cd	70700 abc
valor-p	-	-	-	0,243	0,000	0,000	0,000

*Padrão = requeijão cremoso sem a adição de proteínas vegetais.

L = Luminosidade; a = Coordenada vermelho/verde (+a indica vermelho e -a indica verde); b = Coordenada amarelo/azul (+b indica amarelo e -b indica azul).

Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

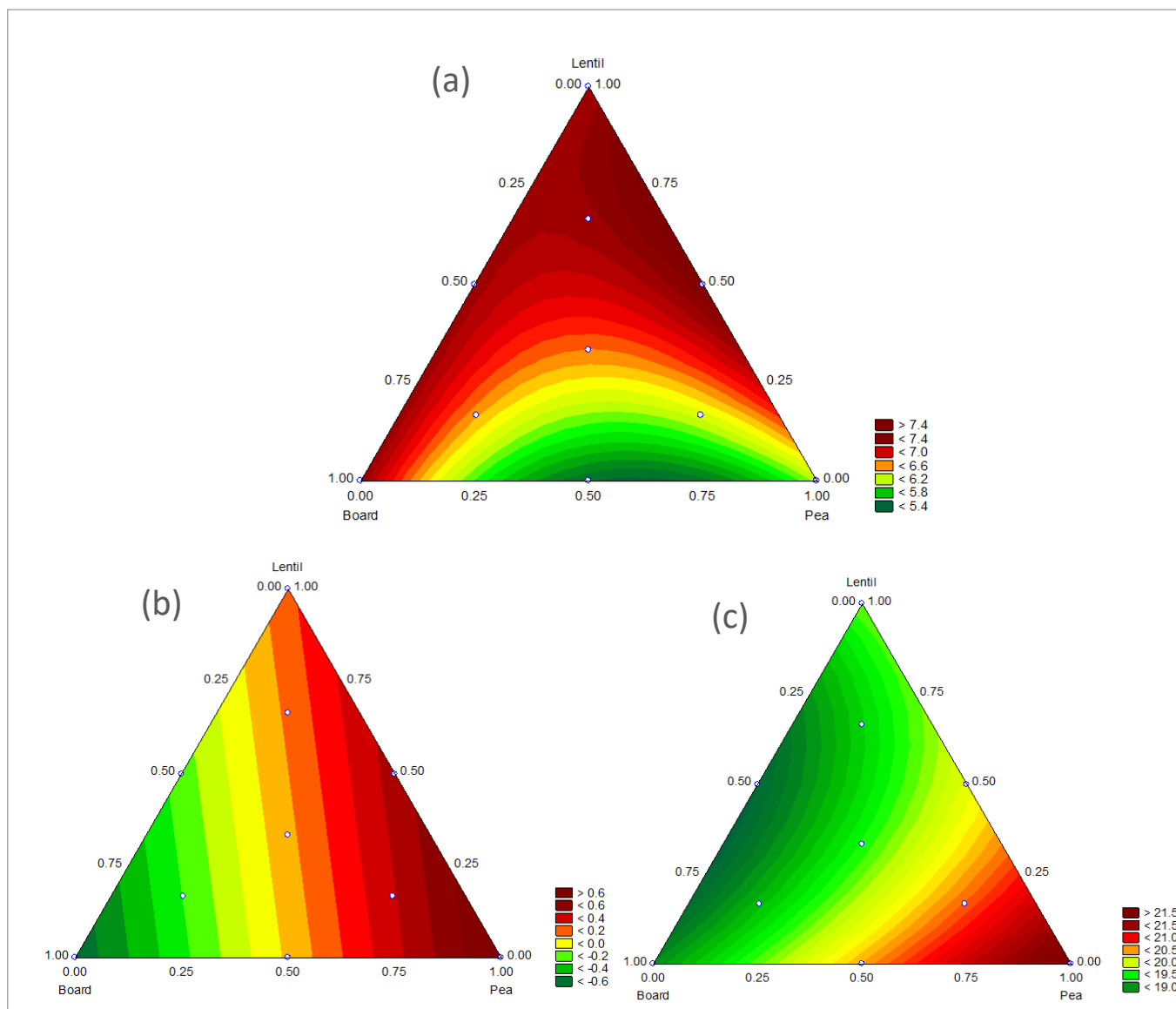
Fonte: Autor, 2021.

Para esta categoria de produtos, percebe-se que frequentemente os requeijões disponíveis no mercado brasileiro apresentam uma coloração mais branca. Deste modo, é importante avaliar se os produtos com a intensidade de cor mais próxima ao amarelo, poderão impactar na aceitação sensorial do produto. Baseado nos resultados obtidos no presente estudo, observou-se que houve um aumento médio de 26,8% da cor amarela em relação ao produto padrão sem a inclusão de proteínas de pulse.

De acordo com Cunha et al. (2010), um estudo relacionado a substituição de 25 e 50% de gordura láctea por gordura vegetal hidrogenada, indicou que os testes com 50% de substituição de gordura apresentaram resultados menores de coloração amarela e, conseqüentemente proporcionou maior aceitação sensorial com a aplicação de testes com consumidores. Sendo assim, para esta categoria de produto, este parâmetro de cor ("b"), pode proporcionar efeitos na aceitação dos consumidores para este tipo de produto.

Também foi realizada uma análise de superfície de resposta (Figura 22) considerando o mesmo princípio básico determinado para os gráficos da Figura 21 anteriormente, em que foi possível perceber que do ponto de vista para viscosidade, os pontos indicados nas extremidades do triângulo, ressaltam que trabalhando com a proteína vegetal base lentilha, houve um aumento nos valores de viscosidade, enquanto que para a fração binária entre as misturas de ervilha e fava, o resultado foi menor. Outro fato relevante observado nos gráficos de superfície de resposta, é em relação às coordenadas "a" e "b" de coloração, sendo a coordenada "b" talvez a mais importante para o produto. Tal coordenada define o conceito de intensidade amarela/azul dentro do espaço de cor. Sendo que quanto maior o valor de "b", mais intenso será a propagação da cor amarela. Portanto, o gráfico (Figura 22 – c) indica que trabalhando com a aplicação de proteína de ervilha, o produto posteriormente terá uma coloração mais intensa amarela. Para a categoria de produto em questão (requeijão cremoso), esta característica atrelada à coloração amarela, pode não ser benéfica para o produto, pois em sua grande maioria, os produtos de mercado atualmente apresentam coloração branca e/ou levemente amarelada.

Figura 22 – Curva de contorno para as variáveis (a) viscosidade, (b) cor a, (c) cor b.



Fonte: Autor, 2021.

As propriedades funcionais do requeijão cremoso dependem de vários fatores, como, por exemplo, condições de processamento, pH do produto final, temperatura de fusão, características das proteínas lácteas, teor de gordura, entre outros. Observou-se neste estudo, por meio das análises instrumentais, que a inclusão de proteínas vegetais proveniente de leguminosas, impactaram de forma relevante os atributos básicos avaliados. Todos os parâmetros de processamento, bem como os insumos utilizados nas

formulações, foram mantidos constantes, sendo as únicas variações a adição das diferentes fontes de pulses.

4.2.2 Análises físico-químicas

Em relação aos resultados obtidos para as análises físico-químicas (Tabela 22), observou-se que apesar da utilização de ácido láctico como agente regulador de acidez em todas as formulações, os valores de pH apresentaram pequenas variações, sendo o menor valor de 5,77 e o maior de 5,93. De acordo com Van Dender (2014), os resultados adquiridos de pH estão coerentes com a faixa de valores para esta categoria de produto, que varia entre 5,7 a 6,0.

Para os resultados de umidade, praticamente todas as formulações se mantiveram com valores muito semelhantes. No entanto, observa-se que a fórmula padrão (sem proteína vegetal), apresentou a maior umidade entre os testes. Além disso, a mistura dos pulses proporcionou uma umidade superior aos demais testes com as proteínas aplicadas isoladamente. No presente estudo, pode-se perceber que a diminuição da umidade no produto final, foi inversamente proporcional aos atributos de viscosidade e textura, ou seja, quanto menor a quantidade de água no produto, maiores são os valores de viscosidade e textura em todos os atributos avaliados (firmeza, tensão de cisalhamento, espalhabilidade e adesividade). De acordo com Silva et al. (2012), o aumento do teor de umidade em queijos tipo light é um fator que compensa eventualmente a redução do teor de gordura no produto final, pois promove a dissolução da matriz proteica, compensando o aumento da viscosidade ocasionado pela redução da gordura.

