

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

MARÍLIA CÍCERA GOMES DOS SANTOS FIGUEIRÊDO

QUEIJO REINO: ASPECTOS MERCADOLÓGICOS E REDUÇÃO
DE GORDURA E SÓDIO

JOÃO PESSOA- PB

2019

MARÍLIA CÍCERA GOMES DOS SANTOS FIGUEIRÊDO

QUEIJO REINO: ASPECTOS MERCADOLÓGICOS E REDUÇÃO
DE GORDURA E SÓDIO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, do Centro de Tecnologia, da Universidade Federal da Paraíba em cumprimento aos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Haíssa Roberta Cardarelli

Coorientador: Prof. Dr. Fábio Anderson Pereira da Silva

JOÃO PESSOA - PB

2019

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

F475q Figueirêdo, Marília Cícera Gomes Dos Santos.

QUEIJO REINO: ASPECTOS MERCADOLÓGICOS E REDUÇÃO DE
GORDURA E SÓDIO / Marília Cícera Gomes Dos Santos
Figueirêdo. - João Pessoa, 2019.

146f. : il.

Orientação: Haíssa Roberta Cardarelli.

Coorientação: Fábio Anderson Pereira da Silva.

Tese (Doutorado) - UFPB/Tecnologia.

1. baixa gordura. 2. baixo sódio. 3. light. 4. estudo
de mercado. 5. queijo maturado. I. Cardarelli, Haíssa
Roberta. II. Silva, Fábio Anderson Pereira da. III.
Título.

UFPB/BC

MARÍLIA CÍCERA GOMES DOS SANTOS FIGUEIRÊDO

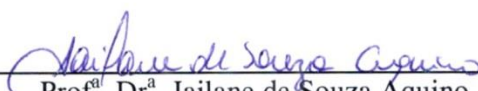
QUEIJO REINO: ASPECTOS MERCADOLÓGICOS E
REDUÇÃO DE GORDURA E SÓDIO

Tese Aprovada em 25 / 09 / 2019

BANCA EXAMINADORA



Prof^ª. Dr^ª. Haíssa Roberta Cardarelli- DTA/UEPB
Coordenadora da Banca Examinadora



Prof^ª. Dr^ª. Jailane de Souza Aquino
Examinadora Externa-DN/UEPB

Prof. Dr. Rennan Pereira Gusmão- DEA- UFCG
Examinador Externo à Instituição



Prof^ª. Dr^ª. Maria Elieidy Gomes de Oliveira
Examinadora Interna- DN/UEPB



Prof^ª. Dr^ª. Rita de Cassia Ramos do Egypto Queiroga
Examinadora Interna- DN/UEPB

A Deus, que tinha planos maiores que o meus.

A minha mãe, Maria Anunciada, pelas orações e pelas palavras de incentivo.

Ao meu pai, Antônio Gomes, pela presença nos momentos que mais precisava.

Ao meu marido, Fillipe Figueirêdo, pelo amor e apoio incondicional.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus por todo seu amor, pois em todos os momentos da minha vida mandou anjos para cuidar de mim.

Aos meus pais Antônio e Anunciada, pelo amor e educação que me deram. Assim, agradeço também aos meus irmãos Marcos, Márcia, Marcílio e Maria das Dores.

Aos meus queridos sobrinhos Mateus, João Victor e Marcos Paulo, que me ensinaram como é bom ser tia e como devo me empenhar na vida para ser um bom exemplo.

Ao meu amado marido Fillipe Figueirêdo, que esteve presente me incentivando e ajudando em tudo para conclusão do doutorado.

As minhas tias Lurdes e Regina e as primas Marli e Cláudia por vibrarem com minhas conquistas.

A minha tia avó Joana, pelas orações e pelo zelo sempre presente em minha vida.

Aos meus sogros Fernando Figueirêdo e Edvânia Figueirêdo, que me apoiaram e compreenderam minha ausência em momentos especiais.

A minha querida orientadora, Prof^a. Dr^a. Haíssa Cardarelli, pelo carinho, dedicação, respeito e por me tranquilizar em muitos momentos, além de compartilhar comigo seus conhecimentos.

Ao Prof. Dr. Fábio Anderson pelo aceite ao convite de coorientação.

Às amigas Vilma Barbosa, Amanda S'Antana, Whyara e Alline Souza, que mesmo quando não tinha orientadora me ajudaram a polir o projeto para seleção.

Aos alunos de Iniciação Científica Emília Carmem, Lorena Bezerra, David Santos, Janne Soares, Márcia Thays, Rafaela Félix e Mayara Costa, que foram fundamentais para evolução da pesquisa.

A minha amiga-irmã Ilílian Kleisse, que sempre acreditou no meu potencial, mesmo quando dúvida dele. As minhas queridas amigas Rita Cristina, Samara Moraes, Joyce Oliveira e Sabrina Souza, por escutarem meus desabafos sobre as dificuldades acadêmicas.

Aos amigos que a UFPB me deu Paula Perazzo, Liliane Andrade, Karla Kaligia, Edilza Nascimento, Taliana Bezerra, Bruno Meireles, José Honório, Elvira Chaves, Albanísia Santos e Maristela Alcântara. Ao amigo Renato Lima que apareceu no momento exato para ajudar com a parte estatística. A minha filha acadêmica Rafaela Félix, que me ajudou dentro e fora do laboratório de pesquisa.

A minha mãe acadêmica desde a graduação, Prof^a. Dr^a. Neide Shinohara, que sempre me apoiou e lutou por mim.

Ao PPGCTA e os professores Ângela Tribuzi, Tatiane Santi e Flávio Honorato. À ex-secretária do programa Lindalva Nóbrega e atual Fernanda Feitosa, pela constante ajuda.

Às professoras Rita Queiroga, Elieidy Oliveira, Jailane Aquino, Rennan Gusmão e Flávia Buriti pelas sugestões de melhorias da tese.

Ao campus Bananeiras e aos técnicos Carlos Amaral e João Maria, pelo desenvolvimento dos primeiros testes do queijo Reino.

Ao prof. Ricardo Targino e a querida técnica Katharina Kardinele, pelos ensinamentos e ajuda na análise sensorial.

Ao CTDR pelo apoio para a realização das análises e aos técnicos que se tornaram amigos, Bosco Amaral, Cláudia Gouveia, Larissa Feitosa, Erivelto Souza, Patrícia Almeida, Alinne Gouvêia, José Carlos e Diego Batista, especialmente a Alline Souza que mais uma vez se fez presente e ajudou em minha trajetória acadêmica.

Aos amigos Marcos Lopes, Rinaldo Silva, Geraldo Silva e Cristina Faustino, que sempre estavam dispostos a me ajudar.

A D. Conceição, por me adotar como filha e a Edclécia, por compartilhar sua mãe e pelas palavras de incentivo.

Às empresas Laticínio Nosso Ltda, por abrir as portas da fábrica e ensinar sobre o processamento do queijo Reino. A Chr Hansen pela doação dos ingredientes, como vocês foram essenciais para o desenvolvimento da minha pesquisa. A fábrica Leite Ideal pela doação do leite para os testes.

À gestão, aos servidores e aos alunos do IFCE, *Campus* Camocim, pela compreensão e por reconhecer a importância do doutorado na minha vida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste sonho. Minha gratidão!

RESUMO

O queijo Reino é um alimento tradicional consumido no Brasil e principalmente na região Nordeste. O objetivo desta tese foi utilizar a pesquisa de mercado e a análise sensorial como ferramentas para compreender os desejos dos consumidores de queijo Reino comerciais e assim realizar mudanças, como redução de gordura e de sódio, na sua formulação que proporcionem a manutenção ou melhoria das características tecnológicas, nutricionais, microbiológicas e sensoriais do produto final, visando a promoção do seu consumo pela oferta de um produto mais saudável. Para tanto, foi realizada uma pesquisa de mercado com 400 consumidores. Cerca de 50% dos consumidores idosos desejam a redução no teor de sódio (17,22%) e gordura (17,61%) do queijo e os jovens gostariam que o sabor se tornasse mais suave (10,20%). As seis marcas do queijo Reino mais citadas pelos consumidores foram analisadas quanto às características físico-químicas, químicas e tecnológicas como umidade e extrato seco total, gordura, proteína, cinzas, gordura em extrato seco, atividade de água, acidez titulável, pH, açúcares redutores, sódio, potássio, cloro, cálcio, proteólise, cor instrumental e ácidos graxos. Observou-se variações ($p \leq 0,05$) nas características físico-químicas das seis marcas comerciais do Reino: umidade (31,72% a 37,76% m/m), gordura (30 a 36% m/m), pH (5,45 a 5,76), cálcio (2389,18 a 2757,42 mg/100 g), potássio (100,72 a 145,84 mg/100 g), cor instrumental nos parâmetros L^* (52,03 a 71,90), a^* (6,72 a 16,25) e b^* (24,54 a 48,13), proteólise com índice de extensão (15,30 a 23,89) e profundidade (6,15 e 20,27) e ácidos graxos com índice de aterogenicidade (2,29 a 4,51) e índice de trombogenicidade (1,19 a 2,90). As características das amostras mais aceitas serviram como base para obtenção de uma formulação que atenda os anseios dos consumidores. Neste sentido, foram elaboradas formulações com redução do teor de gordura e substituição parcial de NaCl por KCl, empregando-se um delineamento inteiramente ao acaso, em esquema fatorial ($2 \times 2 + 1$), totalizando 5 ensaios. A maior redução no percentual de gordura do leite para 1,1% e a menor proporção de NaCl (12: 8 NaCl: KCl) influenciaram os resultados de pH, gordura no extrato seco, proteína, índice de extensão da proteólise, teor de sódio, teor de NaCl, parâmetros de cor relativa a luminosidade, parâmetros de textura como a adesividade, mastigação, gomosidade e ácidos graxos monoinsaturados. A redução do percentual de gordura no leite para 2,2% combinada com a substituição do NaCl pelo KCl (13,5: 6,5) representou a formulação com a melhor qualidade nutricional e sensorial. A redução de sódio em salmoura resultou na variação desse mineral nas diferentes formulações do queijo que representou uma redução de 32,72% a 45,38% enquanto a redução na gordura do leite nas proporções testadas resultou em reduções nos teores de gordura dos queijos que variaram de 3,90% a 59,74%, todas em relação ao queijo Reino comercial. O queijo Reino com redução de gordura e sódio apresentou bons resultados sensoriais, maior saudabilidade e, portanto, viabilidade para comercialização. O queijo desenvolvido foi registrado através da patente de processo para queijo Reino com redução de gordura e sódio – BR 10 2018 073532 2.

Palavras-chave: baixa gordura, baixo sódio, light, estudo de mercado, queijo maturado.

ABSTRACT

Reino cheese is a traditional food consumed in Brazil and especially in the Northeast. The purpose of this thesis was to use market research and sensory analysis as tools to understand the wishes of commercial Reino cheese consumers and thus make changes, such as fat and sodium reduction, in their formulation that maintain or improve the characteristics. technological, nutritional, microbiological and sensory aspects of the final product, aiming to promote its consumption by offering a healthier product. To this end, a market survey was conducted with 400 consumers. About 50% of elderly participants interviewed want a reduction in sodium content (17.22%) and fat in cheese (17.61%) and young people would like the flavor to be milder (10.20%). The six most cited Reino cheese brands by consumers were analyzed for their physicochemical, chemical and technological characteristics such as moisture and total dry extract, fat, protein, ashes, fat in the dry extract, water activity, titratable acidity, pH, reducing sugars, sodium, potassium, chlorine, calcium, proteolysis, instrumental color and fatty acid profile. Significant variations ($p \leq 0.05$) were observed in the physical and chemical characteristics of the six Reino brands: Moisture (31.72% to 37.76% w / w), Fat (30 to 36% w / w), pH (5.45 to 5.76), Calcium (2389.18 to 2757.42 mg) / 100 g), Potassium (100.72 to 145.84 mg / 100 g), instrumental color in the parameters L * (52.03 to 71.90), a * (6.72 to 16.25) and b * (24.54 to 48.13), proteolysis extension index (15.30 to 23.89) and depth (6.15 and 20.27) and fatty acids with atherogenicity index (2.29 to 4.51) and thrombogenicity index (1.19 to 2.90). The characteristics of the most accepted samples served as the basis for obtaining a formulation that meets the wishes of consumers. In this sense, formulations were created with fat content reduction and partial replacement of NaCl by KCl, using a completely randomized design, in a factorial scheme ($2 \times 2 + 1$), totaling 5 treatments. The largest reduction in milk fat percentage to 1.1% and the lowest NaCl ratio (12: 8 NaCl: KCl) influenced pH, fat in the dry extract, protein, proteolysis extension index, sodium content, NaCl content, luminosity color parameters, texture parameters such as adhesiveness, chewiness, gumminess and monounsaturated fatty acids. The reduction in milk fat percentage to 2.2% combined with the replacement of NaCl by KCl (13.5: 6.5) represented the formulation with the best nutritional and sensory quality. The reduction in sodium in brine resulted in the variation of this mineral in cheese from 32.72% to 45.38% and the reduction in milk fat ranged from 3.90% to 59.74% compared to commercial Reino cheese in all formulations. Reino cheese with fat and sodium reduction showed good sensory results, greater healthiness and, therefore, viability for commercialization. The cheese developed was registered through the process patent for Reino cheese with fat and sodium reduction - BR 10 2018 073532 2.

Keywords: low fat, low sodium, light, market research, ripened cheese.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Divisão em volume do mercado brasileiro de queijos em 2017.....	17
Figura 2 - Representação da coagulação da proteína do leite.	18
Figura 3 - Parte externa (A) e interna (B) da lata metálica com folhas de flandres utilizada como embalagem para o queijo Reino, queijo Reino embalado a vácuo com embalagem plástica termo-encolhíveis (cry-o-vac®) (C), parte externa (D) e interna (E) do queijo Reino sem embalagem e parte interna do queijo Reino com presença de pequenas olhaduras (F)....	21
Figura 4 - Tecnologia básica de fabricação do queijo Reino tradicional.	23
Figura 5 - Desenho experimental da etapa I.....	33
Figura 6 - Desenho experimental da etapa II.....	34
Figura 7 - Tecnologia adaptada de fabricação do queijo Reino com redução de gordura e sódio.	41
ARTIGO 1	
Figure 1 - Reino cheese consumers' frequency of consumption (A), ideal moment of consumption (B), suggestions of changes in the characteristics of commercial cheeses (C), preferred sensory attributes (D) and brand choice (E)	83
Figure 2 - Sensory analysis of six Reino cheese brands (R1 to R6).....	84
Figure 3 - Sensory analysis of six Reino cheese brands (R1 to R6) and Spearman correlation between attributes in the sensory analysis and consumers' intention (D).....	85
Figure 4 - Biplots based on the loading values of variables and scores of six of Reino cheese brands (R1 to R6) considering the first two principal components (A) and K-Means Clustering (B).	86
ARTIGO 2	
Figure 1 - Flowchart of Reino cheese processing with fat reduction and partial replacement of NaCl by KCl	120
Figure 2 - Pearson's correlation between physical-chemical and instrumental-texture variables. "X" in the box indicates non-significant correlation coefficient up to 5% probability	121
Figure 3 - Effect of milk-fat reduction [(FCM – Milk fat content (%)] and partial replacement of NaCl by KCl (NaCl:KCl ratio) on the sensory acceptability of the Reino cheese.....	122
Figure 4 - Effect of milk-fat reduction [(FCM – Fat Content Milk (%)] and partial replacement of NaCl by KCl (NaCl:KCl ratio) on the sensory acceptability of the Reino cheese.....	123

Figure 5 - Effect of milk-fat reduction [(FCM – Fat Content Milk (%)] and partial replacement of NaCl by KCl (NaCl:KCl ratio) on the intention for consumption of Reino cheese (A) and Spearmen correlation for sensory acceptability by consumers' intention (B)124

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Table 1 - Physicochemical, mineral, proteolysis and internal color analysis of six brands of Reino cheese (R1 to R6).81

Table 2 - Fatty acid profile of six brands of Reino cheese (R1 to R6).82

ARTIGO 2

Table 1 - Effect of milk-fat reduction and partial replacement of NaCl by KCl on the physical-chemical characteristics of Reino cheese.117

Table 2 - Effect of milk-fat reduction and partial replacement of NaCl by KCl on the instrumental-texture profile of Reino cheese.118

Table 3 - Effect of milk-fat reduction and partial replacement of NaCl by KCl on the fatty-acid profile of Reino cheese.119

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2.2 QUEIJO REINO: ORIGEM, DEFINIÇÃO E LEGISLAÇÃO BRASILEIRA	19
2.3 PROCESSAMENTO DO QUEIJO REINO.....	22
2.4 REDUÇÃO DE GORDURA E SÓDIO: TENDÊNCIA NO MERCADO DE QUEIJOS	26
3 MATERIAL E MÉTODOS	32
3.1 LOCAL DE EXECUÇÃO	32
3.2 MATERIAL	32
3.3 DESENHO EXPERIMENTAL	33
3.4 ETAPA I- MARCAS COMERCIAIS DE QUEIJO REINO	34
3.4.1 Pesquisa de Mercado	34
3.4.2 Análise sensorial	35
3.4.3 Análises tecnológicas, físico-químicas e químicas	36
3.4.4 Análise estatística	39
3.5 Etapa II- Estudo de desenvolvimento e caracterização de queijo Reino com redução de gordura e substituição parcial de NaCl por KCl	39
3.5.1 Delineamento experimental.....	39
3.5.2 Preparação da salmoura para a salga.....	40
3.5.3 Processamento de queijo Reino.....	40
3.5.4 Análises microbiológicas	42
3.5.5 Análise sensorial	43
3.5.6 Análise tecnológicas, físico-química e química.....	43
3.5.7 Análise estatística	44
REFERÊNCIAS	46
4 RESULTADOS	56
ARTIGO 1	57
ARTIGO 2	87
CONCLUSÕES.....	125
APÊNDICE	126
ANEXO.....	136

1 INTRODUÇÃO

O agronegócio leiteiro desempenha papel importante no cenário econômico e social do Brasil e de outros países, pois gera emprego e renda (BRASIL, 2018a), ocupando a segunda posição em faturamento da indústria no país em 2018 (ABIA, 2018). Os queijos se destacam dentre os derivados lácteos por serem reconhecidos como fontes de cálcio, fósforo, proteínas e vitamina A (JOHNSON et al., 2009). Partindo de uma gama limitada de matérias-primas (leite, culturas iniciais, coagulante, coalho ou ácido e sal), cerca de 1500 tipos de queijo são produzidos no mundo (GOBBETTI; NEVIANI; FOX, 2018). O consumo de queijo no Brasil foi 5,4 kg por pessoa em 2018, mas há uma projeção no aumento do consumo para 9,6 kg por pessoa em 2030 (ABIQ, 2017).

Além da rica composição nutricional e variedade, os queijos contêm elevado teor de gordura saturada próprio da matéria-prima, são alimentos com alta densidade energética (devido à perda de água durante o preparo) e elevada quantidade de sal, adicionada no processo de salga, por isso é indicado o consumo moderado (BRASIL, 2014b). Dentre os queijos com elevado teor de gordura e sódio, encontra-se o queijo Reino, que teve sua origem do Edam holandês trazido inicialmente ao Brasil por meio do Reino de Portugal, país do qual era importada grande parte do queijo que se consumia no Brasil e de onde origina-se a expressão “do Reino” (FURTADO, 2008).

O queijo Reino é um alimento tradicional e muito apreciado no Nordeste do Brasil, principalmente nas festividades juninas e natalinas (AMARANTE, 2015). O Reino possui teor de gordura em extrato seco que varia de 40% a 59,9% e teor de sódio médio de 819,00 mg/100 g (FURTADO, 2008, TAVEIRA, 2013; BRASIL, 2011a). Concentrações elevadas destes componentes contribuem para o prazer alimentar devido às suas propriedades sensoriais e intensificação das propriedades do próprio alimento; no entanto, diminuem as possibilidades de estímulo de seu consumo ao se considerar que a ingestão de sódio e de gordura em excesso está associada ao desenvolvimento de doenças crônicas, obesidade e morte súbita (LAMPURÉ et al., 2019).

Nesse contexto, as estratégias do Ministério da Saúde em cooperação com a Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação (ABIA) são voltadas a reduzir de forma gradativa os teores de vários nutrientes nos alimentos, processados, tais como, gorduras trans, gorduras saturadas e sal, para evitar o incremento dos gastos com assistência à saúde (BRASIL, 2010; 2011; 2018ab; FERRÃO et al., 2016).

Em conjunto, o queijo Reino apresenta uma grande importância sociocultural no

mercado brasileiro, mas também apresenta a necessidade de modificações para atender a legislação vigente e aos anseios dos consumidores por alimentos saudáveis, bem como para o aumento do seu consumo que atualmente encontrasse limitado a algumas épocas do ano por uma questão cultural.

Sendo assim, é necessário inovar no seu processamento e buscar novos ingredientes para reduzir os teores de gordura e de sódio, sem interferir na formação de compostos aromáticos, incluindo ácidos graxos, cetonas e ésteres, bem como na sinérese, na multiplicação microbiana e na atividade enzimática, para não alterar o sabor e a textura característicos do queijo (ALEWIJN; SLIWINSKI; WOUTERS, 2003; CRUZ et al., 2011) o que é um desafio para indústria de alimentos.

A aplicação de pesquisas de mercado com intuito de compreender essas transformações para planejar e/ou fabricar produtos que atendam expectativas mercadológicas é permanente (FERRELL; HARTLINE, 2006). Características de identidade do queijo Reino podem ser tecnologicamente e sensorialmente modificadas e a pesquisa de mercado associada à análise sensorial detalha a intensidade dos atributos sensoriais do produto, podendo ser usada para o desenvolvimento de novos produtos, para investigar os efeitos de ingredientes ou para identificar processos de mudanças sensoriais durante o armazenamento, sendo também importante para tomada de decisões de negócios (DRAKE, 2007; VARELA et al., 2012).

Portanto, objetivou-se utilizar a pesquisa de mercado e a análise sensorial como ferramentas para compreender os desejos dos consumidores de queijo Reino comerciais e assim realizar mudanças, como redução de gordura e de sódio, na sua formulação que proporcionem a manutenção ou melhoria das características tecnológicas, nutricionais, microbiológicas e sensoriais do produto final, visando a promoção do seu consumo pela oferta de um produto mais saudável.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 LEGISLAÇÃO BRASILEIRA, LEITE E QUEIJO

O leite é uma mistura de várias substâncias, em média o leite de vaca possui 87% de água e 13% de componentes sólidos (SMIT et al., 2000). O consumo diário de 500 mL de leite fornece importantes nutrientes, como aminoácidos essenciais, açúcares, vitaminas, minerais e ácidos graxos (HAUG; HØSTMARK; HARSTAD, 2007). A composição do leite depende vários fatores, como raça, localidade, estação do ano, alimentação, estágio de lactação, frequência da ordenha, condições climáticas, programas de melhoramento genético e fatores socioeconômicos que interferem nos parâmetros indicativos de produtividade, principalmente nos teores de proteína e de gordura (CERVO et al, 2018).

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), leite, sem outra especificação, é o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite de outros animais deve denominar-se segundo a espécie de que proceda. O leite pasteurizado tipo A é o leite classificado quanto ao teor de gordura em integral, padronizado, semidesnatado ou desnatado, produzido, beneficiado e envasado em estabelecimento denominado 'Granja Leiteira', observadas as prescrições contidas no Regulamento Técnico (BRASIL, 2011, p.2).

Cerca de 80% das proteínas do leite são caseínas, divididas em quatro grandes grupos: α_{s1} -caseína, (11,90 g/L), α_{s2} (3,10 g/L), β -caseína (9,80 g/L) e κ -caseína (3,50 g/L), estas proteínas coagulam na presença de enzimas ou ácidos. As proteínas do soro correspondem a cerca de 20% das proteínas presentes no leite, incluindo β -lactoglobulinas (3,20 g/L), α -lactalbuminas séricas (1,20 g/L), proteases peptona (1,0 g/L) e imunoglobulinas (0,80 g/L) (SÁNCHEZ, 2015; VERCESI FILHO, 2011).

O leite contém de 3-4% de gordura, responsável por conferir características físicas, nutricionais e sensoriais ao produto alimentício (HILLBRICK; AUGUSTIN, 2002). Os componentes lipídicos desempenham importantes funções na estrutura das membranas celulares e nos processos metabólicos, mas os ácidos graxos saturados de cadeia média (mirístico, palmítico, esteárico e ácidos graxos trans) predominam na gordura do leite bovino podem ser responsáveis pelo aumento da incidência de doença arterial coronariana (LENIGHAN; MCNULTY; ROCHE, 2019). Os ácidos graxos insaturados com cadeia de 18 carbonos (ácido linoleico conjugado - CLA) podem prevenir doenças cancerígenas, aterosclerose, diabetes e obesidade em modelos animais. Mais estudos são necessários para validar sua eficácia em humanos a medida que a importância do CLA aumenta (DEN HARTIGH, 2019).

Na tentativa de tornar o produto mais saudável através do aumento do teor de ácidos graxos poli-insaturados, como o linoleico (n-6) e o alfa-linolênico (n-3), importantes ácidos graxos essenciais, e o CLA, suplementação da ração dos ruminantes tem ocorrido para melhorar o perfil lipídico, mas este procedimento é complexo devido ao sistema poli gástrico dos ruminantes (BERGAMO, 2013).