Em virtude da padronização de ingredientes adotada neste estudo, os teores de proteína e gordura foram relativamente semelhantes. No entanto, em relação à gordura, apesar das formulações terem sido devidamente controladas a fim de manter os valores nutricionais iguais para todos os testes, a Tabela 22 mostra que o produto obtido pelo teste padrão permaneceu sendo a formulação com menor índice de gordura com 22,18 g/100g. Resultado que talvez possa ser explicado devido aos valores nutricionais de cada ingrediente que foi eventualmente substituído nas formulações, pois considerando os

insumos de proteína concentrada de leite, proteína vegetal de fava, lentilha e ervilha, os dados nutricionais para gordura são respectivamente 1,2g, 3,7g, 4,2g e 4,3g. Portanto, pressupõe que esta variabilidade entre as matérias-primas pode ter influência direta na composição nutricional final do produto.

Por fim, em relação aos resultados obtidos para gordura no extrato seco (GES), todos os resultados atenderam o valor mínimo de 55g/100g conforme prevê a Portaria MA-359, de 04/09/1997.

Tabela 22: Efeitos nos parâmetros físico-químico para avaliar a porcentagem de substituição de proteína láctea por proteínas vegetais (Pulses) nos protótipos de requeijão cremoso.

Testes	Fava	Ervilha	Lentilha	pH	Umidade (%)	Proteína (g/100g)	Gordura (g/100g)	EST	GES
Padrão*	-	-	-	5,93	59,77	9,80	22,18	40,23	55,13
T1	25% (1)	0% (0)	0% (0)	5,84	59,06	9,06	25,35	40,94	61,92
T2	0% (0)	25% (1)	0% (0)	5,84	59,29	9,39	25,52	40,71	62,69
T3	0% (0)	0% (0)	25% (1)	5,84	58,95	9,41	23,95	41,05	58,34
T4	12,5% (1/2)	12,5% (1/2)	0% (0)	5,86	59,32	9,74	25,87	40,67	63,61
T5	12,5% (1/2)	0% (0)	12,5% (1/2)	5,83	59,43	9,19	24,79	40,57	61,60
T6	0% (0)	12,5% (1/2)	12,5% (1/2)	5,85	58,82	9,90	26,06	41,18	63,28
T7	16,6% (2/3)	4,2% (1/6)	4,2% (1/6)	5,77	59,35	9,53	26,56	40,65	65,34
T8	4,2% (1/6)	16,6% (2/3)	4,2% (1/6)	5,80	59,18	9,28	25,04	40,82	61,34
T9	4,2% (1/6)	4,2% (1/6)	16,6% (2/3)	5,81	59,34	9,56	25,19	40,65	61,97
T10	8,33% (1/3)	8,33% (1/3)	8,33% (1/3)	5,82	59,44	9,65	24,02	40,56	59,22
T11	8,33% (1/3)	8,33% (1/3)	8,33% (1/3)	5,86	59,38	9,30	23,67	40,62	58,27
T12	8,33% (1/3)	8,33% (1/3)	8,33% (1/3)	5,84	59,28	9,47	24,00	40,71	58,95

*Padrão = requeijão cremoso sem a adição de proteínas vegetais.

** EST = extrato seco total

Fonte: Autor, 2021.

4.2.3 Análise sensorial

Conforme apresentado em material e métodos, os testes foram realizados empregando-se um teste de consumidor com 63 provadores não treinados. O objetivo da avaliação sensorial foi avaliar três diferentes amostras: Padrão, T1 e T4.

A amostra padrão permaneceu unicamente com a inclusão de proteína de origem láctea (proteína concentrada de leite), enquanto os testes 1 e 4 havia uma substituição

total de 25% de proteína láctea por proteína vegetal. Sendo o primeiro com proteína de fava apenas e, o segundo, com uma mistura de fava e ervilha, na proporção de 12,5% para cada proteína.

A Tabela 23 apresenta o perfil dos consumidores que participaram da avaliação sensorial. É possível observar que os participantes foram caracterizados em sua maioria pelo sexo feminino com 52% dos provadores. A faixa etária mais abundante foi entre 45-59 anos correspondendo a 38% dos participantes, seguido de consumidores entre 35-44 anos (26%), 25-34 anos (22%), 18-24 anos (11%) e acima de 59 anos (3%).

Tabela 23: Perfil dos participantes do teste sensorial de consumidor para amostras de requeijão cremoso com proteínas vegetais (pulses).

Perfil dos participantes		%
Sexo	Feminino	52
	Masculino	48
Faixa etária	18-24	11
	25-34	22
	35-44	26
	45-59	38
	+59	3
Atividade	Pesquisa de mercado (outros)	38
	Mídia, TV, Rádio, imprensa	3
	Fabricação, marketing e distribuição de alimentos ou bebidas	18
	Ensino, centro de pesquisa, universidades	32
	Varejo	6
Escolaridade	Setor automotivo	3
	Incompleto	2
	Fundamental I	3
	Fundamental II	0
	Médio incompleto	3
	Médio completo	24
	Superior incompleto	6
	Superior completo	22
	Pós-graduação incompleto	2
Pós graduação completo	38	
Renda	Até 1 salário mínimo	6
	2-5 salários mínimos	44
	6-10 salários mínimos	32
	11-15 salários mínimos	16
	Acima de 15 salários mínimos	2

Fonte: Autor, 2021.

Além das informações de perfil dos participantes, a Tabela 24 indica quando foi a última compra de requeijão cremoso pelos consumidores. Verificou-se que 44% dos provadores declararam que a última compra do produto ocorreu na semana atual da degustação. Em relação a frequência de compra, 29% afirmaram que compram o produto entre 1-3 vezes por semana. No entanto, outro grupo de consumidores (22%) asseguraram que fazem a aquisição em média 2 vezes ao mês.

Tabela 24: Perfil de compra de requeijão cremoso dos participantes.

Perfil de compra dos participantes		%
Última compra de requeijão	Na semana atual	44
	Na semana passada	13
	Nas últimas 2-3 semanas	18
	No último mês	6
	Nos últimos três meses	19
Frequência de compra	Diariamente	16
	4-6 vezes por semana	11
	1-3 vezes por semana	29
	2 vezes por mês	22
	1 vez por mês	8
	Raramente	14

Fonte: Autor, 2021.

4.2.3.1 Escala JAR (Just-About-Right) de avaliação

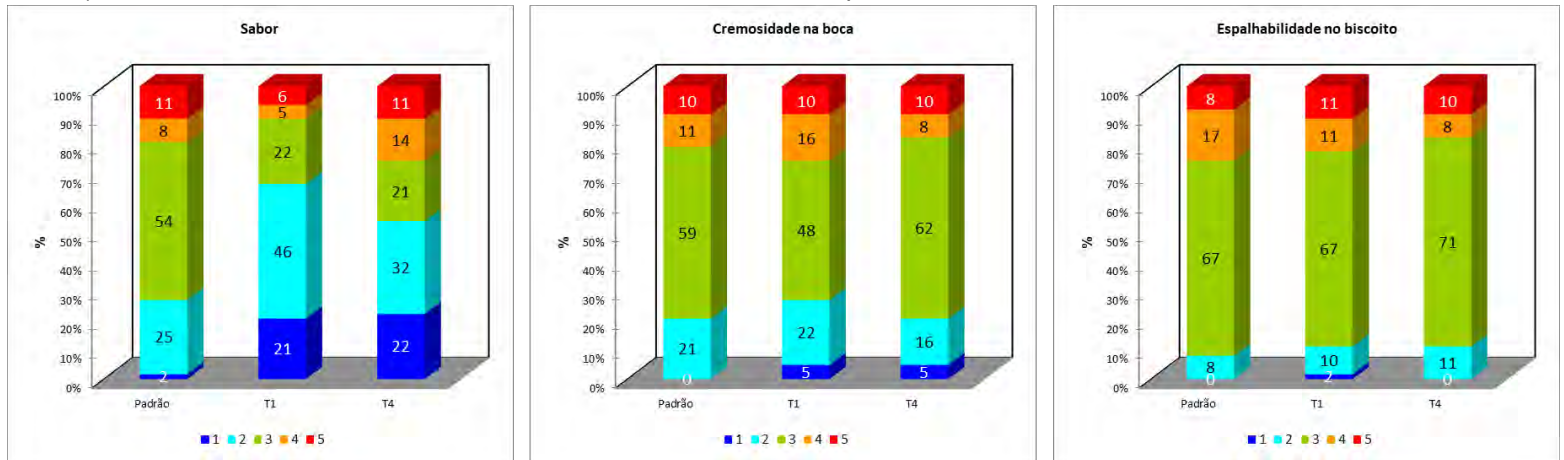
Para a avaliação dos atributos sensoriais de sabor típico de requeijão, cremosidade na boca e espalhabilidade no biscoito, utilizou-se a escala JAR (Just-About-Right) de avaliação conforme mencionado na seção 3.2.5, em que avaliou-se os atributos de sabor típico de requeijão, cremosidade e espalhabilidade. Tal escala é frequentemente utilizada na literatura para medir a intensidade específica dos atributos que podem afetar a aceitação do produto.