Muitas pesquisas têm sido desenvolvidas com objetivo de reduzir ou melhorar ácidos graxos prejudiciais à saúde, preservando a qualidade tecnológica e sensorial do alimento ou bebida. Para isso, recorrem a substituição total ou parcial de gordura, o que pode causar alterações na textura e/ou sabor do produto alimentício. No entanto, a substituição parcial da gordura em termos de aceitação pelo consumidor é geralmente uma melhor opção (LANNES; AMARAL, 2015; HECK et al., 2019; EL-ASSAR et al. 2019).

A lactose é o principal açúcar encontrado no leite e é composto de glicose e galactose. O leite bovino contém cerca de 5% de lactose, o que corresponde a cerca de 40% dos sólidos totais (COSTA et al. 2019; FOX et al. 2015).

De acordo com a Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018, os requisitos físico-químicos do leite pasteurizado integral são: mínimo de 3,0 g/100 g de gordura; densidade de 1,028 a 1,034 a 15 °C; a acidez titulável de 0,14 a 0,18 g/100 mL em ácido láctico; o índice crioscópico equivalente a -0,512 °C e a - 0,531 °C; e teor mínimo de proteínas igual a 2,9 g/100 g. O leite cru destinado a fabricação de leite tipo A e seus derivados deve apresentar médias geométricas trimestrais de Contagem Padrão em Placas de no máximo 10.000 UFC/mL e de Contagem de Células Somáticas de no máximo 400.000 CS/mL, enquanto o leite cru refrigerado de tanque individual ou de uso comunitário deve apresentar médias geométricas trimestrais de Contagem Padrão em Placas de no máximo 300.000 UFC/mL e de Contagem de Células Somáticas de no máximo 500.000 CS/mL (BRASIL, 2018c).

A produção mundial de leite em 2017 foi cerca de 825 milhões, sendo 82% de leite bovino. No mesmo ano, os maiores produtores continentais de leite bovino foram Estados Unidos, Índia e Brasil (Quadro 1). O Brasil ocupou o terceiro lugar entre os produtores de leite bovino do mundo, com 33,5 milhões de litros/ano (FAO, 2019). O sistema agroindustrial de laticínios desempenha papel fundamental nos cenários econômico e social, principalmente por sua capacidade de geração de emprego e renda, pois emprega mais de 2 milhões de pessoas no mundo (ZOCCAL, 2017).

Quadro 1 - Maiores produtores mundiais de leite bovino em 2017.

País	Produção (Mil toneladas)
Estados Unidos da América	97,7
Índia	83,6
Brasil	33,5
Alemanha	32,6
Federação Rússia	30,9
China	30,4
França	24,4
Nova Zelândia	21,4
Turquia	18,8
Paquistão	16,1

Fonte: FAO (2019).

O potencial para a produção de leite e a expansão do mercado de lácteos no Brasil é um dos principais fatores de boas oportunidades de negócios e sua importância no desempenho econômico no país é incontestável. O desenvolvimento da cadeia de produção de leite, é justificada pelo desenvolvimento econômico do país, melhoria no nível de instrução, capacidade pecuarista, aumento do número de vacas ordenhadas e capacidade produtiva de animais brasileiros (RAMOS et al., 2016).

Das cem maiores empresas de leite do Brasil, 51% está localizada na região Sudeste, 31% na região Sul, 11% no Centro-Oeste e 7% no Nordeste. Segundo pesquisa realizada nessas empresas o maior desafio da atividade leiteira é a mão de obra (14,2%), o custo de produção (13,1%) e a sanidade (8%) (MILK POINT, 2018). No território nacional encontra se espalhadas cerca de 1.700 indústrias de laticínios fiscalizadas, dentre essas 35% fica na região centro-sul de Minas Gerais (ZOCCAL, 2016).

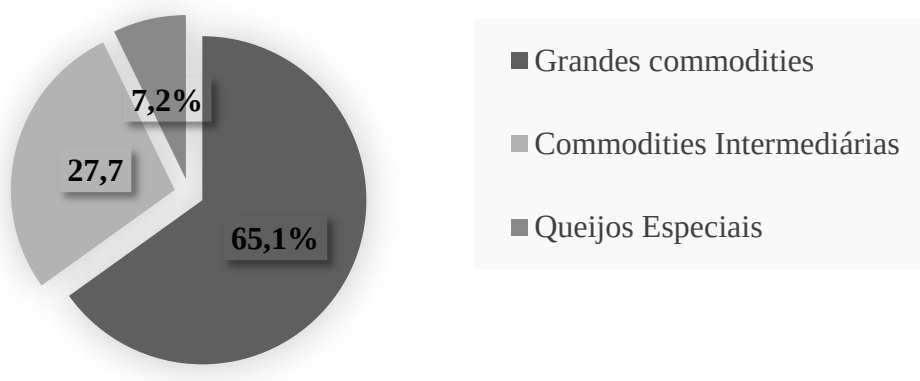
A precificação do leite passa pela análise de vários aspectos, como a composição centesimal, que inclui o conteúdo de gordura, proteína, lactose, extrato seco total e extrato seco desengordurado; o componente higiênico-sanitário, que inclui a contagem de células somáticas e contagem bacteriana total; e fatores ligados à área socioeconômica, cultural e edafoclimática (RAMOS et al., 2016; VARGAS et al., 2018).

Um dos produtos lácteos mais apreciados no Brasil é o queijo. Por isso, um em cada três litros de leite segue para a fabricação de queijo e, a partir de 2014, a produção de queijos superou 1 milhão de toneladas. Segundo estimativas da Associação Brasileira das Indústrias

de Queijo (ABIQ), há mais de 70 tipos de queijos de produção nacional disponíveis aos consumidores, e, incluindo os importados, a soma supera 200 opções no mercado (BRASIL, 2018a).

Dentre os queijos produzidos com selo de inspeção em 2017, os campeões no volume de vendas nacionais, com 65,1%, foram queijos considerados como grandes *commodities*, que incluem o muçarela, o prato e o requeijão culinário; 27,7% foram as *commodities* intermediárias, formadas pelos queijos frescos, fundidos, cremosos, coalho, ralado; e 7,2% de queijos especiais, como os que apresentam mofos brancos e azuis, suíços, duros e semiduros e amarelos especiais (Figura 1).

Figura 1 - Divisão em volume do mercado brasileiro de queijos em 2017.



Fonte: ABIQ (2019¹).

A transformação do leite em queijo é complexa e diversificada, o que aumenta a variedade de queijos no mundo (FOX et al., 2017).

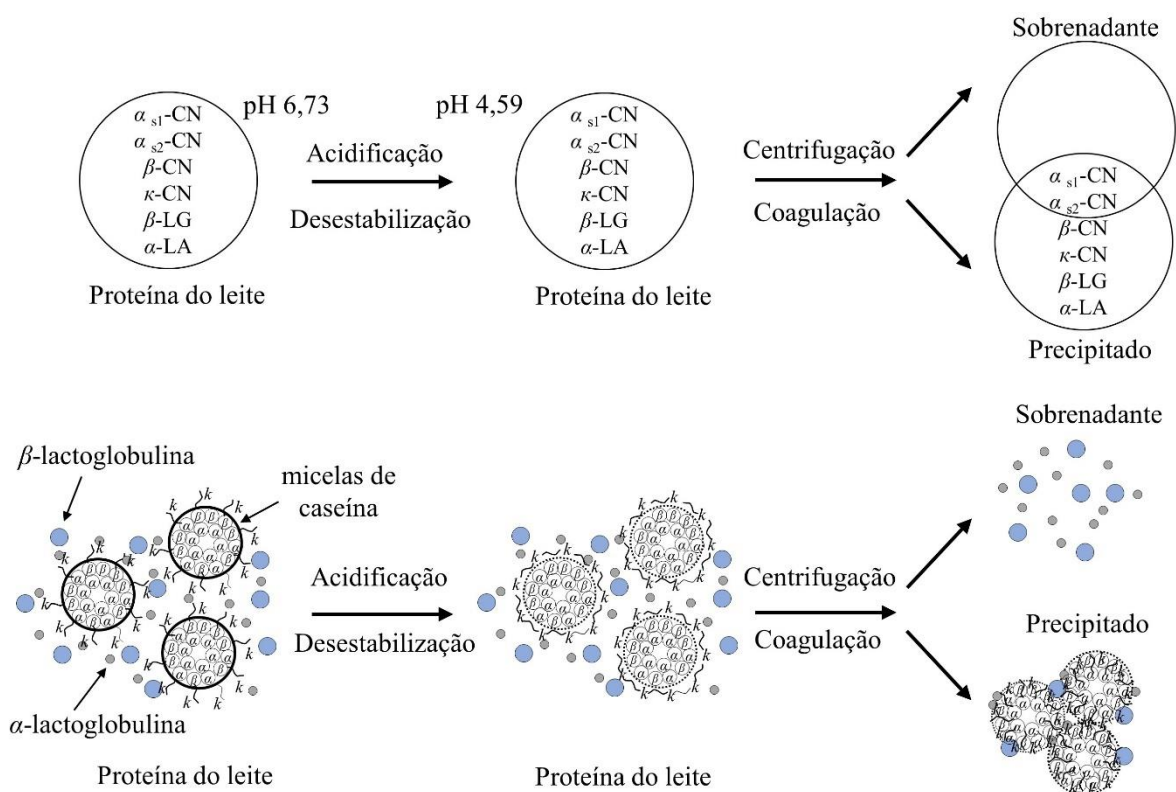
Segundo o MAPA, queijo “é um produto lácteo fresco ou maturado que se obtém por meio da separação parcial do soro em relação ao leite ou ao leite reconstituído-integral, parcial ou totalmente desnatado- ou de soros lácteos, coagulados pela ação do coalho, de enzimas específicas, produzidas por micro-organismos específicos, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem adição de substâncias alimentícias, de especiarias, de condimentos ou de aditivos” (BRASIL, 2017, p. 69).

A estrutura interna da micela de caseína é constituída principalmente por $\alpha 1$ -, $\alpha 2$ -, β -caseína e de nanopartículas de fosfato de cálcio coloidal, enquanto que a κ -caseína está

¹ Notícia fornecida pela Desk research ABIQ- 2019. Comunicado enviado pelo e-mail pessoal.

localizada preferencialmente na superfície da micela, conforme representado na Figura 2 (DALGLEISH, 2011). As enzimas proteolíticas de micro-organismos iniciadores adicionados ao leite reduzem lactose a ácido láctico, diminuem o pH de 6,7 para pH 5 a 6 para as diferentes variedades de queijo, permitindo assim a coagulação (EVERETT; AUTY, 2008). Essa acidificação desidrata as proteínas e reduz sua carga; as ligações que mantêm as micelas de caseína juntas tornam-se mais fracas e escassas; as micelas de caseína se contraem e começam a se fundir; quando se tornam mais fortemente ligadas para formar uma densa matriz (O'CONNELL et al., 2006).

Figura 2 - Representação da coagulação da proteína do leite.



Fonte: Chen et al., 2016 (adaptado).

A desestabilização da micela de caseína é utilizada industrialmente para a produção de queijos e para o controle das propriedades nutricionais, sensoriais e de textura do produto final (DE KRUIF et al., 2012). No entanto, para que um queijo tenha um bom rendimento é necessário considerar a composição do leite, variedade do produto elaborado, condições do processamento, relação entre caseína e gordura e umidade final do produto (VAN BOEKEL, 1994).

O processo de salga envolve a absorção do sal pela massa e facilita a expulsão do soro da mesma, resultando na redução da umidade, mudança da textura, aumento da vida útil do queijo, controle da atividade enzimática, retardamento da multiplicação de bactérias e conferindo sabor ao produto, além de ser um dos aditivos alimentares mais utilizados e mais baratos existente no mercado (GUINEE, 2004; WACHOWSKA; ADAMCZAK, 2018).

A produção e o consumo de leite e derivados no Brasil seguem as normas do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, que regula e inspeciona os padrões de identidade e qualidade sanitária dos produtos de origem animal. Conforme o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos (RTIQQ) os queijos são classificados de acordo com o teor de umidade (% m/m) e de gordura no extrato seco (% m/m), sendo subdivididos em extragordo ou duplo creme (mínimo de 60%); gordo (45% a 59,9%); semigordo (25% a 44,9%); magro (10% a 24,9%) e desnatado (menos de 10%) (BRASIL, 1996).

A classificação dos queijos também pode ser feita de acordo com o conteúdo de umidade, em porcentagem, dos quais podem-se citar: queijo de baixa umidade, com umidade de até 35,9%; queijos de média umidade (36,0 e 45,9%); queijos de alta umidade (46,0 e 54,9%); queijos de muita alta umidade, cuja umidade não seja inferior a 55,0% (BRASIL, 1996).

2.2 QUEIJO REINO: ORIGEM, DEFINIÇÃO E LEGISLAÇÃO BRASILEIRA

A história do queijo Reino começou nos tempos do Brasil colonial. A família real portuguesa trazia o queijo Edam importado da Holanda, o qual apresentava cor clara e sabor suave. O queijo era parafinado e acondicionado em latas metálicas (Figura 3- A e B) de folhas de flandres, processo inexistente no mercado europeu, que mantinha o ambiente com baixa concentração de oxigênio ao redor do produto, funcionando como barreira ao desenvolvimento de mofos. Após três meses de viagem nos porões dos navios, recebia o termo “do reino” por ser um produto advindo de Portugal, além de apresentar mudanças na característica físicas, químicas e sensoriais (AMARANTE, 2015; FURTADO, 2007).

O queijo Reino passou a ser o primeiro queijo maturado a ser produzido industrialmente na região da Mantiqueira em Minas Gerais em 1888 (AMARANTE, 2015). O pecuarista Carlos Pereira Sá Fortes importou gado da raça Holandesa para a região, comprou maquinário alemão e holandês e contratou os técnicos Jan Kingma, Jan Frerichs e J. Etienne (FURTADO, 2008). A produção inicial obteve grande aceitação e o consumo se popularizou

também entre as classes mais abastadas na região nordeste do país. Como era um queijo raro, passou a ser oferecido como presente para desejar prosperidade, uma tradição que se perpetua até os dias atuais na região (FREITAS, 2015).

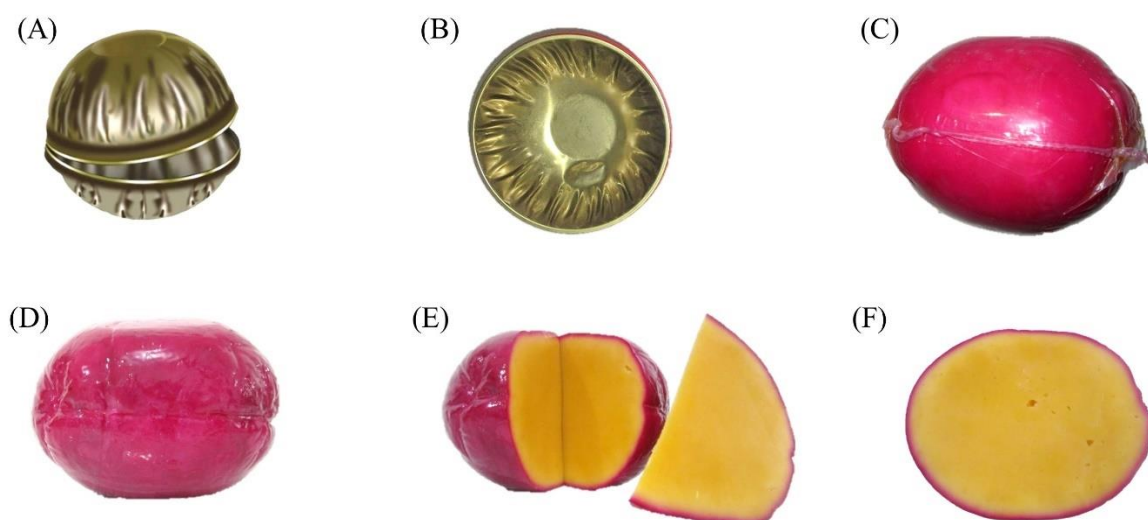
O queijo Reino foi produzido por muito tempo em pequenas fábricas na região da Mantiqueira, que reunia condições geográficas parecidas com a Europa, apesar do Estado de Minas Gerais ter um consumo irrisório do produto (AMARANTE, 2015). Atualmente, o queijo é produzido em laticínios situados na região Sudeste, estando cerca de 70% das instalações no Estado de Minas Gerais (AMARANTE, 2015; FREITAS, 2015). Pernambuco é responsável por 75% do consumo do queijo Reino no Brasil, seguido da Bahia, com 20% das vendas que são intensificadas no período das festividades de São João (JORNAL DO COMMERCIO, 2017).

O maior consumo do queijo Reino na região Nordeste se deve à invasão e ocupação holandesa na época colonial. Os descendentes dos europeus permaneceram na cidade e incorporaram o queijo Reino ao seu cotidiano (AMARANTE, 2015).

Segundo Vitória Barros, responsável técnica da empresa Campo da Serra, um dos poucos laticínios localizados no Nordeste do Brasil, informou que “o queijo Reino é um produto sazonal, cheio de simbologia, com uma fabricação complexa pois são necessários em média 14 litros de leite para produção de 1 kg de queijo, tempo de maturação elevado, necessitando de mão de obra e gasto energético para manter a temperatura ideal de maturação durante longos períodos; depois os produtos finais ainda são pintados um por um, o que torna o preço ainda mais elevado” (NETV, 2017).

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento “queijo Reino é um produto que apresenta crosta fina, sem trincas, com pintura característica na cor vermelha ou rósea, com formato esférico”. As características sensoriais do queijo Reino são consistência semi-dura a dura; textura compacta, fechada e eventualmente com pequenas olhaduras mecânicas; cor homogênea, amarelada ou amarelo alaranjado; sabor próprio, levemente picante a picante; e aroma pronunciado característico. Para atingir esses aspectos o queijo deve sofrer maturação por um período mínimo de 35 dias (BRASIL, 2018b), conforme sugere (Figura 3- C, D e F).

Figura 3 - Parte externa (A) e interna (B) da lata metálica com folhas de flandres utilizada como embalagem para o queijo Reino, queijo Reino embalado a vácuo com embalagem plástica termo-encolhíveis (cry-o-vac®) (C), parte externa (D) e interna (E) do queijo Reino sem embalagem e parte interna do queijo Reino com presença de pequenas olhaduras (F).



Fonte: Acervo pessoal.

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade, o queijo Reino é classificado como queijo gordo, de baixa a média umidade. É necessário controlar a temperatura durante a maturação para que a mesma não seja superior a 20 °C quando se deseja obter um produto com baixa umidade, enquanto que para obter um queijo de média umidade a temperatura durante a maturação não pode ser superior a 12 °C (BRASIL, 2018b).

O queijo Reino é considerado um alimento tradicional por apresentar os seguintes aspectos: produto frequentemente consumido ao longo do tempo ou associado a celebrações ou temporadas; forte crença sobre características nutricionais e sensoriais que deve ser transmitida de uma geração para outra; preparação e consumo específico, de acordo com a herança gastronômica e a associação a uma determinada área, região ou país (BONCINELLI et al., 2016; GUERRERO et al. 2009).

Segundo Amarante (2015) e Furtado (2008) existem dois grupos de consumidores de queijo Reino. Na região Nordeste, onde cerca de 70% da produção deste tipo de queijo é destinada, encontram-se os apreciadores de queijo Reino com textura firme, sabor marcante e salgado resultante da aplicação da tecnologia tradicional. Os consumidores da região Sudeste preferem um queijo menos maturado, com sabor mais suave, pouco salgado e mais macio. A comercialização está concentrada nas cidades de São Paulo e Rio de Janeiro, em parte pela

grande quantidade de imigrantes nordestinos residentes nessas cidades. É preferencialmente consumido puro ou em sanduíches.

Alimentos tradicionais têm enfrentado novos desafios de mercado por diferentes razões (BONCINELLI et al., 2016), assim como o queijo Reino. A principal delas é a adequação aos anseios do consumidor que busca uma alimentação saudável, o que tem incentivado o melhoramento de processos e o desenvolvimento de novos ingredientes e produtos na indústria de alimentos (BIGLIARDI; GALATI, 2013; VAGULA et al., 2017).

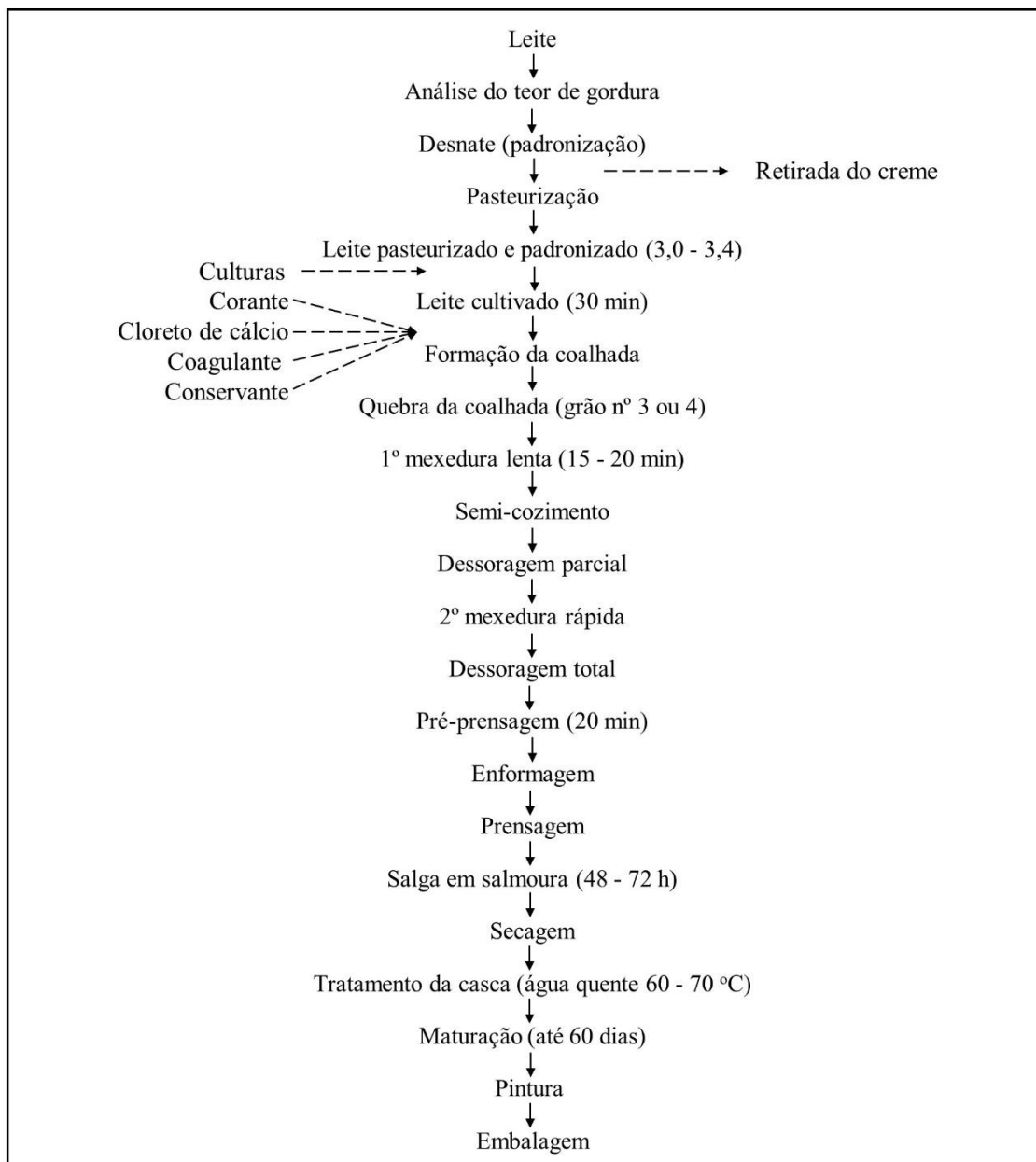
Uma característica tradicional do queijo Reino é ter sua embalagem em latas esféricas, hermeticamente fechadas. As marcas de queijo Reino mais tradicionais do mercado ainda são comercializadas nessas embalagens, um diferencial desse tipo de produto, agregando valor e protegendo-o dos impactos mecânicos do transporte (FURTADO, 2007; 2008).

A embalagem tradicional do queijo Reino pode apresentar de 1,8 a 2 kg (BRASIL, 2006), mas algumas empresas buscam associar os anseios dos consumidores às suas próprias necessidade e utilizam embalagens diferentes da tradicional. Assim, para garantir um bom faturamento, algumas empresas, criaram alguns tipos de embalagem como: “meia lata”, latas redondas e cilíndricas com tamanho menor e reaproveitáveis, oferecendo, assim, quantidade menor do produto e, conseqüentemente, um preço também menor, mas mantendo o charme da lata. Outra possibilidade de embalagem é encontrada na comercialização do produto fatiado e embalado à vácuo (AMARANTE, 2015).

2.3 PROCESSAMENTO DO QUEIJO REINO

De acordo com a instrução normativa nº 48, de 29 de outubro 2018, os ingredientes obrigatórios para fabricação do queijo Reino incluem leite ou leite reconstituído, isolado ou em combinação, padronizado ou não em seu teor de gordura, proteína ou ambos; cultivo de bactérias lácticas; coalho ou outras enzimas coagulantes, e cloreto de sódio. O leite em pó, creme de leite, creme de soro, manteiga, gordura anidra de leite, *butter oil*, concentrado de proteína de leite, concentrado de proteína de soro de leite, caseína, cloreto de cálcio, substitutos de cloreto de sódio e condimento, especiarias, produtos de frutas, cereais e legumes, são ingredientes opcionais. A cor externa é dada exclusivamente pela fucsina (BRASIL, 2018b).