A Figura 23 apresenta os resultados obtidos considerando as avaliações com a escala hedônica de cinco pontos, em que o nível central (nº3) corresponde àquele classificado pelo consumidor como sendo o produto "do jeito que o consumidor gosta". Portanto, em relação ao sabor, observou-se que o teste padrão obteve a maior porcentagem (54%) de consumidores afirmaram que o produto está exatamente do jeito

que eles gostam. Na sequência, em ordem decrescente, foram caracterizados os testes 1 (proteína de fava) e 4 (mistura de fava e ervilha), com resultados inferiores neste quesito, com valores de 22 e 21% respectivamente. Verificou-se, desta forma, que a maioria dos consumidores caracterizou as amostras T1 e T4, como produtos com menor sabor típico de requeijão. Este fato que pode estar relacionado com a inclusão do aroma aplicado nos protótipos, ou seja, a escolha e o tipo de perfil aromático para os produtos podem interferir de forma negativa na aceitação do produto para este atributo de sabor. Além disso, a aplicação de insumos vegetais em produtos lácteos, pode também conferir ao produto final residuais de sabor indesejáveis. Deste modo, é de suma importância a realização minuciosa de testes futuros, combinando de forma mais assertiva a base proteica vegetal com a escolha dos aromas, a fim de melhorar este parâmetro sensorial.

Para a cremosidade na boca, a Figura 23 também apresenta os resultados obtidos na avaliação sensorial, em que se observou que o teste 4 permaneceu sendo a amostra com maior aceitação para o nível 3 (“do jeito que eu gosto”) com 62%, seguido do padrão com 59% e teste 1 com 48%. Além disso, é possível perceber que o T4 para o atributo sensorial de espalhabilidade também permaneceu sendo o protótipo com a maior aceitabilidade (71%). No entanto, a amostra T1 também apresentou bom resultado para este parâmetro, proporcionando o mesmo percentual em relação ao padrão com 67%. Sendo assim, apesar dos resultados das avaliações instrumentais (textura e viscosidade) terem permanecido superiores ao padrão (conforme demonstrado nas Tabelas 20 e 21), estes não interferiram de forma negativa para os produtos, ao contrário, a adição das proteínas vegetais na matriz requeijão aumentou positivamente a contribuição sensorial para o produto, de forma a atender às expectativas do consumidor.

Figura 23: Resultados da avaliação sensorial para os testes Padrão, T1 (proteína de fava) e T4 (mistura de proteína de fava e ervilha) considerando os atributos de sabor, cremosidade na boca e espalhabilidade no biscoito.



Fonte: Autor, 2021.

De acordo com Ares e. al. (2014), a escala JAR de avaliação tem sido uma das formas mais simples e efetiva para abordagens sensoriais com consumidores, com o propósito de avaliar as informações sobre a intensidade ótima dos atributos sensoriais de um produto. Assim, o teste JAR segue atrelado aos desvios sensoriais indicando sua intensidade como sendo insuficiente (nº1 e 2 na escala), ideal-JAR (nº3) ou muito forte/acima do esperado (nº4 e 5). Os níveis dos extremos dentro da escala (insuficiente e muito forte), são considerados fatores de penalidade para a avaliação final. Entende-se por análise de penalidade a queda na preferência geral do produto associado a um desvio do ideal.

Portanto, em complemento para as avaliações destacadas anteriormente na Figura 23, a Tabela 25 apresenta as penalidades vinculadas às frequências de atribuições apresentadas pelos consumidores (63 no total) e as respectivas porcentagens considerando os três níveis extremos da escala sensorial. Observou-se que para o atributo de sabor, apenas 13 e 14 consumidores avaliaram o produto como sendo o ideal nesta aceitação para os testes T4 e T1 respectivamente, ou seja, mais de 78% dos participantes preferiram a amostra padrão como produto idealmente mais aceito nesta característica.

Para aspectos de cremosidade e espalhabilidade, observou-se que os consumidores apontaram a amostra T4 (mistura de proteína vegetal de fava e ervilha)

como sendo o produto ideal para estes atributos, sendo caracterizado por 39 e 45 consumidores respectivamente. Tal resultado corresponde aproximadamente 62% dos consumidores para cremosidade e 71,5% para espalhabilidade no biscoito.

A Tabela 25 também destaca os resultados dos efeitos na média. Este fator é de extrema relevância, pois permite avaliar quantos pontos aquele resultado impactou na média de aceitação do nível JAR. Quanto mais próximo de zero ou negativo for o resultado, menor será este impacto.

Tabela 25: Resultados das penalidades (desvio) em relação as avaliações do JAR.

Variável	Nível	Padrão			T1			T4		
		F*	%	Efeitos na média	F*	%	Efeitos na média	F*	%	Efeitos na média
Sabor	Sabor de requeijão insuficiente	17	26,98	1,294	42	66,67	1,310	34	53,97	2,258
	JAR	34	53,97	-	14	22,22	-	13	20,63	-
	Sabor de requeijão demais	12	19,05	-1,01	7	11,11	0,714	16	25,40	-0,279
Cremosidade na boca	Cremosidade insuficiente	13	20,63	0,622	17	26,98	2,351	13	20,63	1,333
	JAR	37	58,73	-	30	47,62	-	39	61,90	-
	Cremosidade demais	13	20,63	-0,840	16	25,40	1,046	11	17,46	0,298
Espalhabilidade no biscoito	Espalhabilidade insuficiente	5	7,94	1,243	7	11,11	2,500	7	11,11	2,295
	JAR	42	66,67	-	42	66,67	-	45	71,43	-
	Espalhabilidade demais	16	25,40	-0,482	14	22,22	-0,500	11	17,46	-0,497

* F= Frequência (quantidade de consumidores).

Fonte: Autor, 2021.

Para um melhor entendimento sobre as penalidades, a Figura 24 apresenta os gráficos em que é possível perceber a porcentagem dos consumidores em virtude dos efeitos na média, considerando o *Threshold* (limite aceitável) de 20%.

Segundo Ares et al. (2014), um treshhold de 20% de consumidores é o percentual recomendado para a análise de penalidade do teste. Abaixo deste valor, trata-se de uma porção muito pequena de provadores que penalizaram aquele atributo comparado aos 80% restantes dos consumidores. Portanto, apenas a partir deste valor de 20%, considera-se expressivamente interessante se atentar para as possíveis adequações na formulação para melhoria do nível JAR.