O processamento tradicional das formulações do queijo Reino foi adaptado de Amarante (2015), Furtado (2008), Taveira (2013) e Taveira et al. (2015) (Figura 4).

Figura 4 - Tecnologia básica de fabricação do queijo Reino tradicional.

Fonte: Adaptados de Amarante (2015), Furtado (2008), Taveira (2013) e Taveira et al. (2015).

Originalmente, era empregado o leite bovino cru e integral para fabricação do queijo Reino, atualmente, o leite é pasteurizado (71-73 °C/ 15-17 segundos), em pasteurizadores de placas. O leite continua sendo integral e com teores não padronizados de gordura nas fábricas tradicionais, conseqüentemente, o queijo terá teores variados de gordura. As fábricas adaptadas com novas tecnologias padronizam o leite para cerca de 3,0-3,4% m/v de gordura. Quanto ao rendimento, por sua vez, geralmente são empregados de 10 a 11 litros de leite para elaborar 1 kg de queijo Reino.

Os ingredientes mais utilizados são o cloreto de cálcio 50% (40-50 mL/100 L/leite), caso o leite tenha sido pasteurizado, para melhorar a coagulação, os conservantes nitratos de sódio e de potássio ou sua associação, podem ser utilizados, com máximo de 0,02% ou 0,005 g, sobre o quilo do queijo, usado para prevenir o estufamento dos queijos no produto final, expresso em íon nitrito, conforme preconiza a Resolução CNS/MS nº 04, de novembro de 1988 (BRASIL, 1988), e o corante natural de urucum (5-30 mL/ 100 L/leite) para dar a eles uma coloração mais intensa, mas a dose irá depender da sua concentração.

Os fermentos lácticos utilizados são geralmente compostos de fermento termofílico *Lactobacillus helveticus* (na dose de 1,0 - 1,5% m/v) ou combinado com outros cultivos tradicionais mesofílico, do tipo “O” (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*) ou fermento láctico “LD” (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* e *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*). O uso de *L. helveticus* tende a tornar o queijo mais firme, mais seco e de sabor mais acentuado e o uso de cultivos “LD” favorece a formação de aroma mais intenso e de olhaduras pequenas, lisas ou irregulares. Após a adição do fermento ocorre a incubação por cerca de 30 minutos.

A coagulação acontece entre 32 - 34 °C, por 30 - 40 minutos, a quantidade da dose é a recomendada pelo fabricante do coalho. Sequencialmente é realizado o corte da coalhada, sendo que o coágulo deve ser cortado com o auxílio de liras verticais e horizontais de forma manual ou mecânica, em grãos nº 3 (queijo mais úmido) ou grãos nº 4 (queijo mais seco e firme), onde é possível controlar o teor de umidade e textura do queijo. Depois do corte, a massa deve permanecer em repouso por cinco minutos.

A primeira mexedora é realizada lentamente, por 15 - 20 minutos e, então, é feito a dessoragem parcial ou retirada de 30 - 35% v/m do soro da massa. Nas fábricas tradicionais, que produzem um queijo de sabor mais acentuado, a retirada de soro após a primeira mexedura e a adição de água para lavagem ou delactosagem, durante a segunda mexedura, é menos intensa. Em contrapartida, as fábricas que produzem queijos mais suaves procedem a uma delactosagem mais intensa.

Na etapa de semi-cozimento é adiciona-se 15 - 20% de água quente em temperatura regulada de 75 - 80 °C, aos poucos, até que a massa atinja a temperatura de 45 °C, que facilita a ação do *L. helveticus*, esse aquecimento deve ser lento (20 minutos).

Realiza-se então a segunda mexedora, sob agitação constante e intensa, de forma a evitar a formação de aglomerados e provocar maior sinérese, isto é, expulsão do soro e poderá ser complementado com vapor indireto na camisa do tanque (espécie de serpentina lateral

soldada encostada do tanque), portanto sem contato direto com a massa. O tempo de agitação se prolonga até o ponto, verificado empiricamente, quando os grãos apresentam mais secos, mais firmes, e com “liga” adequada.

Na dessoragem total, quase todo soro é retirado. Em seguida, acontece a pré-prensagem da massa, cuja finalidade é transformar os grãos em um bloco relativamente homogêneo, deve ser feita no tanque de fabricação, com o auxílio das placas de pré-prensagem de peso relativo ao dobro do peso da massa, por um período de 20 minutos em presença de soro.

A massa é então cortada em blocos e colocada em formas próprias para queijo Reino, revestidas com dessoradores. Em algumas fábricas a utilização de balança para pesar a massa, que deveriam pesar entre 1.500 e 1600 g.

Para a presagem final, os queijos passam inicialmente por prensas pneumáticas com dessoradores por 10-15 minutos e, em seguida, são virados e presados por mais 10 - 15 minutos, sem dessoradores. Depois disso, ainda são presados novamente até o dia seguinte, passando no mínimo 14 horas na prensa. No dia seguinte acontece a salga em salmoura, onde os queijos são retirados da prensa e colocados em uma solução de salmoura com cerca de 20% de sal ou 20 °Baumé, a uma temperatura de 10 - 12 °C. Eles permanecem na salmoura de 48 - 72 horas. No processo tradicional, a salmoura encontra-se em temperatura ambiente.

Após o período de salga, os queijos seguem para a etapa de secagem, por um período de 24 horas, para que não levem consigo a umidade da salmoura para a câmara de refrigeração. Algumas indústrias fazem o tratamento da casca com banho de água quente (60 - 70 °C) nos queijos, após a secagem, para tanto, os queijos são submersos em uma solução alcalina de 3 a 5% de óxido de cálcio (cal), a temperatura ambiente e depois são lavados com água quente, este processo faz com que a casca do queijo se torne mais uniforme e lisa. Com isso, evita ou diminui a incidência de fungos na casca.

O processo de maturação varia em função da tecnologia de fabricação adotada para elaborar o queijo. Tradicionalmente, o queijo é maturado por 40 dias. No entanto, atualmente, o período de maturação vem sendo reduzido para que haja menor desidratação e contaminação da casca do mesmo. O processo de maturação varia muito, tradicionalmente o queijo Reino é maturado por 60 dias, sem embalagem, a temperatura ambiente (18 a 20 °C), os queijos são virados diariamente. Nestas condições, os queijos sofrem considerável desidratação e formam uma casca relativamente espessa, perdendo bastante massa. Há um grande desenvolvimento de fungos filamentosos na casca, os queijos são lavados no meio do processo e raspados ao final do período. Nas fábricas não tradicionais, os queijos são

maturados por um período mais curto, muitas das vezes são maturados já tingidos e embalados.

Os queijos tradicionais maturam por longo tempo, formando uma casca relativamente espessa. Antes de ser lavada e pintada, a casca é rapada para tirar todo o mofo. Os queijos são inteiramente pintados, a casca é raspada para tirar todo o mofo. Os queijos são inteiramente pintados com uma mistura de solução de cristais de magenta, solução amoniacal de carmim e solução de tornassol ou fucsina.

Finalmente, ocorre a embalagem dos queijos. Tradicionalmente, os queijos são embalados inteiros, em latas esféricas de folhas de flandres vermelhas. Os queijos não destinados a esse tipo de embalagem são envasados em filme plástico a vácuo, em peças inteiras ou fatiados. Na maioria das vezes os queijos são vendidos à temperatura ambiente, as latas têm também finalidade de proteção.

2.4 REDUÇÃO DE GORDURA E SÓDIO: TENDÊNCIA NO MERCADO DE QUEIJOS

A área de laticínios é a que mais inova com produtos diferenciados para comercialização e tem papel de destaque na indústria de alimentos. O desenvolvimento de produtos orientados para o mercado é considerado como um dos principais fatores de sucesso na comercialização de alimentos e pode diminuir a alta taxa de insucesso de novos produtos (ANTONIALLI et al. 2018; GRUNERT; VAN TRIJP, 2014; OGAWA; PILLER, 2006).

Os consumidores, em geral, estão buscando alimentos mais saudáveis devido a maior compreensão dos aspectos ligados à saúde e à dieta. Uma tendência no mercado de alimentos processados é a ausência ou redução de ingredientes como, por exemplo, a diminuição do teor de sódio e de gordura (JANUSZEWSKA et al., 2012; LÓPEZ-LÓPEZ et al., 2010; PIERNAS; NG; POPKIN, 2013).

O aumento da quantidade de sódio na dieta acima do limite recomendado causa a elevação da pressão arterial e tem sido associado a problemas de saúde com adversos resultados. Estimou-se na década de 1990 que a redução do consumo médio diário de sal em 100 mmol/dia ou 5,85 g de NaCl/dia, que beneficiaria a população, reduzindo a incidência de Acidente Vascular Cerebral em 39% e doenças coronarianas em 30%, resultando em medidas preventivas simples e econômicas (LAW; FROST; WALD, 1991).

No Brasil, a ingestão de cloreto de sódio é estimada em cerca de 12 g por dia, valor bem acima dos valores recomendados pela Organização Mundial da Saúde (5 g de NaCl ou 2 g de sódio por dia) (NILSON; JAIME; RESENDE, 2012). Uma das alternativas para reduzir o

teor de sódio em alimentos, como queijos maturados é substituir parte do NaCl por KCl, pois, estudos comprovam que é possível obter um produto com alta aceitação do consumidor mantendo sua qualidade (GRUMMER et al., 2012; 2013).

Um dos componentes mais importantes dos alimentos que mais preocupam a saúde do consumidor é o perfil de ácidos graxos dos alimentos, que inclui ácidos graxos de cadeia curta, intermediária e longa (MATERA et al. 2018). Alguns ácidos graxos saturados (SFAs) como ácido láurico (C12:0), mirístico (C14:0) e palmítico (C16:0) podem ser responsáveis pelo aumento da concentração plasmática de gordura que tem um claro impacto no aumento da incidência de doenças coronarianas (WILLIAMS, 2000). Já os ácidos graxos monoinsaturados e polinsaturados têm efeito hipocolesterolêmico no corpo, devido redução de colesterol no sangue, por isso, devem ser considerados quando se avaliam os perfis lipídicos do alimento (RODRÍGUEZ-ALCALÁ et al. 2013).

O aumento da ingestão de gordura trans (> 1% da ingestão total de energia) está associado com o incremento do risco de mortalidade e eventos de doença cardíaca coronária. A ingestão de gorduras trans é responsável por mais de 500 mil mortes por doença cardíaca coronária a cada ano em todo o mundo. Assim, foi desenvolvido o “REPLACE” como um plano com seis etapas de ações que visam a eliminação global de gordura trans produzida industrialmente nos alimentos. Estando incluído a revisão de fontes alimentares com gordura trans produzidos industrialmente e avaliar o panorama para as mudanças políticas necessárias; promover a substituição de gorduras trans produzidas industrialmente por gorduras e óleos mais saudáveis; legislar ou promulgar ações regulatórias para eliminar gorduras trans produzidas industrialmente; avaliar e monitorar o teor de gorduras trans no suprimento de alimentos e as mudanças no consumo de gordura trans da população; conscientizar os formuladores de políticas, os produtores, os fornecedores e o público sobre o impacto negativo das gorduras trans na saúde; e estimular a conformidade de políticas e regulamentos (WHO, 2018).

O alimento tradicional também está enfrentando este desafio no mercado, pois o conhecimento sobre a informação nutricional motiva a incorporação de nutrientes nas escolhas alimentares, a fim de promover metas de saúde e bem-estar alimentar, o que pode interferir na forma de processamento de um alimento tradicional para atender o consumidor que deseja um alimento nutricionalmente balanceado, o que pode resultar na descaracterização do produto (BLOCK et al., 2011; BONCINELLI et al., 2016; DIAMANTINO; PENNA, 2011; VIDGEN; GALLEGOS, 2014). A redução de gordura e sódio em queijos é um desafio para indústria de alimentos, pois esses componentes geram

grandes alterações nos aspectos físico-químicos e sensoriais, destoando da versão integral do produto.

Estudos sobre a intenção de compra são cruciais para compreender as escolhas dos consumidores e atingir o sucesso das vendas. Esta técnica pode ser utilizada para a pesquisa de mercado, que é o estudo comportamental do consumidor e leva em consideração as características individuais, sociais e culturais, além de influências situacionais que interferem no momento da compra. Saber quem é o consumidor, qual sua posição na escala social, faixa etária, renda, entre outras informações pessoais é fundamental para compreender o estilo dos consumidores e direcionar o produto para o nicho que se deseja atingir (GRUNERT et al., 2014; CASTRO et al., 2006).

As pesquisas de mercado utilizam a opinião do consumidor mediante formulações de perguntas, estruturadas ou semi-estruturadas, para sanar os problemas da empresa ou simplesmente obter informações sobre seu produto. Para isso podem utilizar um público novo ou já formado, porque, através da pesquisa, a empresa identifica clientes em potencial. Ao pesquisar, a empresa também pode atender melhor seus clientes e avaliar seus produtos e serviços (MALHOTRA, 2001; RATTO; ALBERNAZ; PELTIER, 2004).

Segundo Hoppe et al. (2017), integrar as percepções do consumidor ao desenvolvimento de produtos requer, em primeiro lugar, a coleta de informações dos consumidores usando diferentes abordagens qualitativas e quantitativas e, em seguida, transformar estas informações em conhecimento que é acionável no desenvolvimento de produtos. Os resultados sugerem que o comportamento inovador e atitudinal deve ser o foco quando se seleciona consumidores para participar das atividades de desenvolvimento de novos produtos alimentícios.

Em revisão de literatura, diversos estudos são encontrados com foco na diminuição e/ou substituição de gordura e sódio na formulação de queijos, conforme disposto na Quadro 2.

Quadro 2- Pesquisas acadêmicas em acervos nacionais e internacionais, realizadas com queijos com ajustes no teor de gordura e/ou sódio.

Tipo	Objetivo	Resultado	Autores
Feta	Investigar a redução do teor de sódio no queijo Feta usando misturas de NaCl e KCl no processo de salga, sem afetar a qualidade, e determinar sua composição físico-química, as propriedades sensoriais e de texturas	Queijo de qualidade altamente aceitável podem ser produzidos utilizando uma mistura de NaCl e 3: 1 e 1: 1 (p/p) KCl em vez de NaCl. Estes queijos não diferiram significativamente ($p > 0,05$) do queijo controle qualquer respeito, mas continha cerca de 25 e 50% menor sódio, respectivamente	Katsiari et al. (1997)
Requeijão	Otimizar a formulação de requeijão sem adição de gordura e com teor reduzido de sódio utilizando a combinação de sais fundentes Joha S9 (a base de fosfatos de sódio) e Joha SK75	Com a utilização da mistura de sais fundentes Joha SK 75 e Joha S9 é possível obter queijo Requeijão cremoso	Van Dender et al. (2012)
Cheddar	Utilizar misturas de NaCl com KCl, $MgCl_2$ ou $CaCl_2$, em diferentes concentrações para analisar as diferenças físicas e sensoriais do queijo Cheddar	O uso de $CaCl_2$ e $MgCl_2$ para reduzir o sódio em queijo tipo Cheddar resultou em diferenças de sabor em comparação com o controle, e estes sabores (amargo, metálico, terroso, sujo e ensaboado) não seria desejável em queijo de alta qualidade. Queijo feito com NaCl + KCl e NaCl + KCl modificado foram similares aos queijos produzidos com NaCl na maioria dos aspectos. Isso indica que o KCl pode ser usado conseguir com sucesso grandes reduções de sódio quando substituindo uma porção do NaCl no queijo Cheddar	Grummer, et al. (2013)

Edam e Gouda	Avaliar a aceitação sensorial do queijo com diferentes teores de cloreto de sódio: padrão (queijo P), reduzido em 15% (queijo P-15) e reduzido em 25% (queijo P-25). Avaliar a influência de diferenças de rotulagem nutricional na aceitação do consumidor e intenção de compra	Embora não houvesse diferença estatística significativa na aceitação global do queijo com diferentes níveis de redução de cloreto de sódio, o queijo com cloreto de sódio reduzido em 15% recebeu um pouco mais de classificações altas	Czarnacka-Szymani; Jezewska-Zychowicz, (2015)
Mozzarella	Investigar os efeitos da redução simultânea de gordura e sal, para 11% e 1,0%, respectivamente, nas propriedades composicionais, bioquímicas e funcionais queijo mozzarella	A redução de gordura e sódio em queijo Mozzarella, resultou num produto com níveis mais altos de umidade e proteína. A redução de sódio reduziu a firmeza e mastigabilidade e aumentou a adesividade média do queijo	Henneberry et al. (2015)
Minas Frescal	Avaliar as características físico-químicas e sensoriais de queijo Minas padrão com substituição parcial de NaCl por KCl e com reduzido teor de gordura, adicionado de <i>L. helveticus</i> e <i>S. thermophilus</i> como cultura adjunta	A substituição do NaCl por KCl não influencia a proteólise e ao nível de 70% não interfere ou inibe as culturas lácticas	Santis, (2016)
Prato	Avaliar o efeito da substituição parcial de NaCl por substitutos de sódio sobre as características físico-químicas, sensoriais, capacidade de fusão e perfil de textura do queijo Prato	A substituição parcial do NaCl pelo uso de substitutos de sódio (KCl, Sub4salt [®] e Salona [™]) não interferem na capacidade físico-química, na capacidade de fusão e no perfil de textura dos queijos Prato. Os queijos apresentaram escores de aceitação similares quando comparados ao tratamento controle, tornando-os uma	Costa et al. (2018a)

alternativa viável para a indústria de laticínios			
Coalho	Avaliar o desempenho físico-químico, sensorial e características microbiológicas, capacidade de fusão, perfil de ácidos graxos e perfil de textura de queijo de coalho com teor reduzido de sódio usando KCl como substituto do sal	A redução de sódio pela substituição de NaCl por KCl não afetou significativamente a composição centesimal, proteólise, fusão capacidade, contagens microbianas, textura e pH de queijo Coalho quando comparados controle. Dez descritores realizaram teste sensorial e as menores escores de aceitação foram observadas para os níveis de substituição superiores a 50% de NaCl. Portanto, a substituição parcial de até 50% de NaCl por KCl pode ser uma alternativa adequada para este produto	Costa et al. (2018b)
Cheddar	Investigar o efeito da adição de alginato nas características físicas como textura, cor e microestrutura de Queijo Cheddar com baixo teor de gordura e comparar com queijo controle	Os resultados indicaram que a redução de gordura no queijo levou a um aumento em dureza, microestrutura mais densa e pobre desenvolvimento de cor. Determinadas concentrações de alginato torna o queijo de baixo teor de gordura foram mais macios, coeso e suave	Khanal et al. (2018)

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCAL DE EXECUÇÃO

A pesquisa de mercado foi realizada em supermercados nas regiões Leste, Norte, Sul e Oeste da cidade de João Pessoa, sendo 100 questionários por região e 50 por bairro. A pesquisa de mercado permitiu escolher seis marcas comerciais de queijo Reino mais lembradas pelo consumidor para análise sensorial que foi posteriormente realizada com 120 consumidores, no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Tecnologia de Alimentos, situado no *Campus I*, da UFPB.

As etapas de elaboração e de caracterização físico-química e microbiológica do queijo Reino foram realizadas, respectivamente, no Laboratório de Processamento de Carnes e Pescado, no Laboratório de Análises Físico-Químicas e de Microbiologia, pertencentes ao Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional (CTDR), *Campus I*, Unidade de Mangabeira, da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

As análises de perfil de ácidos graxos e sensorial foram realizadas, pelo Núcleo de Pesquisa e Extensão de Combustíveis e de Materiais (NPE-LACOM) e no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Tecnologia de Alimentos, todos situados na Cidade Universitária, *Campus I*, da UFPB.

A análise de minerais do artigo I foi realizada no Laboratório de Análise Mineral, localizado na Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), já a do artigo II foi realizada no Departamento de Solos, na Universidade Federal de Viçosa (UFV), devido o equipamento danificado.

3.2 MATERIAL

O leite utilizado no processamento do queijo Reino foi adquirido em empresa do setor de bovinocultura com distribuidora na cidade de João Pessoa/PB, sendo 172 L de leite do mesmo lote, transportado em contêineres de polietileno de alta densidade e em seguida refrigerados (temperatura de 8 ± 2 °C). O queijo Reino foi fabricado utilizando culturas liofilizadas comerciais de *Lactobacillus helveticus* (LH-B02), culturas mesofílicas homofermentativas tipo O (R-704) e culturas mesofílicas aromáticas (CHN-22), além do corante de urucum e coagulante (CHY-MAX[®] Extra), ingredientes estes gentilmente cedidos pela Chr. Hansen[®] (Chr. Hansen, Valinhos, São Paulo, Brasil),

cloreto de cálcio líquido 40% foi adquirido na Rica nata Indústria e Comércio LTDA e natamicina da marca Sacco (Sacco Comércio, Importação e Exportação de Alimentos LTDA, Campinas, São Paulo, Brasil).

3.3 DESENHO EXPERIMENTAL

A pesquisa foi realizada em duas etapas (Figuras 5 e 6) inicialmente foi realizada pesquisa de mercado e, mediante os resultados obtidos houve a realização da análise sensorial, às análises físico-químicas, proteólise, cor instrumental, perfil de minerais e perfil de ácidos graxos para caracterização do produto comercial, dando origem ao artigo I. A segunda etapa correspondeu ao processamento de formulações do queijo Reino com redução de gordura e substituição parcial de NaCl por KCl, para atender os anseios do consumidor e após a maturação foi realizada a análise microbiológica, sensorial e às análises físico-químicas para caracterização do produto elaborado, resultando no artigo II.

Figura 5 - Desenho experimental da etapa I.

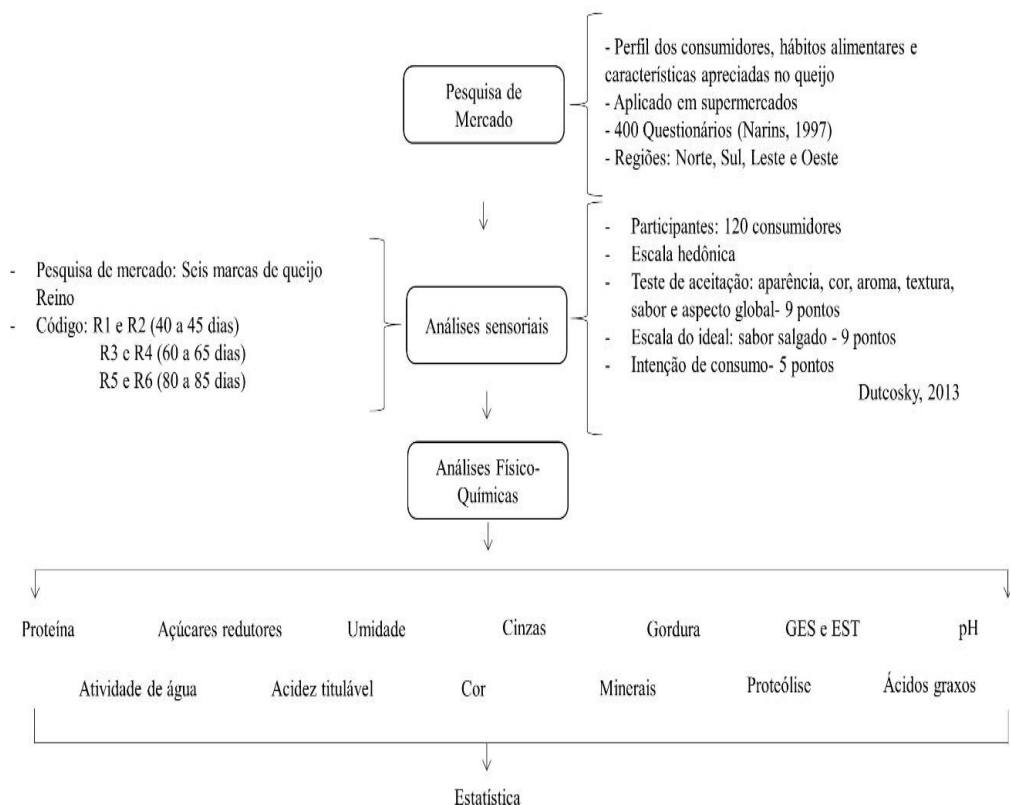
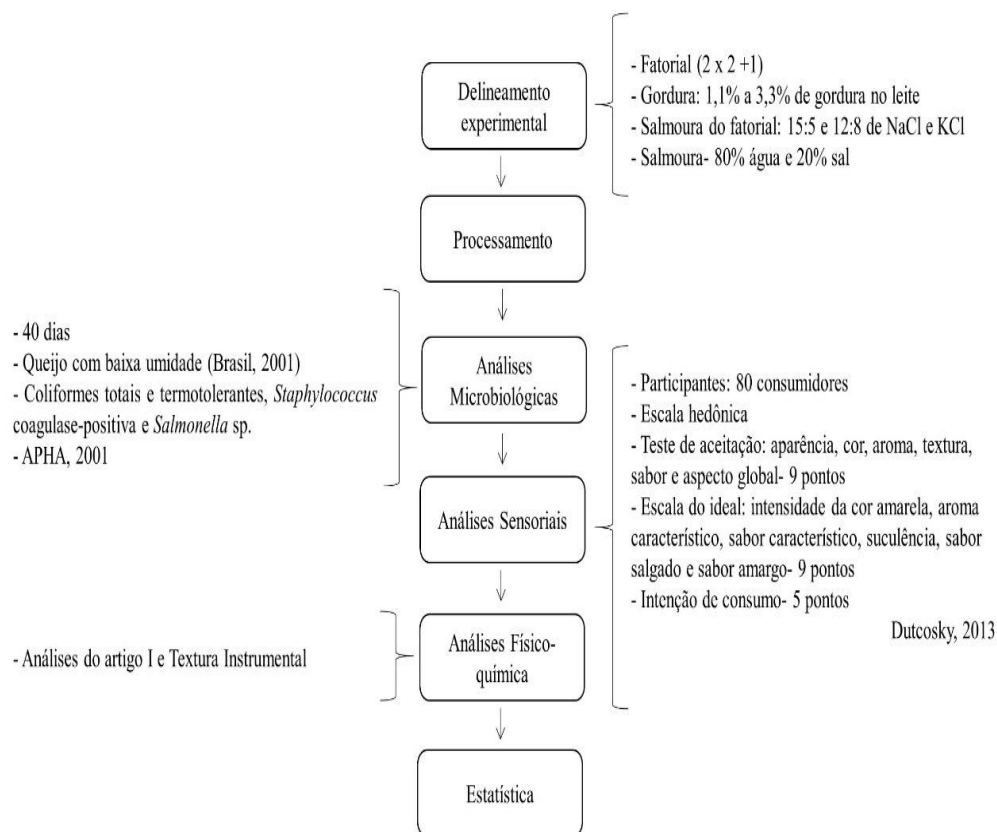


Figura 6 - Desenho experimental da etapa II.

3.4 ETAPA I- MARCAS COMERCIAIS DE QUEIJO REINO

3.4.1 Pesquisa de Mercado

O trabalho com a pesquisa de mercado e a análise sensorial foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba Certificado de Apresentação para Apreciação Ética - CAAE: nº 45191115.4.0000.5183; Protocolo: 106.027/2016), como reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), conforme Anexo A. Seguindo a Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012 e Resolução nº 510, de 7 de abril de 2016.

Por meio de uma pesquisa exploratória, descritiva e fundamentada na análise quantitativa foram aplicados 400 questionários para o cálculo da amostragem conforme a metodologia apresentada por Narins (1997), para populações finitas, considerando

população aproximada da cidade de João Pessoa, de 780.738 habitantes (BRASIL, 2014a).

As amostras foram coletadas igualmente em supermercados das regiões Leste (Manaíra e Bessa), Norte (Torre e Jaguaribe), Sul (Bancários e Mangabeira) e Oeste (Cruz das Armas e Oitizeiro) da cidade de João Pessoa, sendo aproximadamente 100 questionários por região e 50 por bairro.

Os dados foram coletados pela pesquisadora responsável pela tese e por um aluno voluntário da graduação, que foi treinado para realizar a entrevista. Foram convidados para participar da pesquisa consumidores de queijo Reino, maiores de 18 anos. Os questionários foram aplicados obtendo-se primeiramente o consentimento dos consumidores (Apêndice A) que foram informados sobre a proposta e a abrangência dos questionamentos. Foi assegurado o anonimato de cada participante, assim como, dos estabelecimentos pesquisados, conduzindo o estudo de maneira ética e responsável.

A população entrevistada foi caracterizada através das questões sobre gênero, faixa etária, grau de escolaridade, total de pessoas na residência e renda familiar. As informações sobre hábitos de consumo incluem a frequência de consumo do queijo Reino, período mais consumido, quais características mais apreciadas, parâmetros utilizados para a compra, entre outras perguntas de relevância para a pesquisa, conforme Apêndice B.

3.4.2 Análise sensorial

A partir do estudo de mercado, seis marcas de queijo Reino foram identificadas como as mais consumidas na cidade de João Pessoa, Paraíba – Brasil. A partir desta informação, seis peças inteiras (aproximadamente 1,5 kg) de queijos Reino foram adquiridas e coletadas do mesmo lote, e as amostras foram classificadas em três grupos de acordo com os dias de fabricação e identificadas utilizando-se os códigos: R1 e R2 (40 a 45 dias), R3 e R4 (60 a 65 dias) e R5 e R6 (80 a 85 dias).

As amostras de queijo Reino comerciais foram preparadas pelo corte utilizando um fatiador industrial (Braesi, modelo CFBA-030/1, Caxias do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil) a fim de obter fatias com, aproximadamente, 2 mm de espessura, que foram, a seguir, cortadas no formato de triângulo com um molde de aço inox, desprezando-se a casca, e armazenadas sob temperatura de 5 ± 1 °C até a realização do teste. As fatias de queijo foram colocadas em placas de Petri descartáveis previamente codificadas com

três dígitos aleatórios e a análise sensorial foi realizada em cabines individuais, com iluminação controlada (branca) e temperatura de 25 ± 1 °C. O queijo servido na análise foi acompanhado por água e por bolacha de água e sal. As amostras foram distribuídas de forma monádica, aleatória, com delineamento em blocos completos balanceados.

Os principais critérios de escolha dos julgadores foram: consumir o queijo Reino, ausência de doenças relacionadas à restrição ao sódio, à gordura e à lactose. Participaram da análise sensorial 120 consumidores maiores de 18 anos de idade. Os integrantes deste grupo foram alunos, funcionários e visitantes da Universidade Federal da Paraíba, *Campus I*. Após os consumidores aceitarem realizar o teste assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido – TCLE (Apêndice C) e a sessão foi realizada como descrito pela ISO 8589:2007 (ISO, 2007).

Os atributos aparência, cor, aroma, textura, sabor e aspecto global foram avaliados no teste de aceitação utilizando-se escala hedônica estruturada de categoria verbal de nove pontos, com escores variando de 1 (desgostei muitíssimo) até 9 (gostei muitíssimo). A escala do ideal para o gosto salgado também foi determinada a partir de escala hedônica estruturada de 9 pontos com valores variando de 1 (extremamente menos salgado que o ideal) até 9 (extremamente mais salgado que o ideal). A intenção de consumo do produto foi avaliada usando-se uma escala hedônica estruturada de cinco pontos variando de 1 (certamente não consumiria) até 5 (certamente consumiria), conforme metodologia de Dutcosky (2013) (Apêndice D).

3.4.3 Análises tecnológicas, físico-químicas e químicas

O queijo Reino foi caracterizado conforme as seguintes determinações analíticas, em triplicata:

- umidade e extrato seco total: pela secagem em estufa a 105 °C, até obtenção de peso constante, método n° 925.09 (AOAC, 2005);
- proteína: quantificação de nitrogênio por meio da digestão da amostra, utilizando-se o método de Micro-Kjedahl, multiplicando-se a porcentagem de nitrogênio pelo fator 6,38, método n° 939.02 (AOAC, 2005);
- açúcares redutores: redução de Fehling, seguiu a metodologia descrita por Miller (1959);
- gordura: utilizando o lactobutirômetro de Gerber, conforme metodologia n° 2000.18 (AOAC, 2005);

- gordura em extrato seco: utilizando com o resultado de umidade e de gordura, conforme método nº 925.23 (AOAC, 2005).
- cinzas: pela carbonização, seguida de incineração em mufla a 550 °C, método nº 930.30 (AOAC, 2005);
- atividade de água (Aa): com o auxílio do higrômetro Aqua-Lab digital, modelo 4 TE (Decagon devices, EUA), onde realizou-se as leituras na temperatura de 25 ±0,5 °C, método nº 978.18 (AOAC, 2005);
- acidez titulável (g/100g de ácido láctico): por titulação com hidróxido de sódio 0,1N, segundo método n. 920.124 (AOAC, 2005);
- pH: foram determinados usando potenciômetro digital (Tecnal[®], modelo TEC-5).

Análise de minerais

Os minerais sódio (Na), potássio (K), Cloro (Cl) e cálcio (Ca) foram quantificados por fluorescência de raios - X por energia dispersiva (FRX) a partir das cinzas das amostras. A energia de excitação utilizada foi de 50 keV e o detector operou a -176 °C. Amostras foram colocadas em cubetas cobertas por um filme de polipropileno de 5 µm de espessura. O equipamento utilizado foi o espectrômetro Shimadzu modelo EDX-720 (GUSMÃO et al., 2017).

Proteólise

O nitrogênio total (NT), nitrogênio solúvel (NS) em tricloroacético (TCA) foram determinados utilizando o método de Kjeldahl (AOAC, 2005). O teor de nitrogênio solúvel (NS) em pH 4,6 foi avaliado segundo o método descrito por Andreatta et al. (2007). Os índices de extensão e profundidade da proteólise (IEP e IPP, respectivamente) foram calculados conforme as equações 3 e 4:

$$\text{IEP} = (\text{NS pH a 4,6})/\text{NT} \times 100 \quad (3)$$

$$\text{IPP} = \text{NS em TCA}/\text{NT} \times 100 \quad (4)$$

Perfil de ácidos graxos

A determinação do perfil de ácidos graxos foi realizada em triplicata com a extração dos lipídios conforme metodologia descrita por Folch, Less e Stanley (1957) em seguida a gordura com o solvente foram submetidos a evaporação com nitrogênio gasoso. A gordura obtida sofreu o processo de esterificação metílica, seguindo a metodologia descrita por Hartman e Lago (1973) e a quantificação dos ácidos graxos foi obtida empregando-se curva de calibração com padrões de ésteres metílicos (Supelco® 37 Component FAME Mix). A análise foi feita em um sistema de cromatografia gasosa e espectrometria de massas (GC-MS-QP2010, Shimadzu, Kyoto, Japan) utilizando coluna Durabound DB-23 (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm). As temperaturas do injetor e do detector foram fixadas em 230 °C e a temperatura da coluna em 90 °C. O gradiente de eluição na coluna foi de 90 a 150 °C (10 °C/minuto), de 150 a 200 °C (2 °C/minuto), de 200 a 230 °C (10 °C/minuto) em um tempo total de corrida de 34 minutos com um split/splitless de 100. O gás de arraste foi o hélio com fluxo total de 187,2 mL/minuto, o fluxo do gás na coluna foi de 1,82 mL/minuto.

Os índices de aterogenicidade (IA) e trobogenicidade (IT) foram calculados de acordo com as equações (5 e 6) descrita por Ulbricht e Southgate (1991).

$$IA = [(C12:0 + 4 \times C14:0 + C16:0)]/AGMI + (n-6) + (n-3) + C18:1 \quad (5)$$

$$IT = (C14 + C16 + C18)/(0.5 \times (C18:1 + AGMIs + (n-6)) + (3 \times (n-3)) + ((n-3)/(n-6))) \quad (6)$$

A porcentagem de ácidos graxos desejáveis (DFA) foi calculada de acordo com a equação 7, utilizando a somatória dos ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) e polinsaturados (AGPI) (BARAC' et al., 2018).

$$DFA = MUFA + PUFA + C18:0 \quad (7)$$

Cor instrumental

A determinação da cor instrumental foi realizada em colorímetro digital (HunterLab, modelo ColorQuest XE) utilizando o software Easy Match™, versão 4.30, em triplicata. Os parâmetros L*, a*, b*, foram determinados de acordo com o sistema CIE (1996). A coordenada L* corresponde à luminosidade, a* e b* referem-se às

coordenadas de cromaticidade verde (-)/vermelho (+) e azul (-)/amarelo (+), respectivamente. O aparelho foi previamente calibrado e as medições das coordenadas de cor foram realizadas na parte interna do queijo, imediatamente após a retirada da embalagem secundária, para realização da análise segundo metodologia de SHEEHAN et al. (2009).

3.4.4 Análise estatística

Os dados com distribuição normal, de acordo com o Teste de Shapiro-Wilk, foram submetidos a Análise de Variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a $p \leq 0,05$ de probabilidade de erro. Os dados da análise sensorial foram analisados por modelo linear generalizado, considerando a distribuição multinomial com o link logit cumulativo para verificar a probabilidade de distribuição das categorias de intensidade (SCHABENBERGER; PIERCE, 2001). Todas essas análises foram realizadas usando o SAS[®] University Edition (2015).

A correlação não paramétrica de Spearman foi aplicada para correlacionar os dados sensoriais. A Análise de Componentes Principais (ACP) e a análise de comparação de agrupamentos com o método K-Means Clustering foram realizadas para dados físico-químicos, tecnológicos e sensoriais, e análises hierárquicas de agrupamento com Sokal e Michener (1958) foram realizadas para dados de perfil de ácidos graxos. O programa JMP[®] Pro 13 foi utilizado para análise multivariada.

3.5 Etapa II- Estudo de desenvolvimento e caracterização de queijo Reino com redução de gordura e substituição parcial de NaCl por KCl

3.5.1 Delineamento experimental

Para o processamento do queijo Reino com redução de gordura no leite (G) e substituição parcial de NaCl por KCl na salmoura (S), utilizou-se fatorial ($2 \times 2 + 1$), sendo duas concentrações de gordura no leite (1,1% e 3,3%) versus duas diferentes relações NaCl/KCl (3,0 e 1,5 correspondentes a 15:5 e 12:8 de NaCl e KCl, respectivamente), com tratamento adicional (2,2% de G com 2,08% de relação NaCl/KCl). A quantidade dos ingredientes foi estabelecida, com base em testes preliminares e a partir da formulação do tratamento adicional onde foram combinados

dois níveis (um para mais e um para menos) de cada, estabelecendo-se as relações de gordura e sais do fatorial (2 x 2).

3.5.2 Preparação da salmoura para a salga

A salmoura foi preparada com 80% de água potável e 20% de sal (NaCl, sal marinho, Norte salineira S/A e KCl, dinâmica química contemporânea Ltda), seguindo a formulação descrita no fatorial. A solução foi aquecida em lume baixo até ebulição e, após 20 minutos, foram realizados testes para conhecimento do °Baumé. Ao atingir 19 °Baumé a solução supersaturada foi resfriada a 10 °C e filtrada para retirada de possíveis resíduos sendo depois identificadas e armazenadas.

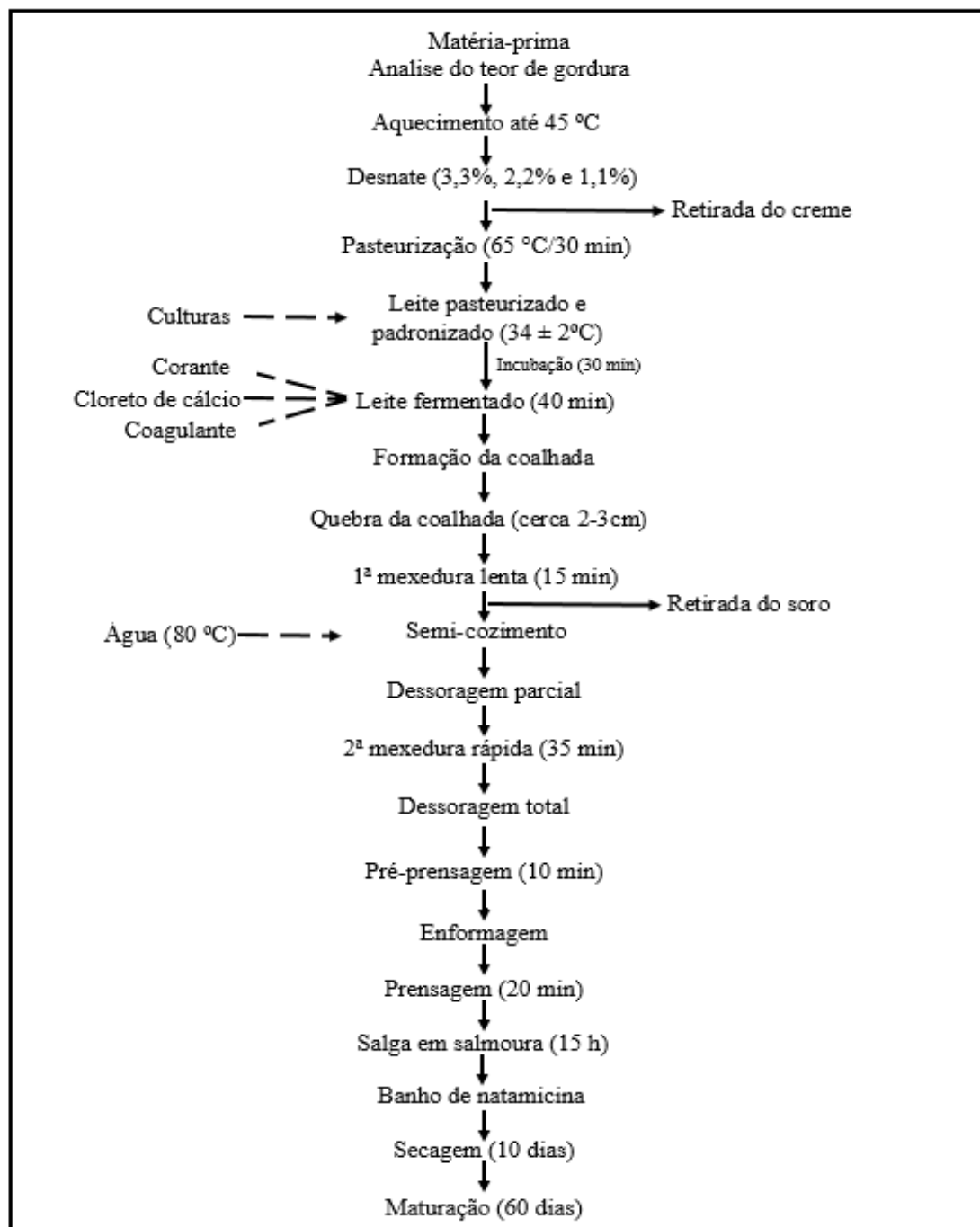
3.5.3 Processamento de queijo Reino

O processamento geral das formulações do queijo Reino foi adaptado de Amarantes (2015), Furtado (2008), Taveira (2013) e Taveira et al. (2015) (Figura 7).

O teor de gordura do leite foi padronizado de acordo com o fatorial (variando de 1,1% a 3,3% de gordura) com o auxílio de uma centrífuga desnatadeira (Westfalia, modelo Mtb 50, Oelde, Alemanha)

O leite foi pasteurizado a 65 °C por 30 minutos e resfriado a 34 °C e, em seguida, foi transferido para o tanque de fabricação e adicionaram-se as culturas “starter” mesofílicas, sendo realizada uma incubação a 34 ± 2 °C/40 minutos. O corante de urucum (0,36 mL/L), o cloreto de cálcio 50% (0,45 mL/L) e o coagulante (6 mL/100 L) foram adicionados e aguardou-se até a coagulação (34 ± 2 °C/40 minutos), quando houve o corte da coalhada em cubos com 2 a 3 cm de aresta.

Figura 7 - Tecnologia adaptada de fabricação do queijo Reino com redução de gordura e sódio.



A primeira mexedura ocorreu de forma lenta por 15 minutos. O processo de dessoragem parcial foi realizado com remoção de 30% de soro (v/v) em relação ao volume inicial de leite, que foi repostado progressivamente com adição de aproximadamente 20% (v/v) de água quente (80 ± 2 °C) à coalhada, para aumentar a temperatura na taxa de 1 °C a cada 2 minutos, até a temperatura de 43 ± 2 °C/35

minutos, sob agitação contínua da segunda mexedora. A coalhada foi pré-prensada por 10 minutos no tanque, enformada e prensada em formas esféricas, por 20 minutos e, em seguida, por 12 horas com pesos de 25 kg. A salga em salmoura ocorreu em temperatura de 15 ± 2 °C por 17 horas conforme testes prévios realizados.

A natamicina (50 g/L) foi aplicada nos queijos, após salga, e posteriormente foram colocados em câmara (5 °C, 55% de umidade relativa do ar) por 10 dias sem embalagem para secagem, sendo virados diariamente. Após este período, os queijos foram embalados a vácuo em embalagens de polietileno de alta densidade e maturados em câmara (5 °C, 55% de umidade relativa do ar) por 60 dias para desenvolver o sabor e odor do produto característicos, conforme indicado na legislação brasileira.

3.5.4 Análises microbiológicas

Todas as formulações passaram pelas análises microbiológicas foram realizadas após 60 dias de maturação e foram realizadas para acompanhar a qualidade do produto segundo os padrões microbiológicos conforme legislação preconizada para queijos com baixa umidade (BRASIL, 2001) e seguiram a metodologia da APHA (2001).

- Coliformes totais e termotolerantes: foram quantificados pela técnica de tubos múltiplos em Caldo Lactosado Bile Verde Brilhante (coliformes totais) e em caldo *Escherichia coli* (coliformes termotolerantes). Os resultados foram expressos em Número Mais Provável por grama da amostra (NMP/g).

- *Staphylococcus* coagulase-positiva: quantificado pela técnica de plaqueamento em superfície em Agar Baird-Parker adicionado de telurito de potássio a 1% e emulsão de gema de ovo, com posterior contagem do número de colônias típicas e isolamento em Ágar Nutriente inclinado, realizando-se em seguida teste de coagulase.

- *Salmonella* sp. - a avaliação da presença foi feita por pré-enriquecimento em água salina, e enriquecimento seletivo em Caldo Tetrationato e Caldo Rappaport-Vassiliadis. Em seguida, foi feito plaqueamento em Ágar Bismuto Sulfito e Ágar de Desoxicolato-Lisina-Xilose. Colônias típicas (colônias presuntivas) foram isoladas em Ágar nutriente, e finalmente realizados testes bioquímicos confirmatórios.

3.5.5 Análise sensorial

Análise sensorial foi submetida e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, Estado Paraíba, Brasil (CAAE: nº 85379418.4.0000.5188; Protocolo: 022.250/2018) como reconhecido pela CONEP, conforme Anexo B. Seguindo a Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012 e Resolução nº 510, de 7 de abril de 2016.

A análise sensorial foi realizada após 60 dias de fabricação, utilizando painel de 80 consumidores, não treinados, com idade entre 18 e 32 anos, de ambos gêneros (41 mulheres e 39 homens), conforme metodologia descrita na Etapa 1 com adaptação na escala do ideal para melhor compreensão dos parâmetros: intensidade da cor amarela, aroma característico, sabor característico, suculência, sabor salgado e sabor amargo. Foi utilizada ficha do teste sensorial, para esta etapa que se encontra no Apêndice E, além do TCLE (Apêndice F).

3.5.6 Análise tecnológicas, físico-química e química

Após 60 dias de fabricação foram realizadas análises de atividade de água, umidade, extrato seco total, pH, acidez titulável em ácido láctico, cinzas, lipídeos, lipídeos em extrato seco, proteína, proteólise e perfil de ácidos graxos conforme metodologia descrita na Etapa 1. O perfil de minerais e cor instrumental foram realizadas em outros equipamentos, seguindo metodologia descrita a seguir. A textura instrumental foi incluída para verificar o perfil de textura dos queijos processados.

Análise de minerais

As amostras foram submetidas a digestão nitroperclórica de acordo com a metodologia de Sarruge e Haag (1974) e leitura em espectrômetro de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP- OES; Perkin Elmer Modelo Optima 8300 DV, PerkinElmer, Califórnia, EUA). O equipamento foi calibrado com solução multielementar na mesma matriz das amostras em diferentes intervalos de concentrações. Para K, 766,490 nm e as concentrações entre 3 e 300 mg/L. Para Ca foi utilizado o comprimento de onda 315,887 nm e as concentrações entre 2,4 e 240 mg/L. Para Na foi utilizado o comprimento de onda 589,576 nm e as concentrações entre 0,04

e 5 mg/L.

Cor instrumental

A determinação da cor instrumental foi realizada em colorímetro Minolta, modelo CR-300 (MinoltaCo., Osaka, Japão). Os parâmetros L^* , a^* , b^* , foram determinados de acordo com o sistema CIE (1996), em triplicata. A coordenada L^* corresponde à luminosidade, a^* e b^* referem-se às coordenadas de cromaticidade verde (-)/vermelho (+) e azul (-)/amarelo (+), respectivamente. O aparelho foi previamente calibrado e as medições das coordenadas de cor foram realizadas na parte interna do queijo, imediatamente após a retirada da embalagem secundária, para realização da análise segundo metodologia de Sheehan et al. (2009).

Textura instrumental

O perfil de textura dos queijos Reino foi determinado em analisador de textura (Ametek Brookfield, Massachusetts, EUA). Os queijos foram cortados em cubos (1,5 x 1,5 x 1,5 cm). No experimento foram comprimidos a 50% da sua altura original a velocidade mm/minuto. A sonda usada foi de 50 mm. Depois de pausa de 5 s a sonda subiu à velocidade de 24,00 mm/minuto até retornar sua altura original. Os dados foram coletados através do programa "TexturePro CT V1.3 Build 15" (Ametek Brookfield, Massachusetts, EUA), conforme metodologia descrita por Wang et al. (2011). Foram analisados os atributos primários firmeza (N), adesividade (mJ), mastigabilidade (N), elasticidade (mm), coesividade e fraturabilidade (N) e o atributo secundário gomosidade (N).

3.5.7 Análise estatística

Os dados foram submetidos a Análise de Variância (ANOVA) univariada e as médias de cada tratamento foram comparadas com o tratamento adicional [2,2% leite e 2,08 NaCl: KCl (13,5: 6,5%)] pelo teste de Dunnett com $p \leq 0,05$ de probabilidade de erro. Na sequência, uma ANOVA bivariada foi realizada para testar os efeitos principais e a interação destes. O quadrado médio residual da ANOVA univariada foi utilizado para os testes na ANOVA bivariada. Diferenças significativas foram relatadas para $p \leq$

0,05. Os dados da análise sensorial foram analisados por modelo linear generalizado, considerando a distribuição multinomial com o link logit cumulativo para verificar a probabilidade de distribuição das categorias de intensidade (SCHABENBERGER; PIERCE, 2001). Todas essas análises foram realizadas usando o SAS® University Edition (2015).