Conforme representado no gráfico (Figura 24), observou-se que no teste padrão, o sabor insuficiente foi a principal penalidade que conseqüentemente apresentou maior

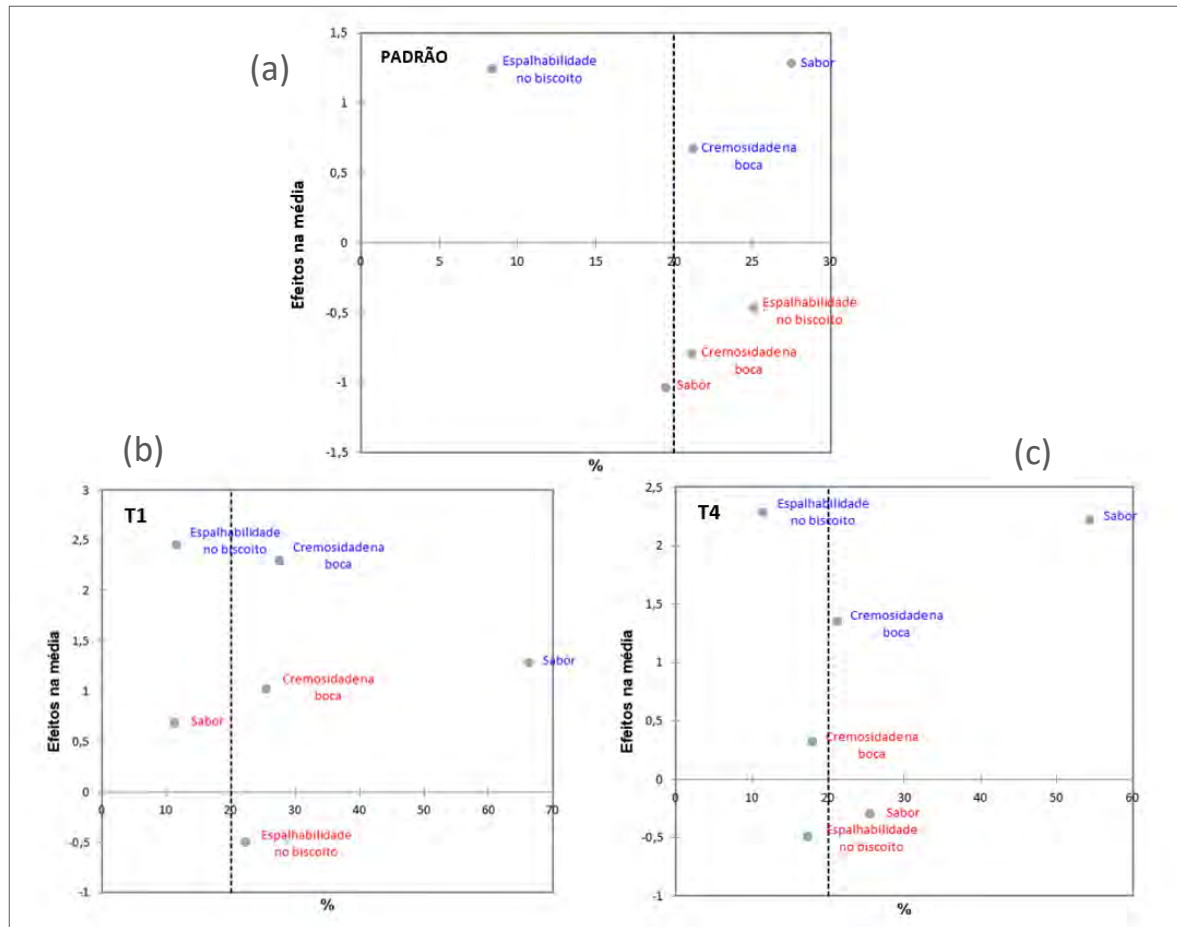
impacto, contribuindo com 1,294 pontos para 26,98% dos consumidores. Observou-se também que a falta de espalhabilidade afetou 1,243 pontos o nível ideal de aceitação, porém, como se trata de uma porcentagem muito baixa de consumidores (7,94%), não seria aconselhável realizar alterações no produto para este atributo em específico.

Para a amostra T1 observou-se que a falta de cremosidade teve um impacto maior com 2,351 pontos para quase 27% dos consumidores. No entanto, apesar da pontuação ter sido razoavelmente baixa para sabor insuficiente (1,310), a quantidade de participantes para este item foi alta com mais de 66% dos participantes. Portanto, neste caso, não se pode ignorar o fato da penalidade resultar em uma pontuação inferior aos demais atributos com características de níveis insuficientes.

Em relação a amostra T4, nota-se que para sabor insuficiente, o resultado do efeito na média permaneceu superior em relação as demais amostras com resultado de 2,258 pontos para aproximadamente 54% dos consumidores.

Por fim, os gráficos da Figura 24 destacaram que os pontos mais discrepantes e que eventualmente mais impactaram no nível ideal das avaliações, estão fortemente atrelados ao sabor insuficiente, em que ambos os testes 1 e 4 apresentaram uma participação dos consumidores com aproximadamente 67 e 54% respectivamente. Este fato indica com clareza que o sabor do produto final interferiu negativamente no contexto geral da avaliação.

Figura 24: Resultados dos efeitos na média para as amostras padrão (a), teste 1 (b) e teste 4 (c), considerando o efeito na média (gerado por meio das penalidades dos níveis extremos da escala) em função da porcentagem baseado na frequência dos resultados obtidos pelos consumidores.



Fonte: Autor, 2021.

4.2.3.2 Teste de Kolmogorov-Smirnov

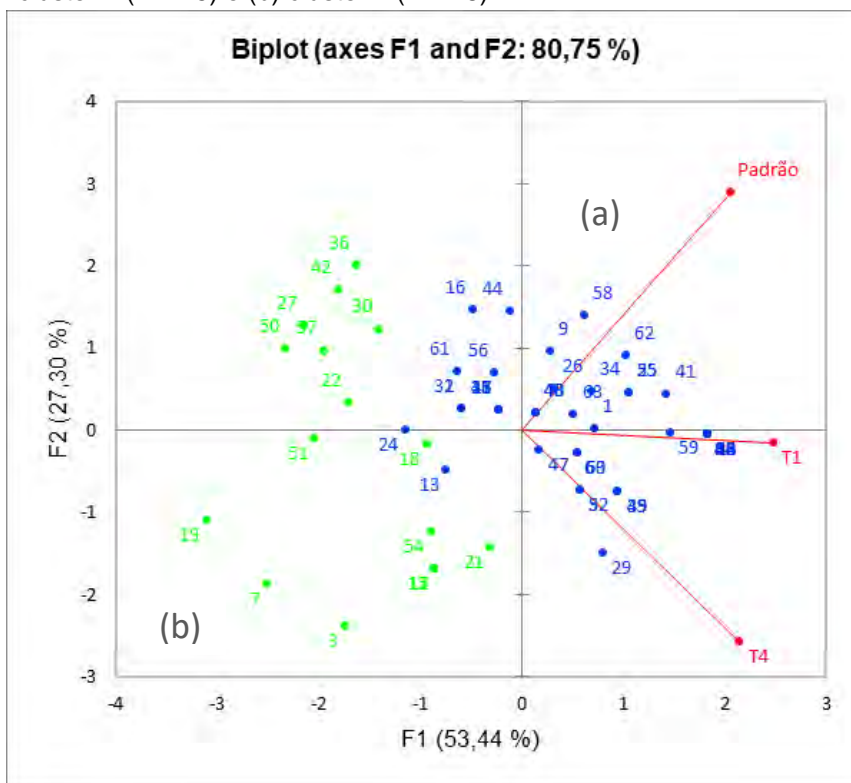
O teste de *K-S* foi aplicado para os dados dos atributos de aparência, cheiro, sabor, consistência e maneira geral (teste de aceitação com escala hedônica de 9 pontos) com o objetivo de avaliar o ajuste à distribuição normal, em que os *p*-valores e seus resultados foram, <0,0001, 0,009 e 0,017 para as amostras Padrão, T1 e T4 respectivamente. Sendo assim, notou-se que a distribuição dos dados não seguiu uma distribuição normal, pois em todas as amostras o *p*-valor permaneceu <0,05. Portanto, sendo necessário rejeitar a hipótese nula H_0 .

4.2.3.3 Análise de Componentes Principais (ACP)

Por meio da inclusão da análise de variância (ANOVA) por clusters, foi possível avaliar os agrupamentos com base na similaridade da aceitação dos produtos.

A Figura 25 apresenta os dois clusters (grupos de consumidores) em que é possível observar que foram gerados dois grupos distintos, clusters 1 e 2, com 45 e 18 consumidores respectivamente. Tais grupos de clusters, se baseiam referente aos dados sobre os atributos de aceitação da escala hedônica de 9 pontos (Tabela 18 – a). Além disso, o gráfico indica o quanto as amostras (Padrão, T1 e T4) estão próximas (similares) uma das outras. Portanto, observou-se no gráfico que as amostras correspondentes aos testes 1 e 4, permaneceram similares entre si, diferindo da amostra padrão. No entanto, nota-se que graficamente a amostra T1 se manteve mais próxima ao Padrão do que o teste 4. Ainda, os resultados obtidos por meio do teste de ACP, apresenta uma quantidade de informação retida na Figura 29 de aproximadamente 81%, ou seja, pouco mais de 20% atribuído para informações perdidas ou, que tenham variância pequena. Em outras palavras, de acordo com Rencher (2002), os eixos x e y (F1 e F2 respectivamente) correspondem aos dois componentes principais ACP, totalizando um percentual de informação retida no gráfico de 80,75%. Tal informação define o conceito de uma boa aceitabilidade na explicação dos resultados. Além disso, um mínimo de 70% deve ser explicado pelos dois componentes principais F1 e F2.

Figura 25: Representação das amostras do produto ideal considerando dois segmentos de consumidores distintos identificados como: (a) cluster 1 (n = 45) e (b) cluster 2 (n = 18).



*Grupo de cluster 1 identificado com a coloração azul; Cluster 2 identificado com a cor verde.

Fonte: Autor, 2021.

Além das avaliações anteriormente realizadas, diferenças significativas entre os clusters foram identificadas conforme mostrado na Tabela 26. Nota-se que houve diferença significativa apenas no agrupamento de consumidores (45) do cluster 1 para aceitação global, aparência e cheiro, em que os resultados demonstraram um p-valor $<0,05$. No entanto, observou-se que para o grupo de consumidores caracterizado como cluster 2, os resultados indicaram que não houve diferença significativa entre os atributos avaliados.

Tabela 26: Avaliação do teste de variância (ANOVA) para identificação de diferenças significativas entre aos atributos de aceitação para aceitação global, aparência, cheiro, sabor e consistência.

	CLUSTER 1					CLUSTER 2				
	Aceitação global	Aparência	Cheiro	Sabor	Consistência	Aceitação global	Aparência	Cheiro	Sabor	Consistência
Padrão	8,326 a	7,935 a	7,717 a	4,478 a	4,413 a	7,750 a	7,438 a	6,875 a	5,500 a	5,563 a
T4	7,391 b	6,652 b	6,152 b	3,717 a	4,522 a	7,063 a	7,438 a	7,313 a	4,563 a	4,688 a
T1	7,261 b	6,565 b	6,065 b	3,478 a	4,522 a	6,625 a	6,875 a	6,625 a	3,875 a	4,750 a
p-valor	0,000	0,001	0,000	0,166	0,974	0,114	0,479	0,508	0,170	0,512

Para a interpretação da tabela, os resultados com as mesmas letras na mesma coluna, indicam que não há diferença significativa de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Autor, 2021.

Por fim, a Tabela 27 apresenta a intenção de compra de cada amostra apresentada na avaliação sensorial, em que se observou que o teste padrão foi o produto que os consumidores certamente mais comprariam, com resultado de 52%. No entanto, a provável compra das mostras 1 e 4 permaneceu similar ao teste padrão com 30 e 27% respectivamente comparado aos 29% de aceitação para o padrão sem a as proteínas vegetais.

Tabela 27: Resultados obtidos para avaliação de intensão de compra dos produtos realizada no teste sensorial.

Amostras	Certamente não compraria (%)	Provavelmente não compraria (%)	Talvez comprasse /talvez não comprasse (%)	Provavelmente compraria (%)	Certamente compraria (%)
Padrão	0	6	13	29	52
T1	13	21	14	30	22
T4	10	14	22	27	27

Fonte: Autor, 2021.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O atual estudo representa uma contribuição à literatura em que envolveu o conceito de aplicação de proteínas vegetais oriundas de leguminosas (denominadas pulses) em requeijão cremoso (produto tipicamente brasileiro).

Com base no direcionamento dos resultados preliminares obtidos, conclui-se que o processo de produção de requeijão cremoso requer algumas particularidades indispensáveis, sobretudo, no que diz respeito a formação de emulsão, podendo ser caracterizada visualmente pelo desenvolvimento de pequenos grumos no produto. Fato atribuído a ineficiência empregada na velocidade constante de agitação do meio. A presença das diferentes fontes de reguladores de acidez no produto não interferiu no surgimento destes pequenos grumos. No entanto, pode-se perceber que a adição dos ácidos produziu redução da viscosidade do produto, na qual foi facilmente percebida durante o processo de manuseio do requeijão. Desta forma, com o intuito de garantir um produto mais consistente, seguindo os padrões de mercado, viu-se necessário a adição de alguns ingredientes na formulação, por exemplo, amidos, que auxiliaram no processo de ganho de viscosidade sem alterar quaisquer outras matérias-primas já empregadas no desenvolvimento do produto. A substituição parcial (10%) de proteína láctea por proteína vegetal (fava) no requeijão cremoso realizada inicialmente nos testes preliminares, não impactou de forma negativa nos aspectos de textura, brilho, espalhabilidade e cremosidade (durante o manuseio). Entretanto, foi possível perceber que a aplicação de pulses na formulação de requeijão interferiu no sabor do produto, deixando o mesmo com propriedades sensoriais de acordo com a proteína vegetal aplicada, com destaque para a fava que resultou em sabor mais pronunciado. No entanto, é possível ajustar o sabor do produto incluindo aromas de acordo com o perfil de sabor desejado com agentes mascaradores (ingredientes capazes de inibir residuais de proteínas vegetais). Tais ajustes devem vir acompanhados de testes de aceitação sensorial. Portanto, o uso alternativo da inclusão de proteína vegetal no produto mostrou-se técnica, com um grande potencial de resultados altamente satisfatórios de aplicação para produtos inovadores e saudáveis.

No presente estudo, após a conclusão dos testes preliminares e, sob o delineamento experimental de misturas realizado, mesmo considerando as variáveis encontradas nos resultados das análises, observou-se que os dados obtidos indicaram que a substituição de 25% de proteína láctea por proteína vegetal (ervilha, lentilha e fava), permite alcançar um produto com as mesmas características de um produto obtido somente com proteína de origem láctea, considerando os mesmos parâmetros de processo utilizados.

Com a inclusão de diferentes fontes de leguminosas avaliadas neste estudo, percebeu-se que o tipo de leguminosa tem impacto direto nas variações das propriedades do produto final.

Após as avaliações, concluiu-se que a utilização de proteína de ervilha alterou significativamente a coloração dos produtos deixando-os com a coloração amarela. A proteína de fava causou maiores alterações na textura. As misturas de proteínas vegetais não apresentaram grandes interações. No entanto, as misturas de fava e lentilha resultaram em um produto com maior aumento de umidade, enquanto a combinação de ervilha e lentilha diminuiu este parâmetro. Do ponto de vista nutricional, considerando o aporte proteico e teor de gordura no produto final, a adição das proteínas vegetais não interferiu negativamente nestes parâmetros. Todos os testes tiveram resultados de proteínas acima do esperado (9g/100g) e, atingindo o valor mínimo de GES de 55%.

Considerando os valores de cada insumo local e tarifas atuais, principalmente direcionadas para as proteínas vegetais, houve uma ligeira redução no custo final do produto, o que pode ser promissor dentro das indústrias alimentícias que eventualmente atendem uma demanda de volumes significativamente altas de acordo com a necessidade do mercado e região.

Além das avaliações físico-químicas e instrumentais, a avaliação sensorial realizada evidenciou que a interferência de sabor no produto, impactou expressivamente nos resultados obtidos, com uma maior aceitabilidade para o teste padrão, caracterizado com 54% dos provadores contra aproximadamente 22% para os demais testes com as proteínas vegetais. Portanto, pressupõe-se que a escolha do perfil de aroma, atrelada as características sensoriais das leguminosas pode de fato intervir de forma negativa na avaliação geral dos consumidores. Entretanto, vale ressaltar que do ponto de vista para

os atributos físicos, tais como, espalhabilidade e cremosidade, os testes permaneceram iguais ou melhores ao padrão. Sendo assim, percebe-se que a inclusão das proteínas vegetais para estes parâmetros não impactou de forma negativa.