A correlação não paramétrica de Spearman foi aplicada para correlacionar os dados sensoriais. A Análise de Componentes Principais (ACP) e a análise de agrupamento com o método K-Means Clustering foram realizadas. O programa JMP® Pro 13 foi utilizado para análise multivariada.

REFERÊNCIAS

- ABIA. **Associação Brasileira das Indústrias de Alimentação**, 2018. Números do setor- Financeiro, 2018. Disponível em: <<https://www.abia.org.br/vsn/anexos/faturamento2018.pdf>> Acesso em: 01 set. 2019.
- ABIQ. **Associação Brasileira das Indústrias de Queijo**. Mercado de queijos tem alto potencial de crescimento no Brasil. 2017. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/cadeia-doleite/giro-lacteo/abiq-mercado-de-queijos-tem-alto-potencial-de-crescimento-no-brasil-105515n.aspx>> Acesso em: 01 mar. 2019.
- ALEWIJN, M.; SLIWINSKI, E. L.; WOUTERS, J. T. M. A fast and simple method for quantitative determination of fat-derived medium and low-volatile compounds in cheese. **International Dairy Journal**, v. 13, p. 733-741, 2003.
- AMARANTE, J. O. A. **Queijos do Brasil e do mundo para iniciantes e apreciadores**, 4. ed. São Paulo: Mescla Editorial, 2015.
- ANDREATTA, E.; FERNANDES, A. M.; SANTOS, M. V.; LIMA, C. G.; MUSSARELLI, C.; MARQUES, M. C.; OLIVEIRA, C. A. F. Effects of milk somatic cell count on physical and chemical characteristics of mozzarella cheese. **Australian Journal of Dairy Technology**, v. 62, p. 166-170, 2007.
- ANTONIALLI, F.; REZENDE, D. C.; CARNEIRO, J. D. S. New products development: a marketing study of a popsicle produced with whey. **Organizações Rurais & Agroindustriais**, Lavras, v. 20, n. 1, p. 1-14, 2018.
- AOAC. **Association of Official Analytical Chemists**. Official methods analysis of AOAC International. 18th ed- Revision, Washington DC USA, 2005.
- APHA. **American Public Health Association**. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th ed. Washington, 2001.
- BARAC, M.; KRESOJEVIĆ, M.; ŠPIROVIĆ-TRIFUNOVIĆ, B.; PEŠIĆ, M.; VUČIĆ, T.; KOSTIĆ, A. Fatty acid profiles and mineral content of Serbian traditional white brined cheeses. **Mljekarstvo**, v. 68, n. 1, p. 37-45, 2018.
- BERGAMO, L. Leite liofilizado de vaca holandesa alimentada com ração suplementada com linhaça. **Revista Uningá Review**, v.16, n. 1, pp. 27-33, 2013.
- BIGLIARDI, B.; GALATI, F. Innovation trends in the food industry: The case of functional foods. **Trends Food Science & Technology**, v. 31, p. 118-129, 2013.
- BLOCK, L. G.; GRIER, S. A.; CHILDERS, T. L.; DAVIS, B.; EBERT, J. E. J.; KUMANYIKA, S.; LACZNIK, R. N.; MACHIN, J. E.; MOTLEY, C. M.; PERACCHIO, L.; PETTIGREW, S.; SCOTT, M.; VAN GINKEL BIESHAAR, M. N. G. From nutrients to nurturance: a conceptual introduction to food well-being. **Journal of Public Policy & Marketing**, v. 30, p. 5-13, 2011.

BONCINELLI, F.; CONTINI, C.; ROMANO, C.; SCOZZAFAVA, G.; CASINI, L. Territory, environment, and healthiness in traditional food choices: insights into consumer heterogeneity. **International Food and Agribusiness Management Review**, v. 20, n. 1, p. 143-157, 2016.

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde nº 4, de 24 de novembro de 1988. Aprova o regulamento técnico que aprova o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos, Tabela- Aditivos intencionais. **Diário Oficial da União**, Brasília- DF, 1988.

BRASIL. Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária. Portaria nº 146, de 07 de março de 1996. Aprova os regulamentos técnicos de Identidades e Qualidades de Produtos Lácteos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 1996.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº12, de 02/01/2001. Regulamento Técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Aprova os métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº24, de 15/07/2010. Dispõe sobre a oferta, propaganda, publicidade, informação e outras práticas correlatas cujo objetivo seja a divulgação e a promoção comercial de alimentos considerados com quantidades elevadas de sódio. **Diário Oficial da União**, 2010.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009. (2011a). Tabelas de composição Nutricional dos Alimentos Consumidos no Brasil. Rio de Janeiro. Available at:
<https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv50002.pdf>

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011b. Aprova o regulamento técnico de produção, identidade e qualidade do leite cru refrigerado. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância Sanitária. Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Aprovar diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2012.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Estimativas da população residente com data de referência 1 de julho de 2014, 2014a. Disponível em:
<ftp://ftp.ibge.gov.br/Estimativas_de_Populacao/Estimativas_2014/nota_metodologica_2014.pdf> Acesso em: 01 Mai. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Guia Alimentar para a população brasileira. 2014b. 2ª edição, Brasília, DF, 2014. Disponível em:
http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_alimentar_populacao_brasileira_2ed.pdf f Acesso em: 21 Mai 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução nº 510, de 7 de abril de 2016. Dispõe sobre as normas aplicáveis a pesquisas em Ciências Humanas e Sociais cujos procedimentos metodológicos envolvam a utilização de dados diretamente obtidos com os participantes ou de informações identificáveis ou que possam acarretar riscos maiores do que os existentes na vida cotidiana. **Diário Oficial da União**, Brasília- DF, 2016.

BRASIL. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Anuário leite 2018**: Indicadores, tendências e oportunidades para quem vive no setor leiteiro. 2018a. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/36560390/anuario-do-leite-2018-e-lancado-na-agroleite>> Acesso em: 17 Fev. 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 48, de 29 de outubro de 2018b. Aprova o regulamento técnico que fixa a identidade e as características de qualidade que deve apresentar o queijo Reino. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018c. Aprovam o regulamento técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2018.

CASTRO, G. C.; HADDAD, H.; NUNES, J. M. G.; PINHEIRO, R. M. **Comportamento do consumidor e pesquisa de mercado**. Rio de Janeiro. 3ª ed. – Rio de Janeiro: Editora FGV, 2006.

CERVO, H. J.; PERIPOLLI, V.; BREMM, B.; BARCELLOS, J. O. J.; BORGES, J. B. S.; McMANUS, C. Spatial distribution of productive, environmental, and socioeconomic factors to discriminate dairy cattle production in the south of Brazil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 19, p. 1-13, 2018.

CHEN, Y.; CHEN, C.; CHEN, S.; HSIEH, J. Proteomic profiling of the coagulation of milk proteins induced by glucono-delta-lactone. **Food Hydrocolloids**, v. 52, p. 137–143, 2016.

CIE - **Commission Internationale de l'Éclairage**. Colorimetry. Vienna: CIE publication, 2. ed., 1996.

COSTA, A.; LOPEZ-VILLALOBOS, N.; SNEDDON, N. W.; SHALLOO, L.; FRANZOI, M.; DE MARCHI, M.; PENASA, M. Invited review: Milk lactose—Current status and future challenges in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 7, p. 5883-5898, 2019.

COSTA, R. G. B.; SOBRAL, D.; TEODORO, V. A. M.; COSTA, L. C. G.; DE PAULA, J. C. J.; LANDIN, T. B.; DE OLIVEIRA, M. B. Sodium substitutes in Prato cheese: Impact on the physicochemical parameters, rheology aspects and sensory acceptance. **LWT- Food Science and Technology**, v. 90, p. 643-649, 2018a.

COSTA, R. G. B. et al. Manufacture of reduced-sodium Coalho cheese by partial replacement of NaCl with KCl. **International Dairy Journal**, v. 87, p. 37-43, 2018b.

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

CZARNACKA-SZYMANI, J.; JEZEWSKA-ZYCHOWICZ, M. Impact of nutritional information on consumers' acceptance of cheese with reduced sodium chloride content. **International Dairy Journal**, v. 40, p. 47-53, 2015.

DALGLEISH, D. G. On the structural models of bovine casein micelles- Review and possible improvements. **Soft Matter**, v. 7, p. 2265-2272, 2011.

DE KRUIF, C. G.; HUPPERTZ, T.; URBAN, V. S.; PETUKHOV, A. V. Casein micelles and their internal structure. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 171–172, p. 36-52, 2012.

DEN HARTIGH, L. J. Conjugated Linoleic Acid Effects on Cancer, Obesity, and Atherosclerosis: A Review of Pre-Clinical and Human Trials with Current Perspectives. **Nutrients**, v. 11, n. 2, p. 2-28, 2019.

DIAMANTINO, I. M.; PENNA, A. L. B. Efeito da utilização de substitutos de gordura em queijos light. Effect of the fat substitutes used in light cheeses production. **Revista Instituto Adolfo Lutz, São Paulo**, v. 70, n. 3, p. 258-67, 2011.

DRAKE, M. A. Invited Review: Sensory Analysis of Dairy food. **Journal of Dairy Science**, v. 90 (11), p. 4925- 4937, 2007.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. (4 th. ed.) Curitiba: Champagnat, pp.531, 2013.

EL-ASSAR, M. A.; ABOU-DAWOOD, S. A.; SAKR, S. S.; YOUNIS, N. M. Low-fat Processed Cheese Spread with Added Inulin: Its Physicochemical, Rheological and Sensory Characteristics. **International Journal of Dairy Science**, 14: 12-20, 2019.

EVERETT, D. W.; AUTY, M. A. E. Cheese structure and current methods of analysis. **International Dairy Journal**, v. 18, p. 759-773, 2008.

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Dados sobre a produção de leite bovino no mundo. Disponível em: <<http://www.fao.org>> Acesso em: 23 Jan. 2019.

FERRÃO, L. L., SILVA, E. B., SILVA, H. L. A., SILVA, R., MOLLAKHALILI, N., GRANATO, D.; FREITAS, M. Q.; SILVA, M. C.; RAICES, R. S.L.; PADILHA, M. C.; ZACARCHENCO, P.B.; BARBOSA, M. I. M. J.; MORTAZAVIAN, AM.; CRUZ, A. G. Strategies to develop healthier processed cheeses: Reduction of sodium and fat contents and use of prebiotics. **Food Research International**, v. 86, p. 93-102, 2016.

FERRELL, O. C.; HARTLINE, M. D. **Estratégia de Marketing**. São Paulo: Thomson Learning, 2006.

FOLCH, J.; LESS, M.; STANLEY, S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal Biological Chemistry**, v. 226, n.1, p. 497-509, 1957.

FOX, P. F.; UNIACKE-LOWE, T.; MCSWEENEY, P. L. H.; O'MAHON, J. A. Dairy Chemistry and Biochemistry. **Springer International Publishing**, Basel, Switzerland, 2015.

FOX P. F.; GUINEE T. P.; COGAN T. M.; MCSWEENEY, P. L. H. Cheese: historical aspects. In: Fundamentals of cheese science. Springer US, Boston, pp. 1–10, 2017.

FREITAS, L. **Queijo do reino: história e peculiaridades do rei do Natal**. Jornal do Comércio, Recife, 2015. Disponível em: <<https://jconline.ne10.uol.com.br/canal/economia/nacional/noticia/2015/12/25/queijo-do-reino-historia-e-peculiaridades-do-rei-do-natal-214098.php>> Acesso em: 18 Jan. 2019.

FURTADO, M. M. **Queijos com olhaduras**. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora, 2007.

FURTADO, M. R. A. **Caracterização histórica, tecnologia de fabricação, características físico-químicas, sensoriais, perfil de textura e de comercialização do queijo Reino**. 2008. 95f. Tese (Pós- graduação em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados) - Universidade Federal de Juiz de Fora.

GOBBETTI, M.; NEVIANI, E.; FOX, P. The Cheeses of Italy: Science and Technology. Science and Technology. Springer International Publishing, 2018.

GRUMMER, J.; KARALUS, M.; ZHANG, K.; VICKERS, Z.; SCHOENFUSS, T. C. Manufacture of reduced-sodium Cheddar-style cheese with mineral salt replacers. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 2830-2839, 2012.

GRUMMER, J.; BOBOWSKI, N.; KARALUS, M.; VICKERS, Z.; SCHOENFUSS, T. Use of potassium chloride and flavor enhancers in low sodium Cheddar cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 3, p. 1401-1418, 2013.

GRUNERT, K. G.; VAN TRIJP, H. C. M. Consumer-oriented new product development, **Encyclopedia of Agriculture and Food Systems**, v. 2, pp. 375-386, 2014.

GUERRERO, L., GUÀRDIA, M. D.; XICOLA, J.; VERBEKE, W.; VANHONACKER, F.; ZAKOWSKA-BIEMANS, S.; SAJDAKOWSKA, M.; SULMONT-ROSSÉ, C.; ISSANCHOU, S.; CONTEL, M.; SCALVEDI, M. L.; GRANLI, B, S.; HERSLETH, M. Consumer-driven definition of traditional food products and innovation in traditional foods. A qualitative cross-cultural study. **Appetite**, v. 52, n. 2, p. 345–354, 2009.

GUINEE, T. P. Salting and the role of salt in cheese, **International Journal of Dairy Technology**, v. 57, n. 2/3, p. 99-109, 2004.

GUSMÃO, T. A. S.; ALEXANDRE, A. M.; SOUZA, N. G. G.; SASSI, K. K. B.; GUSMÃO, R. P.; MOREIRA, R. T. Partial replacement of sodium chloride by potassium chloride in the formulation of French bread: effect on the physical, physicochemical and sensory parameters. **Food Science and Technology**, v. 37, n. 1, 2017.

HARTMAN, L.; LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acids methyl esters. **Laboratory Practice**, London, v. 22, p.475-476, 1973.

HAUG, A.; HØSTMARK, A. T.; HARSTAD, O. M. Bovine milk in human nutrition- a review. **Lipids in Health and Disease**, v. 6, n. 1, p. 1-16, 2007.

HECK, R. T.; FAGUNDES, M. B.; CICHOSKI, A. J.; DE MENEZES, C. R.; BARIN, J. S.; LORENZO, J. M.; WAGNER, R.; CAMPAGNOL, P. C. B. Volatile compounds and sensory profile of burgers with 50% fat replacement by microparticles of chia oil enriched with rosemary. **Meat Science**, p. 1-28, 2018.

HENNEBERRY, S.; WILKINSON, M. G.; KILCAWLEY, K. N.; KELLY, P. M.; GUINEE, T. P. Interactive effects of salt and fat reduction on composition, rheology and functional properties of mozzarella-style cheese. **Dairy Science & Technology**, v. 95, pp. 613-638, 2015.

HILLBRICK, G.; AUGUSTIN, M. A. Milkfat characteristics and functionality: opportunities for improvement. **Australian Journal of Dairy Tecnology**, Melbourne, v. 57, n. 1, p. 45-51, 2002.

HOPPE, A.; DE BARCELLOS, M. D.; PERIN, M. G.; JACOBSEN, L. F.; LÄHTEENMÄKI, L. Factors influencing consumers' willingness to participate in new food product development activities. **British Food Journal**, v. 120, pp. 1195-1206, 2017.

ISO. General guidance for the design of test room. Standard n. 8589:2007. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization, 2007.

JANUSZEWSKA, R.; PIENIAK, Z.; VERBEKE, W. Food choice questionnaire revisited in four countries. Does it still measure the same? **Appetite**, v. 57, p. 94-98, 2012.

JOHNSON, M. E.; KAPOOR, R.; McMAHON, D. J.; McCOY, D. R.; NARASIMMON, R. G. Reduction of Sodium and Fat Levels in Natural and Processed Cheeses: Scientific and Technological Aspects. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 8, p. 252-268, 2009.

JORNAL DO COMMERCCIO. **Vendas de queijo do reino devem crescer 20% no Estado em 2017**. 2017. Disponível em:
<<https://jconline.ne10.uol.com.br/canal/economia/pernambuco/noticia/2017/11/21/vend>

as-de-queijo-do-reino-devem-crescer-20_porcento-no-estado-em-2017-316804.php>
Acesso em: 18 Jan. 2019.

KATSIARI, M. C.; VOUTSINAS, L. P.; ALICHANIDIS, E.; ROUSSIS, I. G.
Reduction of sodium content in Feta cheese by partial substitution of NaCl by KCl.
International Dairy Journal, v. 7, p. 465-472, 1997.

KHANAL, B. K. S.; BHANDARI, B.; PRAKASH, S.; LIU, D.; ZHOU, P.; BANSAL, N.
Modifying textural and microstructural properties of low fat Cheddar cheese using sodium alginate. **Food Hydrocolloids**, v. 83, p. 97-108, 2018.

LANNES, S. C. S.; AMARAL, A. A. **Low fat food**. In: Ayman Hafiz Amer Eissa.
(Org.). Food production and industry. 1^a ed.: Intechopen, v. 1, p. 167-185, 2015.

LAMPURÉ, A.; ADRIOUCH, S.; CASTETBON, K.; DEGLAIRE, A.; SCHLICH, P.;
PÉNEAU, S.; FEZEU, L.; HERCBERG, S.; MÉJEAN, C. Relationship between
sensory liking for fat, sweet or salt and cardiometabolic diseases: mediating effects of
diet and weight status. **European Journal of Nutrition**, p. 1- 3, 2019.

LAW, M. R.; FROST, C. D.; WALD, N. J. Analysis of data from trials of salt
reduction. **British Medical Journal**, v. 302, p. 819-24, 1991.

LENIGHAN, Y. M.; MCNULTY, B. A.; ROCHE, H. M. Dietary fat composition:
replacement of saturated fatty acids with PUFA as a public health strategy, with an
emphasis on α -linolenic acid. **Proceedings of the Nutrition Society**, p. 1–12, 2019.

LÓPEZ- LÓPEZ, I.; COFRADES, S.; YAKAN, A.; SOLAS, M. T.; JIMÉNEZ-
COLMERO, F. Frozen storage characteristics of low- salt and low- fat beef patties as
affected by Wakame addition and replacing pork backfat with olive oil- in- water
emulsion. **Food Research International**, v. 43, p. 1244–1254, 2010.

MALHOTRA, N. **Pesquisa de marketing**. 3.ed. Porto Alegre: Bookman, 2001.

MATERA, J.; LUNA, A. S.; BATISTA, D. B.; PIMENTEL, T. C.; MORAES, J.;
KAMIMURA, B. A.; FERREIRA, M. V. S.; SILVA, H. L. A.; MATHIAS, S. P.;
ESMERINO, E. A.; FREITAS, M. Q.; RAISES, R. S. L.; QUITÉRIO, S. L.;
SANT'ANA, A. S.; SILVA, M. C.; CRUZ, A. G. Brazilian cheeses: A survey covering
physicochemical characteristics, mineral content, fatty acid profile and volatile
compounds. **Food Research International**, v. 108, p.18-26, 2018.

MILK POINT. Top 100 2018: produção dos líderes do leite cresceu 10%
Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/noticias-e-mercado/giro-noticias/producao-das-lideres-do-leite-cresceu-10-207378/>. Acesso em: 05 Fev. 2019.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar.
Analytic Chemistry, Washington, v. 31, p. 426-428, 1959.

NARINS, P. **The finite population correction**. <http://www.spss.com>, issue: 54-55,
1997.

NETV. Vendas do queijo do Reino aumenta até 8 vezes no fim do ano. Recife: Globo, 22 de dezembro de 2017. Programa de TV.

NILSON, E. A. F.; JAIME, P. C.; RESENDE, D. O. Iniciativas desenvolvidas no Brasil para a redução do teor de sódio em alimentos processados. **Revista Panamericana de Salud Publica**, v. 34, p. 287–292, 2012.

O'CONNELL, J. E.; SARACINO, P.; HUPPERTZ, T.; UNIAKE, T.; DE KRUIF, C. G.; KELLY, A. L.; FOX, P. F. Influence of ethanol on the rennet- induced coagulation of milk. **Journal of Dairy Research**, v. 73, p. 312-317, 2006.

OGAWA, S.; PILLER, F.T. Reducing the risk of new product development. **MIT Sloan Management Review**, v. 47, n. 2, pp. 65-71, 2006.

PIERNAS, C.; NG, S.W.; POPKIN, B. Trends in purchases and intake of foods and beverages containing caloric and low-calorie sweeteners over the last decade in the United States. **Pediatric Obesity**, v. 8, n. 4, pp. 294-306, 2013.

RAMOS, J. E. S.; BORBA, M. C.; MELO, A. P. S.; LIMA, F. F.; MELO, A. S. Transmissão de preços pagos aos produtores de leite nos estados brasileiros de maior produção com foco no estado baiano no período de dez anos. **Revista Eletrônica de Ciências Sociais Aplicadas**, v. 5, p. 3-24, 2016.

RATTO, L.; ALBERNAZ, B.; PELTIER, M. **Telemarketing**: comunicação, funcionamento e mercado de trabalho. 2. ed. São Paulo: Editora Senac, 2004.

RODRÍGUEZ-ALCALÁ, L. M.; FONTECHA, J.; LA HOZ, L.; SILVA, V. S. N.; CARVALHO, J. E.; PACHECO, M. T. B. CLA-enriched milk powder reverses hypercholesterolemic risk factors in hamsters. **Food Research International**, v. 51, n. 1, p. 244-249, 2013.

SÁNCHEZ, A. N. G. Estudio comparativo de composición química de leche (cabra y vaca). Empleando 3 métodos de hidrólisis proteica. 2015. 65f. Tesis (Programa Docente de ingeniero en ciencia y tecnología de alimentos), Universidad de Mexico. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

SANTIS, V. B. G. Queijo Minas padrão com baixo teor de sódio e gordura: caracterização físico-química e sensorial. 2016. 67 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2016.

SARRUGE, J. R.; HAAG, H.P. Análises químicas em plantas. Piracicaba, ESALQ, 1974, 56 p.

SCHABENBERGER, O., PIERCE, F.J. Contemporary Statistical Models for the Plant and Soil Sciences (Boca Raton, FL, USA: CRC Press), 2001, pp.730.

SHEEHAN, A.; O'CUINN G.; FITZGERALD, R. J.; WILKINSON, M. G. Distribution of microbial flora, intracellular enzymes and compositional indices throughout a 12kg

Cheddar cheese block during ripening. **International Dairy Journal**, v. 19, n. 5, p. 321-329, 2009.

SMIT, L.E.; SCHOKNFELDT, H. C.; BEER, W. H. J.; SMITH, M. F. The effect of locality and season on the composition of South African whole Milk. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 13, n. 4, p. 345-367, 2000.

SOKAL, R. R.; MICHENER, C. D. "A Statistical Method for Evaluating Systematic Relationships," University of Kansas Science Bulletin, v. 38, pp. 1409–1438, 1958.

TAVEIRA, L. B. Aspectos Físico-químicos e Sensoriais do Queijo do Reino Maturado sob Diferentes Concentrações, Visando a Exportação. 118p. Dissertação (Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, 2013.

TAVEIRA, L. B. et al. Distribuição de NaCl no queijo Reino ao longo da maturação. **Revista Instituto Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 70, n. 3 p. 141-149, 2015.

VAGULA, J. M.; CASTRO, J. C.; VERONEZI, M.; ZUANAZZI, J. G.; PASCOLI, I. C.; MADRONA, G. S. Desenvolvimento e análise sensorial de esfirra integral com e sem farinha de aveia. **Brazilian Journal of Food Research**, Campo Mourão, v. 8, n. 1, p. 01-15, 2017.

VAN BOEKEL, M. A. J. S. Transfer of milk components to cheese: scientific considerations. In Cheese Yield and Factors Affecting its Control: Proceedings of the IDF Seminar Held in Cork, Ireland, pp 19–27, 1994.

VAN DENDER, A. G. F.; SPADOTI, L. M.; ZACARCHENCO, P. B.; TRENTO, F. K. H. S.; ORMENESE, R. C. S. C.; MORGANO, M. A. Efeito dos sais fundentes nas características do requeijão cremoso sem adição de gordura e com teor reduzido de sódio. **Revista Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, n. 387, 38-47, 2012.

VARELA, P.; ARES, G.; GIMÉNEZ, A.; GÁMBARO, A. Influence of brand information on consumers' expectations and liking of powdered drinks in central location tests. **Food Quality and Preference**, v. 21, p. 873-880. 2010.

VARGAS, D. P.; NORBERG, J. L.; MELLO, R. O.; SCHEIBLER, R. B.; MELLO, F. C. B.; RIZZO, F. A.; BELLATO, T. K. B. Formation of homogeneous groups of bovine milk production units via multivariate statistical techniques. **Ciência Rural**, v. 48, n. 4, p. 1-6, 2018.

VERCESI FILHO, A. E. Identificação de alelos A1 e A2 para o gene da beta-caseins na raça Gir Leiteiro. **Pesquisa e Tecnologia**, v. 8, n. 11, p. 91-96, 2011.

VIDGEN, H. A.; GALLEGOS, D. Defining food literacy and its components. **Appetite**, v. 76, p. 50-59, 2014.

WACHOWSKA, M.; ADAMCZAK M. Role of sodium and possibilities of reducing its content in ripened cheeses. **Journal of Elementology**, v. 24, n. 2, p. 511-524, 2019.

WANG, F.; ZHANG, X.; LUO, J.; ZENG, S. S.; REN, F. Effect of proteolysis and calcium equilibrium on functional properties of natural cheddar during ripening and the resultant processed cheese. **Journal of Food Science**, v. 76(3), p. 248-253, 2011.

WILLIAMS, C. Dietary fatty acids and human health. **Annales de l'institut National de la Recherche Agronomique**, v. 49, p. 165-180, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. An action package to eliminate industrially-produced trans fat from the global food supply. 2018. Disponível em: <<https://www.who.int/nutrition/topics/replace-transfat>> Acesso em: 01 Fev. 2019.

ZOCCAL, R. Queijos: produção e importação. Balde Branco. 2016. Disponível em: <http://www.baldebranco.com.br/queijos-producao-e-importacao/>. Acesso em: 06 Fev. 2019.

ZOCCAL, R. 10 Países top no Leite. 2017. Disponível em <<http://www.baldebranco.com.br/dez-paises-top-no-leite/>>. Acesso em: 06 Fev. 2019.

4 RESULTADOS

Os resultados obtidos nesta Tese estão apresentados em forma de artigos científicos submetidos no periódico International Dairy Journal, de impacto na área de Ciência e Tecnologia de Alimentos, bem como através do depósito de Patente (Anexo C).

Artigo 1: Market research, sensory analysis and nutritional characterization of commercial Reino Cheese.

Artigo 2: Nutritional and sensory quality of Reino cheese with fat reduction and partial replacement of NaCl by KCl in brine.

Depósito de patente: Processo de obtenção de queijo tipo Reino com redução de sódio e gordura e adição de conservante natural- BR 10 2018 073532 2.

ARTIGO 1

MARKET RESEARCH, SENSORY ANALYSIS AND NUTRITIONAL CHARACTERIZATION OF COMMERCIAL REINO CHEESE

ABSTRACT

This study aimed at investigating the relationship between the nutritional and sensory characteristics of Reino cheese and consumers' market perception, learning about the profiles of brands and suggesting innovations to the product in order to increase its consumption. Market research showed that participants would like a reduction in sodium and fat. The sensory and physicochemical characteristics of six most often consumed Reino cheese brands were analyzed. R3 and R4 cheeses showed greater consumption intention, the highest relative moisture, pH and Ca content. They were also the favorite brands due to their color, texture and overall assessment. Additionally, they showed lower content of lipids, fat in the dry extract, total dry extract, titratable acidity, proteolysis, NaCl and Na. These characteristics demonstrated the traditional high fat and sodium content Reino cheese could share consumers preference with technological modified Reino cheeses important to boost the consumer market.

1. Introduction

Reino cheese derives from the Dutch Edam cheese, but it has been marketed in Brazil since the colonial period (Amarante, 2015). It is spherical and has a thin, smooth, red-colored peel, yellowish mass, semi-hard to hard consistency and homogeneous texture. It is compact and shows small mechanical holes, typical flavor and pronounced aroma, with low moisture and high fat content (Brazil, 2018). The most traditional brands sell the product in spherical tins weighing from 1.8 to 2 kg after it is ripened for at least thirty-five days (Amarante, 2015; Brazil, 2018).

Reino cheese is considered a traditional food type based on four different dimensions: it is often consumed over time or associated with celebrations or seasons; there is a strong belief about its nutritional and sensory characteristics that should be passed down from generation to generation; it has specific preparation and consumption according to gastronomic heritage, and it is associated with a particular area, region or country (Boncinelli, Contini, Romano, Scozzafava, & Casini, 2016).

Much appreciated in northeastern Brazil, Reino cheese is consumed mainly during the June and Christmas festivities, but 70% of its manufacturing occurs in the region of the Mantiqueira Mountains, in southeastern Brazil, which has similar geographic conditions to those in Europe (Amarante, 2015). In the producing region, this cheese is considered to be part of its immaterial and cultural heritage, and it has the power to involve producers, suppliers, workers and the population, who add value to the product by including it in tourist and gastronomic routes, thus increasing its cultural, social and economic importance (Brazil, 2019).

The specialty cheese market has grown over the years; however, the use of market research and food sensory analysis can contribute to increase cheese consumption as these are essential for understanding consumers' acceptance and perceptions of a food product (Drake, 2007).

In order to meet the requirements of consumers who seek healthy and high-quality food, the industry has sought to improve manufacturing processes, modify products and include new ingredients (Bigliardi & Galati, 2013) and, in this regard, the dairy industry is noteworthy. It is important to learn about physicochemical and sensory characteristics to make product changes. Hence, the study of these Reino cheese characteristics can help to differentiate it from other kinds and, therefore, promote its technological and nutritional quality to achieve greater consumers' sensory acceptance.

Thus, this study aimed at investigating the relationship between the nutritional and sensory characteristics of Reino cheese, studying consumers' market perception, understanding brand profiles and suggesting product innovations in order to increase its consumption, which can result in its future large-scale commercialization and even exportation.

2. Materials e Methods

The study was approved by the Research Ethics Committee of the Health Sciences Center at the Federal University of Paraíba (UFPB), Paraíba State, Brazil (CAAE: no. 45191115.4.0000.5183; Registration: 106.027/2016).

2.1. Market research

Market research was conducted from November to December 2015 using exploratory descriptive methodology based on quantitative analysis. Four hundred questionnaires were applied and validated (Narins, 1997). The questionnaires were applied to supermarkets in four regions of João Pessoa city, Paraíba - Brazil, with 100 questionnaires per region, in order to reach consumers from different social classes. Prior to the questionnaire application, consumers were advised on the proposal and scope of the questions and signed an Informed Consent Form (ICF). The interviewed population was characterized by gender, age group, educational level, total number of people in the household and family income. Information on consumption habits was obtained.

2.2. Sensory evaluation

Whole pieces (approximately 1.5 kg) of six Reino cheese brands most often consumed in João Pessoa city were purchased and collected from the same batch, classified into three groups according to the number of days since manufacturing, and identified using the following codes: R1 and R2 (40 to 45 days), R3 and R4 (60 to 65 days) and R5 and R6 (80 to 85 days).

Referees were recruited by applying a questionnaire considering Reino cheese consumption frequency and the absence of diseases related to sodium, fat and lactose consumption. One hundred and twenty consumers over 18 years old participated in the sensory analysis, comprising visitors, students and employees of the Federal University of Paraíba, Campus I.

Samples were cut into approximately 2 mm thick slices using an industrial slicer (Braesi, model CFBA-030/1, Rio Grande do Sul, Brazil) and then cut into a triangular shape by a stainless-steel mold, removing the peel. The samples were kept refrigerated (5 ± 1 °C) until use. Sensory analysis was performed in individual booths, with controlled illumination (white) and temperature of 25 ± 1 °C. Samples were distributed in a monadic random way in complete balanced blocks, accompanied by cream crackers and water.

The acceptance test including the attributes appearance, color, aroma, texture, taste and overall assessment, used a nine-point verbal-category structured hedonic scale. The ideal scale for salty taste was also determined from a 9-point structured hedonic scale. The product consumption intention was evaluated using a five-point structured scale (Dutcosky, 2013).

2.3. Determination of chemical composition and physicochemical properties

Chemical composition and physicochemical properties were performed in triplicate on the cheese inner portion without the peel. The levels of moisture (method no. 925.09), fat (method no. 2000.18), protein (method no. 939.02), ashes (method no. 930.30), total solids (method no. 990.19), fat in the dry extract (method no. 925.23), water activity (Aa) (method no. 978.18) and titratable acidity (g lactic acid 100g⁻¹) (method no. 920.124) were determined (AOAC 2005). pH values were also determined using a digital potentiometer (Tecnal[®], São Paulo, Brazil). The content of total reducing sugars was quantified (Miller, 1959). Proteolysis extension and depth indexes (EPI and DPI, respectively) were calculated (Andreatta et al. 2007).

2.4. Determination of instrumental color

Color measurements were performed in triplicate on the inside part of the cheese immediately after removing the primary packaging using the CIE system and a digital colorimeter (HunterLab, Model ColorQuest XE, Virginia, USA) (Sheehan, O’Cuinn, FitzGerald, & Wilkinson 2009).

2.5. Mineral quantification

Minerals sodium (Na), potassium (K), chlorine (Cl) and calcium (Ca) were quantified by X-ray fluorescence by dispersive energy (FRX) from the ashes of the samples using a spectrometer (Shimadzu model EDX-720, Kyoto, Japan) (Gusmão et al., 2017).

2.6. Determination of the fatty acid profile

The fatty-acid profile was determined in triplicate by lipid extraction (Folch, Less, & Stanley, 1957) and solvent evaporation with nitrogen gas. The fat was methyl-esterified (Hartman & Lago, 1973) and fatty-acid quantification used a calibration curve with methyl ester standards (Supelco[®] 37 Component FAME Mix) on a gas-chromatography and mass-spectrometry system (GC-MS-QP2010, Shimadzu, Kyoto, Japan) using a Durabound DB-23 column (30 m x 0.25 mm x 0.25 μ m). Injector and detector temperatures were set at 230 °C and column temperature at 90 °C. The elution gradient on the column was 90 to 150 °C (10 °C/min), 150 to 200 °C (2 °C/min), 200 to 230 °C (10 °C/min) at one total run time of 34 minutes with a split/splitless of 100. Helium was used as the carrier gas with total flow of 187.2 mL/min; the gas flow in the column was 1.82 mL/min.

Atherogenicity (AI) and thrombogenicity (TI) indexes were calculated (Ulbricht & Southgate, 1991). The desirable fatty-acid percentage (DFA) was also calculated using the sum of monounsaturated (MUFA) and polyunsaturated (PUFA) fatty acids (Barać et al., 2018).

2.7. Statistical analysis

Data were analyzed by one-way ANOVA and the means were compared by the Tukey test with $p \leq 0.05$. Sensory data were analyzed by the general linear model, considering the multinomial distribution with the cumulative logit link to evaluate the distribution likelihood of the intensity categories (Schabenberger & Pierce, 2001) using SAS[®] University Edition (Cody, 2015). Non-parametric Spearman correlation was

applied to correlate sensorial data. Principal component analysis (PCA) and cluster comparison analysis with the K-Means Clustering method were performed for physicochemical and sensory data, and hierarchical clustering analysis was performed for the fatty-acid profile data. The JMP[®] Pro 13 software was utilized for multivariate analysis.

3. Results and discussion

3.1. Market research

According to the market research results, of the 400 consumers interviewed, 56% were females and 44% were males. The age groups comprised adults older than 31 years old (75.5%) and young adults between 18 and 30 years old (24.5%). Consumers' opinions were represented individually for older adults and younger individuals (Figure 1A - E).

Reino cheese consumption occurs predominantly once a year for 38% of the respondents followed by consumption twice a year for 22%, especially at Christmas and in June festivities (Figure 1A). Weekly and monthly consumption were reported by only 5% and 13% of consumers, respectively. The main meals related to Reino cheese consumption were breakfast and/or dinner for 56% of the interviewees, 41% adults and 15% young adults (Figure 1B). Reino cheese can participate in all meals for 29% of the respondents, while 7% prefer to include it in sandwich filling (Figure 1B); therefore, the snack market could be an alternative for increasing Reino cheese consumption throughout the year.

Information on customer satisfaction was obtained to better understand consumers' demands, as well as to provide information that can help the industry to improve the cheese characteristics and, therefore, foster increase in its commercialization throughout the year. Satisfaction, that is, consumers' not wanting changes in Reino cheese characteristics, was shown by 39% of respondents (Figure 1C), who reported that they liked the traditional characteristics of the product, such as strong and spicy taste and brittle texture. However, the other consumers reported that they would like some characteristics of Reino cheese to be altered and suggested changes, such as salt content reduction (15%), fat content reduction (12%) and salt and fat content reduction (7%). Younger people suggested reducing fat content (5%) and salt content (4%) as well as making the taste milder (3%). These demands for healthier food products influence the cheese industry and food scientists to develop products with modified characteristics to suit consumers (Mozuraityte, Berget, Mahdalova, Grønsberg, Øye, & Greiff, 2019).

Flavor was mentioned as the preferred sensory attribute of Reino cheese by 75% of respondents (56% adults and 19% younger adults) (Figure 1D). In turn, the purchase decision is made by observing the product quality related to sensory characteristics, such as color, flavor and texture (28%), as well as by brand (27%) and price (16%) (Figure 1E). In addition, 16% of respondents mentioned that sensory quality would be the main factor influencing their choice, and this would be related to the brand and price together. This result shows that quality, brand and price are decisive factors for the cheese purchase, and brand choice is associated with product quality.

The most often remembered Reino cheese brands were R3, R1, R4, R5, R6 and R2, mentioned by 36%, 16%, 5%, 4%, 3% and 3% of consumers, respectively. The purchase of other brands, besides the six most often reported, was mentioned by 16% of

the consumers interviewed, while 14% mentioned having no preference, and 2% reported not remembering it.

3.2. Sensory Evaluation

The sensory analysis of the six different Reino cheese brands is represented in Figures 2 and 3 by the likelihood of the scores assigned to each cheese and the predominance of certain scores that defined the liking or disliking intensity for the description of the following results. It is noteworthy that the score scale ranged from 1 (disliked very much) to 9 (liked very much). R6 Reino cheese was preferred for its external appearance (scores 8 and 9), followed by R5 and R4 cheeses (scores 8 and 7) (Figure 2A). R6 and R4 were preferred for their internal appearance, while R5 (scores 3, 4 and 6) did not please consumers (Figure 2B).

R1 Reino cheese had a pleasant aroma (scores 7 and 8) (Figure 2C). On the other hand, R2 cheese (scores 4, 5 and 6) and R6 cheese (scores 6 and 7) showed a less pleasant aroma, according to consumers.

The color of R3 cheese (scores 8 and 9) was preferred by consumers (Figure 2D). R3 and R5 cheeses were distinguished for their taste (scores 8, 7 and 9) (Figure 2E). Additionally, R3 cheese was reported to have excellent texture (scores 7, 8 and 9) while that of R1 was poorly appreciated (Figure 2F).

The salty taste of R1, R2, R3 and R5 cheeses was considered ideal by the tasters, which was indicated by the higher likelihood of score 5 (Figure 3A). R4 cheese had a slightly less than ideal salty taste (scores 4 and 5) while the salty taste of R6 cheese was slightly above ideal (scores 5 and 6).

R3, R5 and R4 cheeses were distinguished from the others in consumers' preference in the overall assessment (scores 7 and 8), especially R3 and, sequentially, R5, with a higher likelihood of score 8 (Figure 3B). Consequently, R3 cheese stood out for its high consumption intention (higher likelihood of score 5), in addition to R5 and R4 cheeses sequentially (Figure 3C). Additionally, taste, overall assessment and texture were the criteria that most influenced consumption intent as shown by the positive and moderate-to-strong Spearman correlation (Figure 3D).

3.3. Chemical composition and physicochemical properties

The physicochemical characteristics, mineral content, protein indexes and internal color of the six different Reino cheese brands are presented in Table 1.

All brands presented hard texture, whose moisture was less than 35.9%, except for R3, which presented higher moisture content ($37.76 \pm 0.10\%$). The lower final moisture content of the product may be due to milk composition and cheese processing, as their variation can influence the ripening process and attributes, such as consistency, softness, among others, which contribute to its final quality.

R5 cheese presented the highest lipid percentage ($36.00 \pm 0.01\%$ w/w) among the evaluated brands; however, due to the higher total dry extract percentage ($68.28 \pm 0.37\%$ w/w), it showed moderate lipid percentage in the dry extract ($52.73 \pm 0.28\%$ w/w). In turn, R2 cheese stood out with the highest lipid content in the total dry extract ($53.20 \pm 0.16\%$ w/w). The lack of standardization in milk fat content can also justify the variation in cheese fat and other characteristics of different brands. All brands of Reino cheese were classified as fatty because they had a fat-in-dry-extract content ranging from 45% w/w to 59.9% w/w (Brazil, 1996).

R1 and R4 cheeses had higher protein content ($29.81 \pm 0.01\%$ w/w), followed by R5 ($27.73 \pm 0.21\%$ w/w), R3 ($27.36 \pm 0.22\%$ w/w), R6 ($27.24 \pm 0.21\%$ w/w) and R2 ($26.87 \pm 0.01\%$ w/w). Differences in protein and fat content can be attributed to the composition and quality of the milk used for cheese making, which are directly related to animal species, breed, feeding, lactation stage, location and season (Tsiplakou & Zervas, 2008).

R3 cheese had higher ash content ($5.00 \pm 0.03\%$ w/w), suggesting higher inorganic residue content than in the others, especially when compared to R4 ($4.18 \pm 0.01\%$ w/w) and R6 ($4.45 \pm 0.04\%$ w/w).

None of the Reino cheese samples analyzed showed minimum detectable content of reducing sugars. Accordingly, Cichoski, Valduga, Valduga, Tornadijo & Fresno (2002) studied the evolution of Prato cheese ripening and found that from 30 days of manufacture it was not possible to detect lactose, which may be justified by the cheese manufacturing process, as it results in lactose loss in the whey fraction. It may also be explained by its use by lactic-acid-bacteria starter cultures and other lactose-fermenting bacteria present in cheese during manufacturing and throughout ripening.

The mean values of water activity differed between the samples ($p \leq 0.05$), but remained in the range from 0.79 (R1 and R5) to 0.85 (R4). pH was higher for R3, R4 and R5 cheeses while R1 and R6 showed the lowest pH ($p \leq 0.05$). In turn, R6 showed the highest titratable acidity (0.99 ± 0.02 g of lactic acid/100 g), and R4 the lowest (0.40 ± 0.00 g of lactic acid/100 g).

The R1 brand, which showed the second highest ash content ($4.83 \pm 0.02\%$ w/w), had the highest NaCl ($2.57 \pm 0.04\%$ w/w) and Na (932.80 ± 15.00 mg/100 g) levels. R4 cheese, in turn, had the lowest content of NaCl ($0.94 \pm 0.01\%$ w/w) and Na (343.53 ± 4.00 mg/100 g). This result may have been perceived through sensory

analysis, as the tasters considered the salty taste of R4 lower than ideal (Figure 3A). These combined results indicate that sodium reduction in Reino cheese should occur to a certain limit by taking into account consumer welfare as well as satisfaction. In addition, it is noteworthy that the consumption of 100 g of these Reino cheese brands would correspond, on average, to more than 30% of the daily sodium intake recommended by the Ministry of Health (Brazil, 2010).

Higher calcium (Ca) content was observed in R3 cheese (2757.42 ± 4.41 mg/100 g). The higher the calcium content, the greater the cheese protein adhesion, which prevents (Paulson, McMahon, & Oberg, 1998). This is a typical characteristic of Reino cheese, as it is consumed without any cooking methods. The Ca content of R4 (2621.65 ± 3.89 mg/100 g), R5 (2613.14 ± 0.55 mg/100 g) and R6 ($2,591.12 \pm 16.35$ mg/100 g) did not differ and was higher than that of R2 (2473.28 ± 8.17 mg/100 g) and R1 (2389.18 ± 21.11 mg/100 g) ($p \leq 0.05$).

The mean values for the Proteolysis Extension Index (EPI) ranged from 15.30 ± 0.01 (R1) to 23.90 ± 0.97 (R2). Possibly, the ripening time and rennet amount associated with biochemical interactions resulted in variations for this index found in Reino cheese, which can be associated with the sensory and technological quality of cheese, according to Aljewicz, Cichosz, Nalepa and Kowalska (2014).

The Proteolysis Depth Index (DPI) showed mean values ranging from 6.15 ± 0.01 (R1) to 20.27 ± 0.01 (R6). The data were higher than those found by Kamleh et al. (2012) for Halloumi cheese, which ranged from 3.02 ± 0.02 to 4.75 ± 0.51 at 30 days of ripening; from 3.25 ± 0.27 to 4.69 ± 0.34 at 60 days of ripening and from 4.03 ± 0.75 to 6.57 ± 0.51 at 90 days of ripening.

R5 cheese showed the highest L^* value (71.90 ± 1.26), being similar only to R6 (66.97 ± 2.26), and low levels for a^* (7.19 ± 0.19) and b^* (24.69 ± 0.55), similar

coloration to Cheddar cheeses with different fat content at 60 days of ripening (Wadhwani & McMahon, 2012). R1 also had a weak reddish yellow color, observed by the lower values of a^* and b^* (6.72 ± 0.32 and 24.54 ± 0.82 , respectively). In contrast, R3 had a low L^* value (64.24 ± 2.69), a redder color, that is, a higher value of a^* (16.25 ± 0.40), and an intense yellow color with a higher value of b^* (48.13 ± 1.03), possibly due to the use of annatto dye or other dyes (Wadhwani & McMahon, 2012).

3.4. Fatty acid profile

Twenty-seven fatty acids were identified, thirteen of which were saturated, seven monounsaturated (MUFA) and seven polyunsaturated (PUFA) (Table 2).

The proportions of short-chain fatty acids ranged from 7.16 ± 0.01 to 19.42 ± 0.18 g/100 g of fatty acids, while those of medium-chain fatty acids ranged from 2.53 ± 0.04 to 6.94 ± 0.02 g/100 g of fatty acids, and those of long-chain acids ranged from 76.65 ± 0.04 to 94.78 ± 0.02 g/100 g of fatty acids, as classified by Matera et al. (2018). The typical aroma and taste of ripened cheeses are related to some fatty acids, especially short-chain ones, although they were present in low concentration in Reino cheese. Additionally, some lactic acid bacteria may act on the hydrolysis of long-chain fatty acids with the consequent release of short-chain fatty acids (Sangaletti et al., 2009), thus enhancing the aroma in cheese.

The mean values of saturated fatty acids (SFAs) ranged from 65.40 ± 0.07 to 80.41 ± 0.10 g/100 g in samples R3 and R4, respectively, and palmitic (C16:0), myristic (C14:0) and stearic (C18:0) acids predominated in all samples because they are derived from bovine milk (Kalač & Samková, 2010). Some saturated fatty acids (SFAs), such as lauric (C12:0), myristic (C14:0) and palmitic (C16:0) acids and trans fatty acids may be

responsible for the increase in coronary artery disease incidence (Lenighan, McNulty, & Roche, 2019).

Monounsaturated and polyunsaturated fatty acids have a hypocholesterolemic effect on the body, so they should be considered when assessing food lipid profiles (Rodríguez-Alcalá et al., 2013). The MUFA values of the evaluated samples represented from 18.20 ± 0.04 g/100 g of fatty acids in R4 to 23.68 ± 0.03 g/100 g in R6, while PUFA ranged from 1.40 ± 0.08 g/100 g of fatty acids in R4 to 12.84 ± 0.06 g/100 g in R3, and all results showed significant differences between them ($p \leq 0.05$). The PUFA values observed in Reino cheese brands were similar to those found in ripened Italian commercial cheeses (Emmental, Pecorino, Gorgonzola), ranging from 21.11 to 25.79 g/100 g (Prandini, Sigolo, Tansini, Brogna, & Piva, 2007).

Reino cheeses showed higher than 1.0 atherogenicity and thrombogenicity index values, indicating a high potential for stimulating platelet aggregation (Turan, Sönmez, & Kaya, 2007).

The Reino cheese atherogenicity index (AI) showed results that varied significantly ($p \leq 0.05$) from 2.29 ± 0.00 to 4.51 ± 0.02 in samples R6 and R4, respectively, but both values are considered high, which makes Reino cheese an unhealthy type of food, considering the lipid profile alone. AI indicates the relationship between the sum of the main saturated fatty acids and the main unsaturated fatty-acid classes. The former is considered atherogenic (favoring lipid adhesion to the cells of the immune and circulatory systems) while the latter is anti-atherogenic (a platelet aggregation inhibitor and a reducer of levels of esterified fatty acids, cholesterol and phospholipids), thus preventing the appearance of coronary heart disease in the human organism (Batista et al., 2017).

The thrombogenicity index (TI) showed mean results ranging from 1.19 ± 0.01 to 2.90 ± 0.01 in R3 and R4, respectively. Foods that have a high thrombogenicity index have a tendency to increase blood vessel clot formation (Batista et al., 2017). There are no recommended AI and TI values in dairy products, so the lower the value of these indexes, the more favorable it will be to human health.

The values found for the PUFA:SFA ratio of Reino cheese varied from 0.02 to 0.20. This relationship is used to evaluate the nutritional quality of fat in foods. Foods with PUFA:SFA ratio values lower than 0.45 have been considered to be undesirable, especially in relation to cardiovascular diseases and cancers (Simopoulos, 2016).

The highest desirable fatty-acid values DFA (MUFA + PUFA + C18:0) ranged from $40.39 \pm 0.05\%$ w/w to $43.73 \pm 0.05\%$ w/w in samples R1, R3 and R6. The lowest proportions of DFA were observed in R4 ($26.77 \pm 0.25\%$ w/w) and R2 ($29.68 \pm 0.07\%$ w/w). These results are not favorable to human health because they are low in unsaturated fatty acids (Barać et al., 2018).

The differences in the fatty-acid composition of the evaluated cheeses reflect several factors such as cattle diet, production systems, lactation stages and breed, and by interfering in some of them, it is possible to modify the fatty-acid composition in milk (Markiewicz-Kęszycka, Czyżak-Runowska, Lipińska, & Wójt, 2013). The lipid metabolism of autochthonous microbial cultures may interfere with the process of proteolysis during ripening (McSweeney & Sousa, 2000). Thus, reduction in milk-fat content for Reino cheese processing could help with the prevention of possible non-communicable chronic diseases, such as heart and vascular diseases related to this food product.