Por fim, estudos mais avançados em relação à substituição de matérias-primas de origem animal por ingredientes vegetais, podem auxiliar na redução dos impactos quanto à sustentabilidade na produção de alimentos, sobretudo, quando se avalia as diversas qualidades funcionais, tecnológicas e nutricionais das proteínas proveniente de leguminosas. Do ponto de vista industrial, principalmente para questões de aplicação e desenvolvimento de novos produtos, é de suma importância entender o desempenho destas proteínas vinculadas a outras bases de produtos, sejam elas direcionadas para o segmento de lácteos, cárneos, panificação, bebidas, etc. Além disso, o estudo destes ingredientes também pode auxiliar na viabilização de novos meios de processamento primário de pulses, com o propósito de serem consumidos como alimentos básicos. Portanto, o estudo de toda a cadeia produtiva, bem como a aplicabilidade dos pulses em diversas categorias de produtos, pode agregar valores aos produtos desenvolvidos e induzir a comercialização de proteínas de leguminosas em diversas regiões, adotando padrões de qualidade cada vez mais rigorosos e promovendo a conscientização sobre os benefícios da utilização dos pulses. Sendo assim, a aceitação e a diversidade de utilização de outras fontes proteicas oriundas de vegetais podem abrir novas oportunidades de desenvolvimento e atender as demandas e novas tendências de mercado.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, E. C. **Amido modificado de Taro (*Colocasia esculenta* L. Schott): Propriedades funcionais**. João Pessoa, PB. 2012. Dissertação. Universidade Federal da Paraíba – Ciência e tecnologia de alimentos. Disponível em:<
<https://repositorio.ufpb.br/jspui/bitstream/tede/4029/1/arquivototal.pdf>>. Acesso em: 11 maio, 2021.

ARES, G.; DAUBER, C.; FERNÁNDEZ, E.; GIMÉNEZ, A.; VARELA, P. **Penalty analysis based on CATA questions to identify drivers of liking and directions for product reformulation**. 2014. Food Quality and Preference, vol.32, p. 65-76. Elsevier.

ASIF, M. et al. **Application and Opportunities of Pulses in Food System: A Review**. [S.], Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v. 53, p. 1168-1179, 2013. Disponível em:<
<https://www.tandfonline.com/doi/citedby/10.1080/10408398.2011.574804?scroll=top&needAccess=true>>. Acesso em 23 Jun. 2018.

BARBOSA, L. C. A. **Introdução à química Orgânica**. 2. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2011.

BARIANI, A. **Propriedades bioquímicas e biológicas de proteínas de sementes de leguminosas arbóreas da Amazônia**. 2008. Dissertação (Mestrado) – Área de Concentração Silvicultura Tropical – Universidade federal do Amazonas – UFAM, Manaus, 2008. Disponível em:<
<http://bdtd.inpa.gov.br/bitstream/tede/1690/5/Adriana%20Bariani.pdf>>. Acesso em: 14 abr. 2017.

BRESCIANI, A.; MARTI, A. **Using Pulses in Baked Products: Lights, Shadows, and Potential Solutions**. Milan: J. Foods. 2019.

BOER, J.; AIKING, H. **Prospects for pro-environmental protein consumption in Europe: Cultural, culinary, economic and psychological factors**. VU University Amsterdam, Holanda: Elsevier, 2017.

BOSI, M. G. **Desenvolvimento de processo de fabricação de requeijão light e de requeijão sem adição de gordura com fibra alimentar**. 2008. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campinas, 2008. Disponível em:< http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/255410/1/Bosi%2c%20Mirela%20GGuede%20_D.pdf>. Acesso em: 21 abr. 2017.

BOYE, J. I. et al. **Comparison of the functional properties of pea, chickpea and lentil protein concentrates processed using ultrafiltration and isoelectric precipitation techniques**. St. Hyacinthe Quebec, Canada: Elsevier, 2009.

BOYE, J.; ZARE, F.; PLETCH, A. **Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed**. Canadá: Elsevier, 2009.

BRASIL, R. B. et al. **Estrutura e estabilidade das micelas de caseína do leite bovino**. Rio Verde, Ciência Animal 25 (2): 71-80, 2015. Disponível em:< http://www.uece.br/cienciaanimal/dmdocuments/artigo06_2015_2.pdf>. Acesso em: 14 Out. 2018.

ÇAKIR, Ö. et al. **Nutritional and health benefits of legumes and their distinctive genomic properties**. Campinas, Food Sci. Technol. Vol. 39, no.1. 2019.

FANI, M. **Proteínas animais e vegetais, tipos e funções**. [S.l.], 2016. Revista: Aditivos & Ingredientes. Disponível em:<<http://aditivosingredientes.com.br/artigos/ingredientes-funcionais/proteinas-animais-e-vegetais-tipos-e-funcoes>>. Acesso em: 23 Set. 2018.

FERNANDES, R. **Dairy Products**. United Kingdom: Leatherhead Publish, 2008.

Food and Agricultural Organization of the United Nations. 2016 What are pulses? Disponível em:< <http://www.fao.org/pulses-2016/news/news-detail/en/c/337107/>. Acesso em: 18 set. 2018.

GALLO, L. A. **Aminoácidos e proteínas**. Piracicaba: Esalq - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz, 2014. Disponível em:< <http://docentes.esalq.usp.br/luagallos/aminoacidos.html>>. Acesso em: 10 abr. 2017.

GETACHEW, F.; VANDENBERG, A.; SMITS, J. **A practical toxicity bioassay for vicine and convicine levels in faba bean (*Vicia faba*)**. Nova Jersey, Journal of the science of food and agriculture: Wiley online library, vol. 98, ed. 13, p. 5105- 5111, 2018. Disponível em:< <https://onlinelibrary-wiley.ez67.periodicos.capes.gov.br/doi/full/10.1002/jsfa.9049>>. Acesso em: 21 Out. 2018.

HAVEMEIER, S., ERICKSON, J., AND SLAVIN, J. 2017. **Dietary guidance for pulses: the challenge and opportunity to be part of both the vegetable and protein food groups**. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1392:58–66.

HONGYU, K.; SANDANIELO, V. L. M.; JUNIOR, G. J. O. **Análise de Componentes Principais: resumo teórico, aplicação e interpretação Principal Component Analysis: theory, interpretations and applications**. 2015. Engineering and Science, Vol. 1, Ed. 5.

JUNIOR, W. E. F.; FRANCISCO, W. **Proteínas: Hidrólise, Precipitação e um tema para o ensino de química**. [S.l.], Química Nova na Escola, No. 24, 2006. Disponível em:<<http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc24/ccd1.pdf>>. Acesso em: 7 jun. 2018.

KUMAR, M.; YUSUF, M. A.; NIGAM, M. **An Update on Genetic Modification of Chickpea for Increased Yield and Stress Tolerance.** Lucknow, Springer: Molecular Biotechnology, v. 60, 651 – 663, 2018. Disponível em:< <https://link-springer-com.ez67.periodicos.capes.gov.br/content/pdf/10.1007%2Fs12033-018-0096-1.pdf>>. Acesso em 18 Out. 2018.

LEMES, A. C. et al. **A new milk-clotting enzyme produced by Bacillus sp. P45 applied in cream cheese development.** Rio Grande: LWT – Food Science and Technology, 2016.

MACWILLIAM, S. et al. **A meta-analysis approach to examining the greenhouse gas implications of including dry peas (*Pisum sativum* L.) and lentils (*Lens culinaris* M.) in crop rotations in western Canada.** Canadá: Elsevier, 2018. Disponível em:< <https://www-sciencedirect.ez67.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0308521X17308636>>. Acesso em: 18 Out. 2018.

MAGRI, L. M. **Como o requeijão é produzido nos laticínios?** MilkPoint. 2021. Disponível em:< <https://www.milkpoint.com.br/artigos/industria-de-laticinios/como-o-requeijao-e-produzido-nos-laticinios-224406/>>. Acesso em: 7 Set. 2021.

MARAFON, A. P. **Otimização das propriedades reológicas e sensoriais de iogurtes probióticos enriquecidos com proteínas lácteas.** Dissertação para obtenção do grau de Mestre. Universidade de São Paulo (USP). São Paulo, 2010.

NARAYANAN, P. et al. **Use of just-about-right scales and penalty analysis to determine appropriate concentrations of stevia sweeteners for vanilla yogurt.** Journal of Dairy Science, Vol. 97:3262–3272, No. 6. 2014.

NOSWORTHY, M. G. et al. **Determination of the protein quality of cooked Canadian pulses**. Manitoba, 2017. Wiley Food Science Nutrition, 5: 896 – 903. Disponível em:<<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/fsn3.473>>. Acesso em: 27 Ago. 2018.