3.5. Analysis of Principal Components

Principal-component analysis explained 62.20% of the variability between Reino cheese brands with two principal components: PC1 (36.90%) and PC2 (25.30%). The contributions from the variables to the first two principal components can be observed in Figure 4A. On the other hand, they contributed to the differentiation of Reino cheese brands into three distinct groups (Figure 4B). The variables with significant and positive contribution in PC1 were color, overall assessment, consumption intention and relative moisture, while salty taste, lipid content, fat content in dry extract, total dry extract, titratable acidity, EPI and DPI showed negative auto vectors. R3 and R4 brands converged and formed group A on the positive axis of PC1, while, on the negative side, group B was formed by R2, R5 and R6. The variables with significant and positive contribution to PC2 were texture, pH, Ca content and L* parameter. In contrast, NaCl and Na content showed a strong negative contribution to PC2. Finally, groups A and B received positive PC2 scores while Group C received a negative score. The other variables were not important to explain the variability between the Reino cheese brands within the first two principal components.

R3 and R4 (Group A) cheeses stood out from the others for their higher consumption intent, associated with higher relative moisture, pH and Ca content, as well as for the preference for their color, texture and overall assessment. In addition, they showed lower content of lipids, fat in the dry extract, total dry extract, titratable acidity, EPI, DPI, NaCl and Na. Thus, the characteristics observed in the R3 and R4 brands can be considered as ideal, but still do not meet the demands of consumers who want healthier Reino cheese, since the R3 sample showed high sodium content, providing more than 400 mg of sodium in a 100 g portion of the product. Therefore, since Reino

cheese is considered rich in sodium according to the Ministry of Health (Brazil, 2010), it is potentially harmful to health. In addition, the saturated-fat values established by the World Health Organization (2003) should be no more than 10%; nevertheless, R3 (27%) and R4 (34%) samples exceeded the recommended daily value by two- to threefold.

4. Conclusion

The market research showed that consumers are looking for low-fat and low-sodium Reino cheese, in addition to the milder taste required by younger consumers. The results obtained allowed us to understand the relationship between the nutritional, sensory characteristics of Reino cheeses and their acceptance by consumers. In this context, the study has contributed significantly by providing a range of important parameters that are necessary to improve the product but maintaining certain typical characteristics. The characteristics observed in the R3 and R4 (60 to 65 days of manufacture) brands can be considered as ideal, but still do not meet the demands of consumers who want healthier Reino cheese.

Acknowledgements

This study was funded by the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel - Brazil (CAPES) - Financing Code 001.

References

- Aljewicz, M., Cichosz, G., Nalepa, B., & Kowalska, M. (2014). Influence of the probiotic *Lactobacillus acidophilus* NCFM and *Lactobacillus rhamnosus* HN001 on proteolysis patterns of Edam Cheese. *Food Technology and Biotechnology*, 52(4), 439-447.
- Amarante, J. O. A. (2015). Queijos do Brasil e do mundo para iniciantes e apreciadores. (4th. ed.) São Paulo, SP, BR: Mescla Editorial.
- Andreatta, E., Fernandes, A. M., Santos, M. V., Lima, C. G., Mussarelli, C., Marquesi, M. C., & Oliveira, C. A. F. (2007). Effects of milk somatic cell count on physical and chemical characteristics of mozzarella cheese. *The Australian Journal of Dairy Technology*, 62(3), 166–170.
- AOAC (2005). Official methods of analysis of AOAC International 18th ed. Gaithersburg, MD, EUA: AOAC International.
- Barać, M., Kresojević, M., Špirović-Trifunović, B., Pešić, M., Vučić, T., & Kostić, A. (2018). Fatty acid profiles and mineral content of Serbian traditional white brined cheeses. *Mljekarstvo*, 68(1), 37-45.
- Batista, A. L. D., Silva, R., Cappato, L. P., Ferreira, M. V. S., Nascimento, K. O., Schmiele, M., Esmerino, E. A., Balthazar, C. F., Silva, H. L. A., Moraes, J., Pimentel, T. C., Freitas, M. Q., Raicez, R. S. L., & Cruz, A. G. (2017). Developing a symbiotic fermented milk using probiotic bacteria and organic green banana flour. *Journal of Functional Foods*, 38, 242-250.
- Bigliardi, B., & Galati, F. (2013). Innovation trends in the food industry: The case of functional foods. *Trends Food Science & Technology*, 31, 118-129.

Boncinelli, F., Contini, C., Romano, C., Scozzafava, G., & Casini, L. (2016). Territory, environment, and healthiness in traditional food choices: insights into consumer heterogeneity. *International Food and Agribusiness Management Review*, 20, 1, 143-157.

Brasil. (1996). Ministério da Agricultura e do Abastecimento- MAPA. Secretaria Nacional de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Portaria nº 146, de 07 de março de 1996. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, nº 146, 3977 p. 11 mar. 1996. Seção 1. (Ministry of Agriculture and Supply - MAPA. National Secretariat of Inspection of Animal Products. Ordinance No. 146 of March 7, 1996. Technical Regulations for Identity and Quality of Dairy Products. Official Gazette [of] the Federative Republic of Brazil, Brasilia, 146, 3977 p. Mar 11 1996. Section 1.)

Brasil. (2010). Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada nº. 24 de 15 de junho de 2010. Dispõe sobre a oferta, propaganda, publicidade, informação e outras práticas correlatas cujo objetivo seja a divulgação e a promoção comercial de alimentos considerados com quantidades elevadas de açúcar, de gordura saturada, de gordura trans, de sódio, e de bebidas com baixo teor nutricional. Diário Oficial da União, 2010. (Ministry of Health. National Health Surveillance Agency. Resolution of the Board of Directors no. June 24, 2010. Provides for the offering, advertising, publicity, information and other related practices aimed at the dissemination and commercial promotion of foods considered high in sugar, saturated fat, trans fat, sodium and low nutritional beverages. Official Gazette, 2010).

Brasil. (2018). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento- MAPA. Instrução normativa nº 48, de 29 de outubro de 2018. Aprova o regulamento técnico que fixa a

identidade e as características de qualidade que deve apresentar o queijo Reino. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2018. (Ministry of Agriculture, Livestock and Supply - MAPA. Normative Instruction No. 48 of October 29, 2018. Approves the technical regulation that establishes the identity and quality characteristics of Reino cheese. Official Gazette, Brasilia, DF, 2018).

Brasil. (2019). Secretária de Meio Ambiente, Turismo, Esporte e Lazer. Queijo Reino. Available at: < <http://www.turismo.santosdumont.mg.gov.br/queijo-do-Reino>>.

(Secretary of Environment, Tourism, Sport and Recreation. Reino Cheese. Available at: < <http://www.turismo.santosdumont.mg.gov.br/queijo-do-Reino>>.)

Cichoscki, A. J., Valduga, E., Valduga, A. T., Tornadijo, M. E., & Fresno, J. M. (2002). Characterization of Prato cheese, a Brazilian semi-hard cow variety: evolution of physico-chemical parameters and mineral composition during ripening. *Food Control*, 13 (4-5), 329- 336.

Cody. R. (2015). An Introduction to SAS University Edition. Cary. NC. SAS Institute. pp. 366.

Drake, M. A. (2007). Invited review: Sensory analysis of dairy foods. *Journal of Dairy Science*, 90, 4925–4937.

Dutcosky, S. D. (2013). Análise sensorial de alimentos. (4 th. ed.) Curitiba: Champagnat, pp. 531.

Folch, J., Less, M., & Stanley, S. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal Biological Chemistry*, 226(1), 497-509.

Gusmão, T. A. S., Alexandre, A. M., Souza, N. G. G., Sassi, K. K. B., Gusmão, R. P., & Moreira, R. T. (2017). Partial replacement of sodium chloride by potassium chloride in

the formulation of French bread: effect on the physical, physicochemical and sensory parameters. *Food Science and Technology*, 37 (1), 55-62.

Hartman, L., & Lago, R. C.A. (1973). Rapid preparation of fatty acid methyl from lipids. *Laboratory Practice*, 22(6), 474-476.

Kalač, P., & Samková (2010). E. The effects of feeding various forages on fatty acid composition of bovine milk fat: A review. *Czech Journal of Animal Science*, 55 (12), 521-537.

Kamleh, R., Olabi, A., Toufeili, I., Najm, N. E. O., Younis, T., & Ajib, R. (2012). The effect of substitution of sodium chloride with potassium chloride on the physicochemical, microbiological, and sensory properties of Halloumi cheese. *Journal of Dairy Science*, 95(3), 1140-1151.

Lenighan, Y. M., McNulty, B. A., & Roche, H. M. (2019). Dietary fat composition: replacement of saturated fatty acids with PUFA as a public health strategy, with an emphasis on α -linolenic acid. *Proceedings of the Nutrition Society*, 1–12.

Markiewicz-Kęszycka, M., Czyżak-Runowska, G., Lipińska, P., & Wójt, J. (2013). Fatty acid profile of milk - a review. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 57(2), 135-139.

Matera, J., Luna, A. S., Batista, D.B., Pimentel, T. C., Moraes, J, Kamimura, B. A., Ferreira, M.V.S., Silva, H. L. A., Mathias, S. P., Esmerino, E. A., Freitas, M. Q., Raices, R. S. L., Quitério, S. L., Sant'Ana, A. S., Silva, M. C., & Cruz, A. G. (2018). Brazilian cheeses: A survey covering physicochemical characteristics, mineral content, fatty acid profile and volatile compounds. *Food Research International*, 108, 18-26.

McSweeney, P. L. H., & Sousa, M. J. (2000). Biochemical pathways for the production of flavor compounds in cheeses during ripening. A review. *Lait*, 80(3), 293-324.

- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytic Chemistry*, Washington, 31(3), 426-428.
- Mozuraityte, R., Berget, I., Mahdalova, M., Grønsberg, A., Øye, E. R., & Greiff, K. (2019). Sodium reduction in processed cheese spreads and the effect on physicochemical properties. *International Dairy Journal*, 90, 45–55.
- Narins, P. (1997). The finite population correction. <http://www.spss.com>, issue: 54-55.
- Paulson, B. M.; McMahon, D. J.; Oberg, C. J. (1998). Influence of salt on appearance, functionality, and protein arrangements in nonfat mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*, Champaign, 81, 2053-2064.
- Prandini, A., Sigolo, S., Tansini, G., Brogna, N., & Piva, G. (2007). Different level of conjugated linoleic acid (CLA) in dairy products from Italy. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(6), 472- 479.
- Rodríguez-Alcalá, L. M., Fontecha, J., Hoz, L., Silva, V. S. N., Carvalho, J. E., & Pacheco, M. T. B. (2013). CLA-enriched milk powder reverses hypercholesterolemic risk factors in hamsters. *Food Research International*, 51(1), 244-249.
- Sangaletti, N., Porto, E., Brazaca, S. G. C., Yagasaki, C. A., Dea, R. C. D., & Silva, M. V. (2009). Study of Minas cheese shelf life. *Food Science and Technology*, 29(2), 262-269.
- Schabenberger, O., & Pierce, F.J. (2001). *Contemporary Statistical Models for the Plant and Soil Sciences* (Boca Raton, FL, USA: CRC Press), 730.
- Sheehan, A., O’Cuinn, G., FitzGerald, R. J., & Wilkinson, M. G. (2009). Distribution of microbial flora, intracellular enzymes and compositional indices throughout a 12kg Cheddar cheese block during ripening. *International Dairy Journal*, 19(5), 321-329.
- Simopoulos, A.P. (2016). An increase in the omega-6/omega-3 fatty acid ratio increases the risk for obesity, *Nutrients*, 8(3), 1-17.

Tsiplakou, E., & Zervas, G. (2008). Comparative study between sheep and goats on rumenic acid and vaccenic acid in milk fat under the same dietary treatments, *Livestock Science*, 119, 87-94.

Turan, H., Sönmez, G., & Kaya, Y. (2007). Fatty acid profile and proximate composition of the thornback ray (*Raja clavata*, L. 1758) from the Sinop coast in the Black Sea. *Journal of Fisheries Sciences.com*. 1(2), 97-103

Ulbricht, T. L., & Southgate, D. A. T. (1991). Coronary heart disease: seven dietary factors. *The Lancet*, 338 (8773), 985-92.

Wadhwani, R., & McMahon, D. J. (2012). Color of low-fat cheese influences flavor perception and consumer liking. *Journal of Dairy Science*, 95(5), 2336-2346.

WHO. (2003). World Health Organization. Food and Agriculture Organization [WHO/FAO]. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Geneva, CH.

Table 1. Physicochemical, mineral, proteolysis and internal-color analysis of six Reino cheese brands (R1 to R6).

Quality Parameters	Reino cheese ¹					
	R1	R2	R3	R4	R5	R6
Physicochemical						
Moisture (%)	33.74±0.09 ^{cd}	34.15±0.14 ^c	37.76±0.10 ^a	35.18±0.19 ^b	31.72±0.37 ^e	33.49±0.10 ^d
Protein (%)	29.81±0.01 ^a	26.87±0.01 ^d	27.36±0.22 ^c	29.81±0.01 ^a	27.73±0.21 ^b	27.24±0.21 ^c
Reducing sugars (%)	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Lipids (%)	31.0±0.01 ^c	35.03±0.16 ^b	30.00±0.01 ^d	31.00±0.01 ^c	36.00±0.01 ^a	35.00±0.01 ^b
Lipids in dry extract (%)	46.79±0.07 ^d	53.20±0.16 ^a	48.20±0.08 ^c	47.84±0.15 ^c	52.73±0.28 ^b	52.63±0.08 ^b
Total dry extract (%)	66.26±0.09 ^{bc}	65.85±0.14 ^c	62.24±0.10 ^e	64.81±0.19 ^d	68.28±0.37 ^a	66.50±0.10 ^b
Ashes (%)	4.83±0.02 ^b	4.54±0.03 ^c	5.00±0.03 ^a	4.18±0.01 ^e	4.59±0.04 ^c	4.45±0.04 ^d
Aw ¹	0.79±0.01 ^{cd}	0.80±0.00 ^c	0.83±0.00 ^b	0.85±0.00 ^a	0.79±0.00 ^d	0.80±0.00 ^c
TA ² (g of lactic acid.100g ⁻¹)	0.60±0.02 ^d	0.79±0.02 ^b	0.47 ±0.00 ^e	0.40 ±0.00 ^f	0.65 ±0.02 ^c	0.99 ±0.02 ^a
pH	5.45±0.02 ^c	5.67±0.00 ^b	5.74±0.04 ^{ab}	5.76±0.03 ^a	5.75±0.02 ^a	5.49±0.04 ^c
Minerals						
NaCl (% m/m)	2.57±0.04 ^a	1.72±0.01 ^c	1.94±0.12 ^b	0.94±0.01 ^f	1.59±0.01 ^d	1.50±0.02 ^e
Na (mg/100 g)	932.80±15.00 ^a	623.80±3.00 ^c	707.00±6.00 ^b	343.53±4.00 ^f	580.67±3.00 ^d	544.83±6.00 ^e
Ca (mg/100 g)	2389.18±21.11 ^d	2473.28±8.17 ^c	2757.42±4.41 ^a	2621.65±3.89 ^b	2613.14±0.55 ^b	2591.12±16.35 ^b
K (mg/100 g)	111.20±2.59 ^d	128.12±2.38 ^b	119.72±1.75 ^c	100.72±0.59 ^d	145.84±1.50 ^a	116.33±2.90 ^d
Internal color						
<i>L</i>	52.03±2.28 ^e	60.30±0.58 ^{cd}	64.24±2.69 ^{bc}	57.82±1.20 ^d	71.90±1.26 ^a	66.97±2.26 ^{ab}
<i>a</i> *	6.72±0.32 ^e	15.50±0.15 ^b	16.25±0.40 ^a	9.06±0.24 ^d	7.19±0.19 ^e	13.62±0.24 ^c
<i>b</i> *	24.54±0.82 ^e	34.50±0.55 ^c	48.13±1.03 ^a	30.60±0.60 ^d	24.69±0.55 ^e	38.42±0.77 ^b
Proteolysis						
Extent of proteolysis index	15.30±0.01 ^e	23.89±0.01 ^a	16.71±0.14 ^d	18.34±0.01 ^c	19.85±0.15 ^b	23.52±0.11 ^a
Depth of proteolysis index	6.15±0.01 ^f	17.11±0.01 ^b	6.73±0.06 ^e	9.26±0.01 ^d	16.59±0.12 ^c	20.27±0.01 ^a

^{a,b,c,d,e} Values expressed as mean ± standard deviation; Means followed by different superscript letters in the same row differ significantly (Tukey Test, $P \leq 0.05$). ¹Reino Cheese: R1 and R2 (manufactured from 40 to 45 days), R2 and R3 (manufactured from 60 to 65 days), R4 and R5 (manufactured from 80 to 85 days). ²Aw: water activity. ³TA: Titratable acidity. nd: not detected

Table 2. Fatty-acid profile of six Reino cheese brands (R1 to R6).

Fatty acid (g/100 g)	Reino cheese ¹					
	R1	R2	R3	R4	R5	R6
(C4:0)	7.16±0.01 ^e	16.42±0.02 ^c	nd	16.89±0.02 ^b	19.42±0.18 ^a	13.50±0.05 ^d
(C10:0)	0.77±0.01 ^c	1.65 ±0.02 ^a	0.23±0.01 ^e	0.83±0.01 ^b	0.55±0.00 ^d	0.21±0.02 ^f
(C12:0)	3.61±0.01 ^d	5.29±0.01 ^a	4.97±0.01 ^b	4.17±0.01 ^c	3.22±0.03 ^e	2.31±0.03 ^f
(C14:0)	13.19±0.01 ^d	16.04±0.03 ^a	15.03±0.02 ^b	13.96±0.02 ^b	12.58±0.08 ^d	9.58 ±0.01 ^e
(C14:1)	1.86±0.01 ^c	2.37±0.02 ^a	2.06±0.02 ^b	1.74±0.01 ^d	1.47±0.02 ^e	1.48±0.01 ^e
(C15:0)	1.70 ±0.02 ^c	2.19 ±0.03 ^b	2.27 ±0.01 ^a	1.50 ±0.08 ^d	1.52 ±0.02 ^d	1.27 ±0.02 ^e
(C16:0)	28.10±0.01 ^b	22.76±0.03 ^e	29.73 ±0.03 ^a	28.28±0.02 ^b	27.04±0.02 ^c	25.93±0.02 ^d
(C16:1)	2.21±0.01 ^c	3.17±0.02 ^b	3.67±0.01 ^a	1.98 ±0.02 ^e	2.08±0.09 ^d	1.97±0.01 ^e
(C17:0)	1.43±0.01 ^a	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	1.17±0.01 ^c	1.16±0.02 ^c	1.25±0.02 ^b
(C18:0)	10.06±0.02 ^b	8.05±0.03 ^d	9.13±0.02 ^c	7.15±0.01 ^f	7.53±0.04 ^e	10.47±0.02 ^a
(C18:1n9t)	nd	nd	nd	0.82 ±0.02 ^a	nd	0.73±0.02 ^b
(C18:1n9c)	17.73±0.01 ^b	10.92±0.02 ^e	13.69±0.04 ^{dc}	13.66±0.02 ^d	14.20±0.07 ^c	19.50±0.02 ^a
(C18:2n6t)	1.08±0.01 ^a	nd	nd	nd	nd	0.84±0.04 ^b
(C18:2n6c)	1.23±0.02 ^c	nd	2.18±0.07 ^a	1.40±0.08 ^b	1.35±0.03 ^b	1.45±0.02 ^b
(C20:0)	nd	nd	4.03±0.02 ^a	nd	nd	1.35±0.04 ^b
(C18:3n6)	1.67±0.01 ^a	nd	nd	nd	1.44±0.01 ^b	1.05±0.02 ^c
(C20:1)	1.14±0.00 ^b	2.17±0.04 ^a	nd	nd	nd	nd
(C18:3n3)	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	4.03±0.04 ^a	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b
(C21:0)	nd	3.02±0.03 ^a	nd	1.37±0.02 ^b	nd	1.48±0.01 ^b
(C20:2)	nd	nd	3.05±0.01 ^a	nd	nd	1.54±0.02 ^b
(C22:0)	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	2.25±0.04 ^a	0.00±0.00 ^b	2.01±0.02 ^a
(C22:1n9)	nd	nd	2.33±0.02 ^a	nd	1.02±0.03 ^b	nd
(C20:3n3)	1.75±0.01 ^c	2.97±0.02 ^b	3.58±0.12 ^a	nd	1.50±0.05 ^d	nd
(C20:4n6)	1.66±0.01 ^a	nd	nd	nd	nd	2.07±0.02 ^b
(C23:0)	nd	2.95±0.02 ^a	nd	nd	1.62±0.05 ^b	nd
(C24:0)	3.64±0.02 ^a	nd	nd	2.83±0.02 ^b	nd	nd
(C24:1)	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	2.33±0.05 ^a	0.00±0.00 ^b
SCFAs ²	7.16±0.01 ^e	16.42±0.02 ^b	nd	16.89±0.02 ^c	19.42±0.18 ^a	13.50±0.05 ^d
MCFAs ³	4.38±0.01 ^d	6.94±0.02 ^a	5.21±0.02 ^b	5.00±0.02 ^c	3.77±0.03 ^e	2.53±0.04 ^f
LCFAs ⁴	88.46±0.02 ^b	76.65±0.04 ^e	94.78±0.02 ^a	78.11±0.04 ^d	76.81±0.19 ^e	83.97±0.09 ^c
SFAs ⁵	69.68±0.04 ^d	78.38±0.06 ^b	65.40±0.07 ^e	80.41±0.10 ^a	74.64±0.18 ^c	69.37±0.04 ^d
MUFAs ⁶	22.94±0.00 ^b	18.66±0.06 ^e	21.76±0.07 ^c	18.20±0.04 ^f	21.06±0.12 ^d	23.68±0.03 ^a
PUFAs ⁷	7.38±0.04 ^b	2.97±0.02 ^e	12.84±0.06 ^a	1.40±0.08 ^f	4.30±0.07 ^d	6.95±0.04 ^c
MUFAs/SFAs ⁸	0.33±0.00 ^b	0.24±0.00 ^d	0.33±0.00 ^b	0.23±0.00 ^e	0.28±0.00 ^c	0.34±0.00 ^a
PUFAs/SFAs ⁹	0.11±0.00 ^b	0.04±0.00 ^e	0.20±0.00 ^a	0.02±0.00 ^f	0.06±0.00 ^d	0.10±0.00 ^c
DFAs ¹⁰	40.39±0.05 ^c	29.68±0.07 ^e	43.73±0.05 ^a	26.77±0.25 ^f	32.89±0.16 ^d	41.10±0.02 ^b
AI ¹¹	2.79±0.01 ^d	4.26±0.02 ^b	3.01±0.01 ^{cd}	4.51±0.02 ^a	3.18±0.01 ^c	2.29±0.00 ^e
TI ¹²	1.79±0.00 ^d	-	1.19±0.01 ^e	2.90±0.01 ^a	1.96±0.02 ^b	1.86±0.00 ^c

^{a,b,c,d,e} Values expressed as mean ± standard deviation; means followed by different superscript letters in the same row differ significantly (Tukey Test, $P \leq 0.05$). nd: not detected. ¹Reino Cheese: R1 and R2 (40 to 45 days of manufacture), R2 and R3 (60 to 65 days of manufacture), R4 and R5 (80 to 85 days of manufacture). ²SCFAs: Short-Chain Fatty Acids. ³MCFAs: Medium-Chain Fatty Acids. ⁴LCFAs: Long-Chain Fatty Acids. ⁵SFAs: Saturated Fatty Acids. ⁶MUFAs: Monounsaturated Fatty Acids. ⁷PUFAs: Polyunsaturated Fatty Acids. ⁸MUFAs/SFAs: Monounsaturated Fatty Acids/ Saturated Fatty Acids. ⁹PUFAs/SFAs: Polyunsaturated Fatty Acids/Saturated Fatty Acids. ¹⁰DFAs: Desirable Fatty Acids = MUFAs + PUFAs + C18:0 ¹¹AI: Atherogenicity Index = [(C12: 0 + (4 x C14: 0) + C16: 0)] / ω -6 + ω -3 + MUFAs + C18: 1. ¹²TI: Thrombogenicity Index = (C14: 0 + C16: 0 + C18: 0)/(0.5 x (C18: 1 + MUFAs + ω -6) + (3 x ω -3) + (ω -3 / ω -6))

Figure 1. Reino cheese consumers' frequency of consumption (A), ideal moment of consumption (B), suggestions of changes in the characteristics of commercial cheeses (C), preferred sensory attributes (D) and brand choice (E).