PAULA, J. C. J.; CARVALHO, A. F.; FURTADO, M. M. **Princípios básicos de fabricação de queijo: do histórico à salga**, Juiz de Fora, 2009. Disponível em:<<https://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/download/76/82>>. Acesso em: 19 abr. 2017.

NOVAES, C. G. et al. **Otimização de Métodos Analíticos Usando Metodologia de Superfícies de Resposta - Parte II: Variáveis de Mistura**. Rev. Virtual Quim., vol. 10 No. 2, 2018.

PIRES, C. V. **Qualidade Nutricional e escore químico de aminoácidos de diferentes fontes proteicas**. Campinas, Ciênc. Tecnol. Aliment. vol.26, no.1: Scielo, 2006. Disponível em:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612006000100029>. Acesso em: 12 Out. 2018.

PORTARIA. MA-359, de 04/09/1997. **Coordenadoria de defesa agropecuária**, Campinas. 1997. Disponível em:<<http://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/portaria-ma-359-de-04-09-1997,675.html>>. Acesso em: 21 abr. 2017.

RAIMONDO, R. F. S. et al. Proteínas do soro lácteo de vacas da raça Jersey durante a lactação. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 33, Jan 2013. Disponível em:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2013000100022>. Acesso em: 15 ago. 2016.

RENCHER, A.C. **Methods of Multivariate Analysis**. 2002. A John Wiley & Sons, Inc. publication. p.727. 2 ed. 2002.

ROSA-MILLÁN, J. et al. **Physicochemical, functional and ATR-FTIR molecular analysis of protein extracts derived from starchy pulses**. Santiago de Queretaro, México: International Journal of Food Science and Technology, 2018.

ROSA-MILLAN, J. et al. **Physicochemical, functional and ATR-FTIR molecular analysis of protein extracts derived from starchy pulses**. Santiago de Queretaro, México, 2018. International Journal of Food Science and Technology, 53, 1414 – 1424. Disponível em:< <https://onlinelibrary-wiley.ez67.periodicos.capes.gov.br/doi/epdf/10.1111/ijfs.13719>>. Acesso em: 23 Set. 2018.

ROY, T. et al. **Bio-effective disease control and plant growth promotion in lentil by two pesticide degrading strains of Bacillus sp.** Índia, 2018. Elsevier: Biological Control, v. 127, p. 55-63. Disponível em:< <https://www-sciencedirect.ez67.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S1049964418302445?via=ihub>>. Acesso em: 21 Out. 2018.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos. Propriedades, Degradações, Modificações**. São Paulo: Varela, 1996.

SINGH, N. **Pulses: an overview**. Índia: Journal of Food Science and Technology, Vol. 54, p. 853–857, 2017. Disponível em:< <https://link.springer.com/article/10.1007/s13197-017-2537-4#citeas>>. Acesso em: 15 Mar. 2018.

SINGH, B. et al. 2017. **Bioactive constituents in pulses and their health benefits**. J. Food Sci. Technol. 54:858-870, 2017. Disponível em:< <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5336453/>. Acesso em: 12 jan. 2020.

SOARES, M. B. et al. **Behavior of different Bacillus strains with claimed probiotic properties throughout processed cheese (“requeijão cremoso”) manufacturing and storage.** Campinas: Elsevier, 2019.

SLOZHENKINA, M. et al. **Functional and technological characteristics of new cheese product with vegetable and prebiotic componentes.** Jelgava, 2017. Engineering for Rural Development: 393-401. Disponível em:<<http://www.tf.llu.lv/conference/proceedings2017/Papers/N078.pdf>>. Acesso em 30 Set. 2018.

SPYCHAJ, A. et al. **Detection of allergenic additives in processed meat products.** Hoboken, New Jersey USA, 2018. Journal of the Science of food and agriculture (Published by Wiley online library) Vol. 38, 4807 – 4815. Disponível em:<<https://onlinelibrary-wiley.ez67.periodicos.capes.gov.br/doi/abs/10.1002/jsfa.9083>>. Acesso em: 29 Set. 2018.

USDA. **United States Department of Agriculture.** [S.l.], 2018. Agricultural Research Service. Disponível em:<<https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/01077?n1=%7BQv%3D1%7D&fgcd=&man=&lfacel=&count=&max=25&sort=default&qlookup=Milk&offset=75&format=Full&new=&measureby=&Qv=1&ds=SR&qt=&qp=&qa=&qn=&q=&ing=#id-1>>. Acesso em: 05 Mar. 2019.

VAN DENDER, A. G. F. **Requeijão cremoso e outros queijos fundidos: Tecnologia de fabricação, controle do processo e aspectos de mercado.** 2. ed. Revisada e ampliada – São Paulo: Setembro Editora, 2014.

VIGANÓ, O. J.; BORDGNION, S.; MASSON, A. P. **Requeijão cremoso de copo com teor reduzido de sódio e enriquecido com fibras.** Florianópolis - ETech: Tecnologias para competitividade Industrial, v. 9, n.1, 2016. Disponível em:<<http://etech.sc.senai.br/index.php/edicao01/article/download/483/433/>>. Acesso em: 11 Dez. 2018.

ZACARCHENCO, P. B. et al. **Produtos lácteos contendo gorduras vegetais.**

Tecnolat, [S.l.], 2013. Disponível em:<

<http://www.ital.sp.gov.br/tecnolat/arquivos/artigos/Produtos%20lacteos%20contcont%20proteinas%20vegetais%20Revista%20LeiteDerivados.pdf>>. Acesso em: 26 ago. 2016.

ZACARCHENCO, P. B.; VAN DENDER, A. G. F.; REGO, R. A. **Brasil dairy trends**

2020. Tendências de mercado de produtos lácteos. Campinas: ITAL, 1. ed., 2017.

Disponível em:< <http://brasildairyrends.com.br/3/#zoom=z>>. Acesso em: 11 Mar. 2019.

ANEXO A – Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE)



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos
Departamento de Engenharia de Alimentos

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO

“Desenvolvimento de formulação de produto lácteo tipo requeijão cremoso com substituição parcial de proteína animal por proteína vegetal”

No. DO PARECER DE APROVAÇÃO CEPH: 3.401.382

CEPH - FZEA - Prédio Central da FZEA/USP, Av. Duque de Caxias Norte 225, Campus Fernando Costa - Telefone: (19) 3565-6759 - E-mail: cepfzea@usp.br

Nome: Alex Paulo Rodrigues

Endereço: R. Duque de Caxias, 225 - Jardim Elite

Cidade: Pirassununga - SP CEP: 13635-900 Fone: (19) 3565-4200

Introdução: A inclusão de proteínas vegetais em diversas aplicações na área de alimentos tem se tornado uma tendência para consumidores cada vez mais preocupados com a saúde e atentos aos impactos ambientais associados à produção de proteína animal pela agropecuária. O presente trabalho propõe a elaboração e avaliação sensorial de formulações de produto tipo requeijão cremoso com inclusão de proteínas de origem vegetal (“pulses”) como substituinte parcial de proteínas de origem animal.

Justificativa: O termo “Pulse” significa “semente seca”. Este ingrediente é proveniente de leguminosas como feijões, lentilha, grão de bico e ervilhas. É rico em fibras e principalmente em proteínas e apresentam baixo teor de gordura. Além de oferecer uma excelente fonte de proteína e carboidratos, também apresentam importantes vitamínicos do complexo A, B1, B3 e vitamina C. Oferecem ainda minerais, tais como, ferro e potássio.

Objetivos do projeto: Desenvolver e avaliar a aceitação sensorial de formulações de produtos tipo requeijão cremoso empregando-se a substituição parcial de proteína animal por pulses.

Possíveis benefícios: Para aplicações industriais, os “pulses” possuem capacidade de retenção de água, solubilidade, capacidade de ligação de gordura, propriedades emulsificantes, entre outras. Com relação aos aspectos nutricionais, o consumo de “pulses” pode reduzir o risco de doenças crônicas, pois melhora os perfis lipídicos séricos e afeta positivamente fatores de risco para doenças cardiovasculares, como pressão arterial, atividade plaquetária e inflamação.

Procedimento: Serão convidados até 120 colaboradores para participar da avaliação sensorial, sendo alunos (maiores de 18 anos) e funcionários do campus FZEA/USP para realização de teste de aceitação empregando escala hedônica de 9 pontos. As formulações serão mantidas em refrigerador a 5°C até a data do experimento, que não ultrapassará 10 dias após a produção.

Outras informações:

- O colaborador pode se recusar a continuar com a avaliação sensorial a qualquer momento, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado.
- Os colaboradores não terão qualquer tipo de despesas em decorrência da participação nesta pesquisa.
- A possibilidade de risco ou qualquer tipo de desconforto em função da participação nesta pesquisa é mínima, tendo em vista que a produção será realizada em planta piloto industrial seguindo as boas práticas de fabricação e o produto final embalado será refrigerado. No entanto, caso surjam problemas decorrentes do consumo, seja por qualquer desconforto e/ou intoxicação alimentar estes devem ser comunicados imediatamente para as devidas providências e encaminhamento para o Hospital mais próximo do local da degustação, se necessário.
- O pesquisador é responsável por qualquer dano causado ao participante da pesquisa. Não haverá riscos de constrangimentos.
- Os testes sensoriais descritos anteriormente serão acompanhados pelo pesquisador proponente (Alex Paulo Rodrigues).
- O participante terá direito a uma via deste TCLE.
- Quaisquer outros esclarecimentos poderão ser solicitados antes, durante e após a pesquisa.

Eu, _____, RG _____,

CPF _____, abaixo assinado, concordo em participar do estudo “Desenvolvimento de formulação de produto lácteo tipo requeijão cremoso com substituição parcial de proteína animal por proteína vegetal”, proposto pelo mestrando Alex Paulo Rodrigues. Tenho pleno conhecimento da justificativa, objetivos, benefícios esperados e dos procedimentos a serem executados, bem como da possibilidade de receber esclarecimentos sempre que considerar necessário. Será mantido sigilo quanto à identificação de minha pessoa e zelo a minha privacidade. Ao mesmo tempo assumo o compromisso de seguir as recomendações estabelecidas pelos pesquisadores.

Eu li e entendi todas as informações contidas neste documento.

Pesquisador responsável: Alex Paulo Rodrigues – FZEA – USP. Contato: alex04_pr@hotmail.com / Cel: 19- 99899-XXXXXX

Pirassununga, _____ de _____ de _____.

Assinatura participante: _____ Assinatura pesquisador responsável: _____

ANEXO B – Questionário para avaliação sensorial

INSTRUÇÕES

Por favor, leia atentamente todas as perguntas e responda este questionário apenas uma vez.

Hoje você irá avaliar amostras de requeijão, uma de cada vez, conforme os códigos forem aparecendo na tela.

Por favor, beba água entre as amostras avaliadas para reduzir a fadiga sensorial.

Observe abaixo os ingredientes das amostras, e só prossiga se não tiver alergia ou intolerância a nenhum deles.

Ingredientes: Creme de leite, fermento lácteo, coalho, cloreto de cálcio, água, proteína vegetal, concentrado de proteínas lácteas, amido modificado, estabilizantes polifosfato de sódio, sal, regulador de acidez ácido láctico, conservador sorbato de potássio e aromatizante sintético idêntico ao natural.

QUESTIONÁRIO

1- Trabalho

Você trabalha em alguma das seguintes áreas?

- Pesquisa de Mercado
- Mídia / TV / Rádio / Imprensa
- Fabricação, marketing e distribuição de alimentos ou bebidas ou ingredientes de alimentos ou bebidas
- Ensino, centros de pesquisa, universidades
- Varejo
- Setor automotivo
- Nenhum desses

2- Escolaridade

Qual seu grau de escolaridade?

- Incompleto
- Fundamental I
- Fundamental II
- Médio incompleto
- Médio completo
- Superior incompleto
- Superior completo
- Pós-graduação incompleto
- Pós-graduação completo

3- Renda

Qual sua renda familiar mensal? (baseado no salário mínimo R\$ 1.045,00)

- Até 1 salário mínimo
- 2 - 5 salários mínimos
- 6 - 10 salários mínimos
- 11 - 15 salários mínimos
- Acima de 15 salários mínimos

4 - Sexo

- Feminino
- Masculino
- Não binário
- Outro

5 - Idade

- 18 – 24
- 25 – 34
- 35 – 44
- 45 – 59
- +59

6 - Consumo de requeijão

Quando foi a última vez que você comprou e consumiu Requeijão Cremoso?

- () Na semana atual
- () Na semana passada
- () Nas últimas 2 - 3 semanas
- () No último mês
- () Nos últimos três meses

7 - Qual sua frequência de consumo de Requeijão Cremoso?

- () Diariamente
- () 4 - 6 vezes por semana
- () 1 - 3 vezes por semana
- () 2 vezes por mês
- () 1 vez por mês
- () Raramente

8 - Quanto você gostou ou desgostou desse produto de MANEIRA GERAL?

- 1 () Desgostei muitíssimo
- 2 () Desgostei muito
- 3 () Desgostei moderadamente
- 4 () Desgostei ligeiramente
- 5 () Nem gostei, nem desgostei
- 6 () Gostei ligeiramente
- 7 () Gostei moderadamente
- 8 () Gostei muito
- 9 () Gostei muitíssimo

9 - Quanto você gostou ou desgostou da APARÊNCIA desse produto?

- 1 () Desgostei muitíssimo
- 2 () Desgostei muito
- 3 () Desgostei moderadamente
- 4 () Desgostei ligeiramente
- 5 () Nem gostei, nem desgostei
- 6 () Gostei ligeiramente
- 7 () Gostei moderadamente
- 8 () Gostei muito
- 9 () Gostei muitíssimo

10 - Quanto você gostou ou desgostou do CHEIRO desse produto?

- 1 () Desgostei muitíssimo
- 2 () Desgostei muito
- 3 () Desgostei moderadamente
- 4 () Desgostei ligeiramente
- 5 () Nem gostei, nem desgostei
- 6 () Gostei ligeiramente
- 7 () Gostei moderadamente
- 8 () Gostei muito
- 9 () Gostei muitíssimo

11 - Quanto você gostou ou desgostou do SABOR desse produto?

- 1 () Desgostei muitíssimo
- 2 () Desgostei muito
- 3 () Desgostei moderadamente
- 4 () Desgostei ligeiramente
- 5 () Nem gostei, nem desgostei
- 6 () Gostei ligeiramente
- 7 () Gostei moderadamente
- 8 () Gostei muito
- 9 () Gostei muitíssimo

12 - Quanto ao SABOR TÍPICO DE REQUEIJÃO, este produto tem:

- 1 () Muito menos sabor de requeijão do que eu gosto
- 2 () Menos sabor de requeijão do que eu gosto
- 3 () Sabor de requeijão do jeito que eu gosto
- 4 () Mais sabor de requeijão do que eu gosto
- 5 () Muito mais sabor de requeijão do que eu gosto

13 - Quanto você gostou ou desgostou da CONSISTÊNCIA desse produto?
Mexa a amostra como uma colher e veja a consistência do produto.

- 1 () Desgostei muitíssimo
- 2 () Desgostei muito
- 3 () Desgostei moderadamente
- 4 () Desgostei ligeiramente
- 5 () Nem gostei, nem desgostei
- 6 () Gostei ligeiramente
- 7 () Gostei moderadamente
- 8 () Gostei muito
- 9 () Gostei muitíssimo

14 - Quanto à CREMOSIDADE (na boca), este produto está:

- 1 () Muito menos cremoso de requeijão do que eu gosto
- 2 () Menos cremoso do que eu gosto
- 3 () Do jeito que eu gosto
- 4 () Mais cremoso do que eu gosto
- 5 () Muito mais cremoso do que eu gosto

15 - Para avaliar, espalhe uma quantidade de requeijão em cima do biscoito e julgue em relação a ESPALHABILIDADE, se esse produto:

- 1 () Espalha muito menos do que eu gosto
- 2 () Espalha menos do que eu gosto
- 3 () Espalha do jeito que eu gosto
- 4 () Espalha mais do que eu gosto
- 5 () Espalha muito mais do que eu gosto

16 - Intenção de compra - Indique através da escala abaixo o grau de certeza de que você compraria ou não esse produto.

- 1 () Certamente não compraria
- 2 () Provavelmente não compraria
- 3 () Talvez sim / Talvez não
- 4 () Provavelmente compraria
- 5 () Certamente compraria