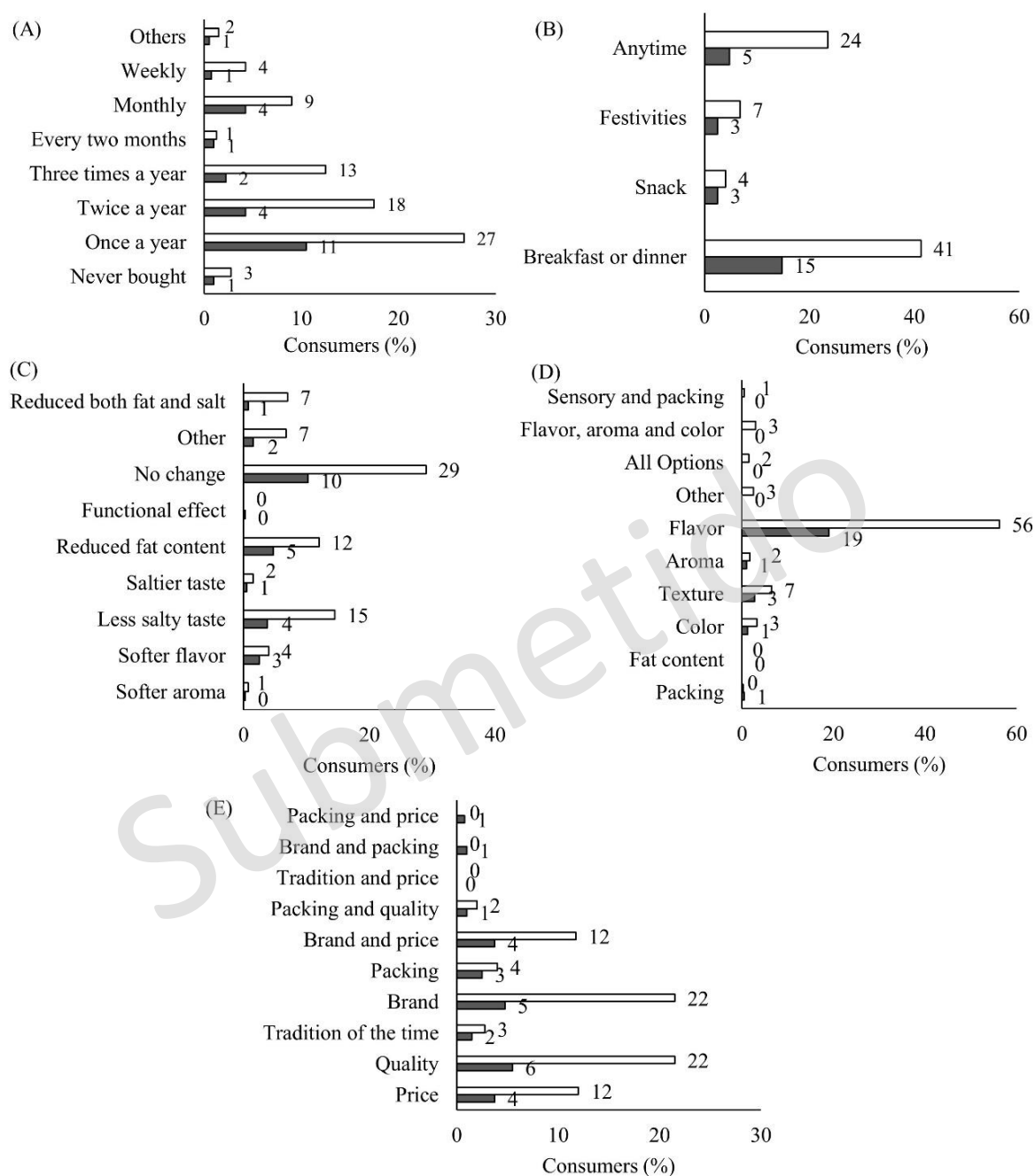
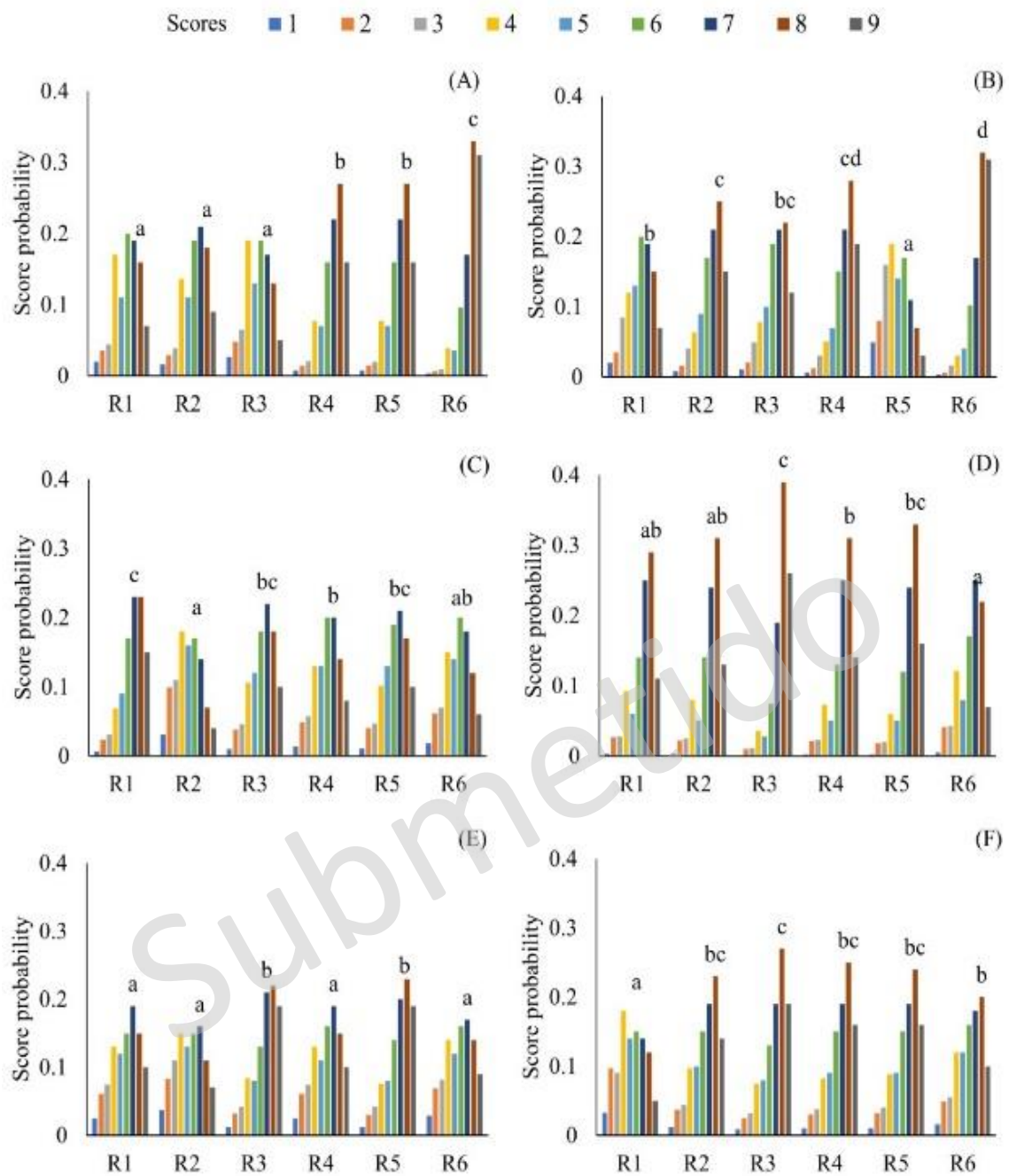
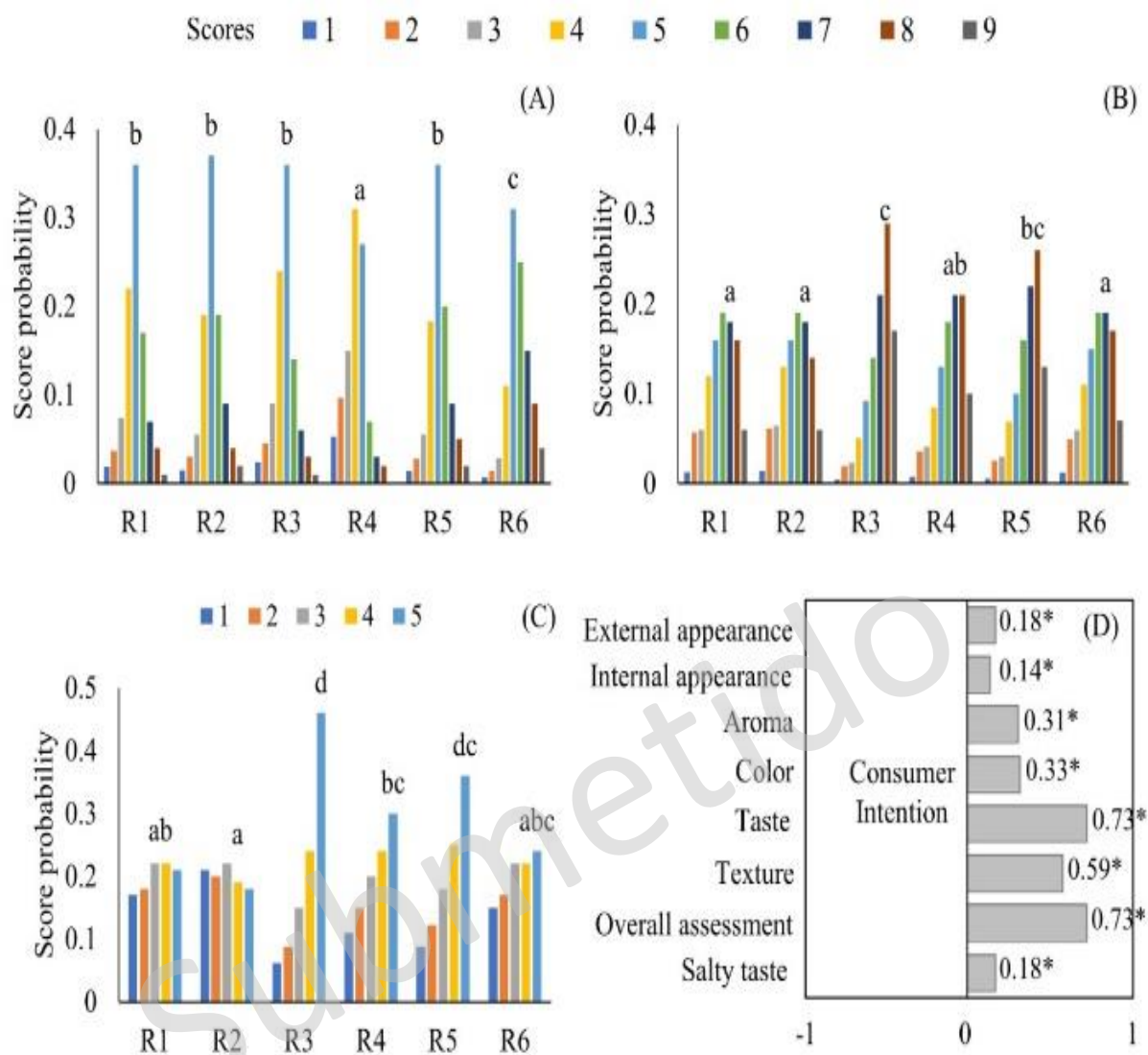


Figure 2. Sensory analysis of six Reino cheese brands (R1 to R6).

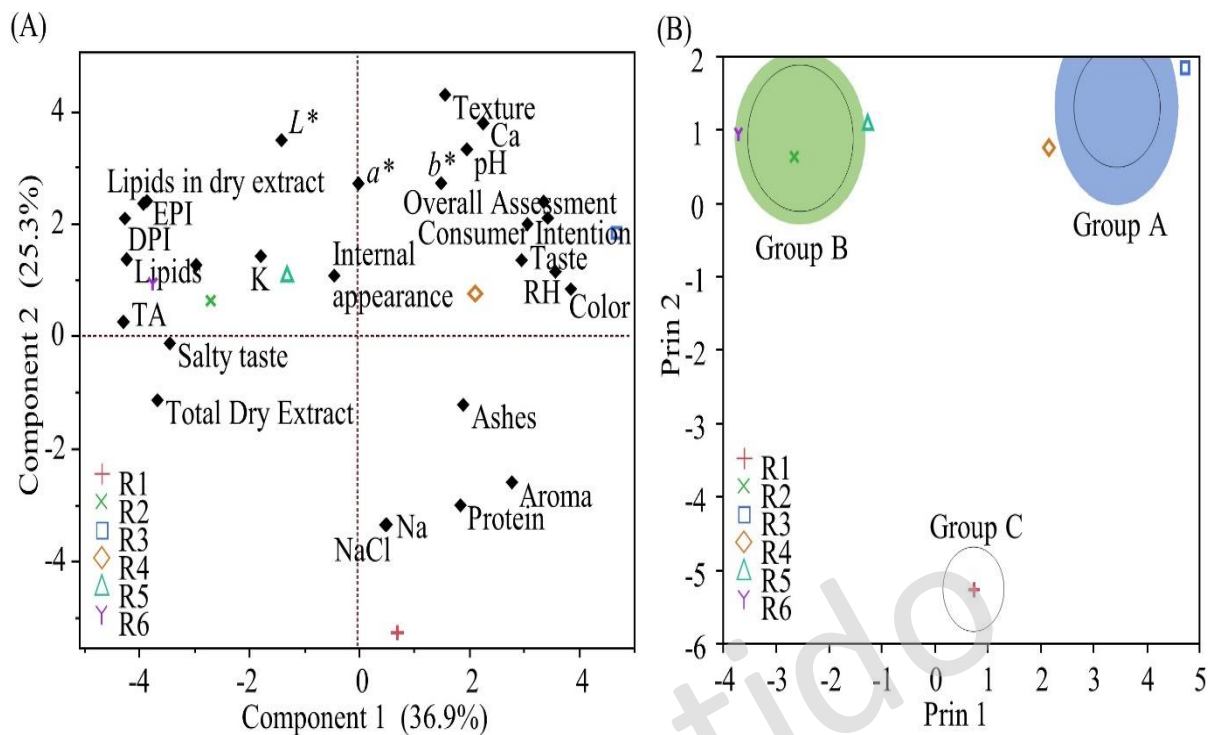
^{a,b,c,d} Means followed by different letters in the same column differ significantly (Tukey Test, $P \leq 0.05$). R1 and R2 (manufactured from 40 to 45 days), R2 and R3 (manufactured from 60 to 65 days), R4 and R5 (manufactured from 80 to 85 days). (A) External appearance, (B) Internal appearance, (C) Aroma, (D) Color, (E) Taste, (F) Texture.

Figure 3. Sensory analysis of six Reino cheese brands (R1 to R6) and Spearman correlation between attributes in the sensory analysis and consumers' intention (D).



^{a,b,c,d} Means followed by different letters in a column differ significantly (Tukey Test, $P \leq 0.05$). R1 and R2 (manufactured from 40 to 45 days), R2 and R3 (manufactured from 60 to 65 days), R4 and R5 (manufactured from 80 to 85 days). (A) Salt taste (B), Overall assessment, (C) Consumer Intention.

Figure 4. Biplots based on the loading values of variables and scores of six of Reino cheese brands (R1 to R6) considering the first two principal components (A) and K-Means Clustering (B).



R1 and R2 (manufactured from 40 to 45 days), R2 and R3 (manufactured from 60 to 65 days), R4 and R5 (manufactured from 80 to 85 days).

ARTIGO 2

**NUTRITIONAL AND SENSORY QUALITY OF REINO CHEESE WITH FAT
REDUCTION AND PARTIAL REPLACEMENT OF NaCl BY KCl IN BRINE**

ABSTRACT

The objective of this study was to investigate the effects of fat reduction and partial replacement of NaCl by KCl in brine on nutritional-quality and product-acceptance parameters. A factorial design with two milk-fat levels (1.1% and 3.3%) was used, which was combined with two levels of NaCl and KCl ratios (15:5 and 12:8 NaCl:KCl) and another additional treatment with 2.2% fat in milk and NaCl:KCl ratio corresponding to 13.5:6.5. The largest reduction in milk fat percentage to 1.1% and lower NaCl ratio (12:8 NaCl:KCl) influenced the results of pH, fat in dry extract, protein, proteolysis extension index, Na, NaCl, L*, adhesiveness, chewiness, gumminess and monounsaturated fatty acids. The reduction in milk fat percentage to 2.2% combined with the replacement of 13.5:6.5 NaCl by KCl represented the formulation with the best nutritional and sensory quality. In all formulations there was the reduction in sodium in brine resulted in the variation of this mineral in cheese from 32.72% to 45.38% and a reduction in milk fat ranged from 3.90% to 59.74% compared to commercial Reino cheese.

1. Introduction

The transformation of milk into fresh or ripened cheese is complex and diverse (Fox, Guinne, Cogan, & McSweeney, 2017), which reflects the wide variety of cheeses in the world with about 1,500 types described (Gobbetti, Neviani, & Fox, 2018). The main steps in this process are acidification, coagulation, dehydration (clot cutting, stirring, heating, salting and other operations that promote curd syneresis), hanging, pressing and salting (Fox, McSweeney, Cogan, & Guinee, 2004). Finally, there is a

product that is rich in nutrients, proteins, fatty acids, vitamins and minerals (Santiago-Lopes et al., 2018).

Reino cheese is considered to be fine or special because of its European origin and for deriving from the Edam cheese, which was packed in tin cans for protection during long journeys. It had a drier mass, a darker color and a stronger flavor, and because it was brought to Brazil by the Portuguese, it was referred to as being “from the Kingdom (Reino)”. It was consumed and appreciated by the Portuguese court. Then, it started to be industrially produced in Brazil and gained wide acceptance. Its consumption became popular mainly in the northeastern region of the country, with greater demand during the June and Christmas festivities (Amarante, 2015). The nutritional composition of Reino cheese per every 100 g of its edible parts is as follows: 24.9 g or 33% of the required daily value (DV) of protein; 2.2 g or 3% of the carbohydrate DV; 27.4 g or 50% of the total lipid DV; 17.6 g or 80% of the saturated fatty-acid DV; 819 mg or 34% of the sodium DV and total caloric value of 356 kcal (Brazil, 2011a).

Salting is one of the most important stages of cheese processing because it affects enzymatic activity, controls microbial growth, reduces the water activity value, helps with casein and milk-fat concentration through dehydration, extends the shelf life of the product and contributes to the formation of the taste and texture of the cheese. The amount of salt absorbed in cheese depends on brine concentration, product geometry, salting time, curd and brine temperature, curd pH and curd composition (Guinee & Fox, 2004). Some cheeses, such as Reino, undergo ripening, which is when biochemical and microbiological changes occur (Fox et al. 2015) that contribute to the sensory quality of the product.

Due to its high fat and sodium content, Reino cheese is not indicated for daily consumption. National and international programs have developed consumers' awareness of the negative effects of the excessive consumption of these ingredients, as they may increase the occurrence of hypertension, cardiovascular disease, chronic diseases and death (McCarthy, Wilkinson, & Guinee, 2016), thus becoming public health problems. In fact, in 2013 hypertension affected 31.2 million Brazilians aged 18 years old and over (Brazil, 2017), and consumers worldwide are increasingly seeking a healthy lifestyle. As a result manufacturers are working with ingredients and formulations that generate innovative products (Bigliardi & Galati, 2013).

Reformulating cheeses with reduced sodium and fat content seems to be an alternative to meeting consumer demands for healthier products while still maintaining their nutritional characteristics, as most daily salt intake derives from processed foods with about 75% sodium compared to less than 10% in natural foods (Carmi & Benjamin, 2016). However, reducing these components in cheese causes some undesirable changes, as fat reduction, for instance, can cause changes in texture, making it excessively firm and rubbery, as well as in color and taste sensory characteristics (Urgu, Türk, Ünlütürk, Kaymak-Ertekin, & Koca, 2019). Replacing NaCl with potassium chloride (KCl), which is the preferred method of reducing sodium in cheese, can result in bitter and metallic taste, soft and pasty texture (Cruz et al., 2011).

Given the above, the reduction of fat and salt in Reino cheese requires the conduction of physical-chemical and sensory tests in order to understand the consumer's perception of the characteristics of the reformulated product. Consumers' judgment provides information that enables manufacturers and researchers to identify the intensity of changes and whether they result in a product with good acceptance. Thus, the objective of this study was to investigate the effects of fat reduction and

partial substitution of NaCl by KCl on the quality and acceptability parameters of Reino cheese.

2. Materials e Methods

2.1. Raw Material and Ingredients

The milk used in processing Reino cheese was purchased from a company in the beef industry with a distributor in the city of João Pessoa/PB. One hundred and seventy-two liters of milk from the same batch were used. They were transported in high-density polyethylene containers and kept refrigerated (temperature 8 ± 2 °C). Reino cheese was made using commercial lyophilized cultures of *Lactobacillus helveticus* (LH-B02), type-O homofermentative mesophilic cultures (R-704) and aromatic mesophilic cultures (CHN-22), as well as annatto dye and coagulant (CHY-MAX[®] Extra). These ingredients were kindly provided by Chr. Hansen[®] (Chr. Hansen, Valinhos, São Paulo, Brazil). The 40% liquid calcium chloride (Rica Nata Indústria e Comércio Ltda., Piracema, Minas Gerais, Brazil) and natamycin (Sacco Comércio, Importação e Exportação de Alimentos Ltda., Campinas, São Paulo, Brazil) were purchased.

2.2. Reino cheese production

2.2.1. Experimental design

In processing Reino cheese with fat reduction in milk (F) and partial replacement of NaCl by KCl in brine (N), a factorial design ($2 \times 2 + 1$) was used with

two milk fat concentrations (3.3% and 1.1%) *versus* two different NaCl:KCl ratios (15:5 and 12:8), with an additional treatment (2.2% F with 13.5:6.5 NaCl: KCl), totaling 5 treatments. The quantity of the ingredients was established based on preliminary tests.

2.2.2. Brine preparation

Brine consisted of 80% drinking water and 20% salts, whose proportions varied according to the experimental design, using NaCl (North Saline S/A, Mossoró, Rio Grande do Norte, Brazil) and KCl (Contemporary Chemical Dynamics Ltda., Indaiatuba, São Paulo, Brazil). The solution was heated from low heat to boiling, and after 20 minutes, the concentration was measured (°Baumé). The supersaturated solution (19 °Baumé) was cooled to 10 °C and filtered to remove possible residues, and then identified and stored.

2.2.3. Processing

The processing of Reino cheese with fat reduction and partial substitution of NaCl by KCl was performed according to the methodology suggested by Amarante (2015) and Taveira, Costa, Costa Jr, Sobral, & Paula (2015) with adaptations (Figure 1). Milk fat content was standardized according to the experimental design (from 1.1%, 2.2% and 3.3% fat) using a centrifugal creamer (Westfalia, model Mtb 50, Oelde, Germany).

The milk was pasteurized at 65 °C/30 minutes, cooled to 34 °C and transferred to the manufacturing tank. Mesophilic starter cultures were added and incubated at 34 ± 2 °C/30 minutes. Annatto dye (0.36/L), 50% calcium chloride (0.45/L) and coagulant (6

mL/100 L) were added and allowed to coagulate (34 ± 2 °C/40 minutes). The curd was then cut into cubes with edges of 2 to 3 cm.

The first stirring occurred slowly for 15 minutes. The partial desorption process was performed with 30% whey (v/v) removal in relation to the initial milk volume. The amount of approximately 20% (v/v) hot water (80 °C) was progressively added to the curd under continuous stirring to increase the temperature, at the rate of 1 °C every 2 minutes, to a temperature of 43 ± 2 °C/35 minutes. All the whey was drained, the curd was pre-pressed for 10 minutes, shaped and pressed into spherical shapes for 20 minutes and then for 12 hours, weighing 25 kg. Brine salting occurred at 15 ± 2 °C/17 hours according to previous tests.

The cheeses were bathed with natamycin (50 g/L) after salting and then placed in a chamber (5 °C and 55% relative moisture) for 10 days for drying and turned daily. After this period, the cheeses were vacuum packed in high-density polyethylene packages and ripened in a chamber (5 °C, 55% relative moisture) for 60 days to develop the characteristic taste and odor of the product, as indicated in the Brazilian legislation.

2.3. Microbiological and physicochemical analyzes in milk and microbiological in cheese

2.3.1. Milk

The bovine milk used as raw material was analyzed according to Normative Instruction no. 62 dated December 29, 2011 (Brazil, 2011b) for the physicochemical characteristics of fat (% w/w) (method no. 2000.18) and acidity in lactic acid (method no. 920.124), according to AOAC (2005). pH was determined using a digital

potentiometer (Tecnal, model TEC-5, Piracicaba, São Paulo, Brazil). Density at 15 °C was measured directly by a thermolactodensimeter (Incoterm Indústria de Thermometers Ltda., Porto Alegre, Brazil). Microbiological analyses (standard plate count (CFU/mL) for coliforms, MPN/mL (30/35 °C); coliforms, MPN/mL (45 °C) and *Salmonella* sp. /25 mL) were performed as recommended by APHA (2001).

2.3.2. Cheese

Microbiological analyses of the cheese were carried out after 40 days of ripening to ensure food safety, according to Resolution no. 12 dated January 2, 2001 (Brazil, 2001), by enumerating coliforms at 45 °C/g, coagulase-positive *Staphylococcus* and the detection of the presence of *Salmonella* sp./25 g by following the methodology described by APHA (2001).

2.4. Determination of response variables in cheese processing

All the analyses of the response variables were conducted after 60 days of ripening. Physicochemical analyses were performed in triplicate, and the analyses of instrumental texture and instrumental color were performed in quintuplicate. Results were expressed as the means of the tests followed by their standard deviations.

2.4.1. Sensory evaluation

The sensory analysis was submitted to and approved by the Research Ethics Committee of the Health Sciences Center of the Federal University of Paraíba (UFPB),

Paraíba State, Brazil (Certificate of Presentation for Ethical Appreciation- no. 85379418.4.0000.5188; Registration: 022.250/2018), as acknowledged by the National Research Ethics Commission.

Referees were recruited by applying a questionnaire considering Reino cheese consumption and the absence of diseases related to sodium, fat and lactose consumption. Eighty consumers over 18 years old participated in the sensory analysis, and the group comprised students, employees and visitors to the Federal University of Paraíba, Campus I. After the Informed Consent Form had been signed, the session was started as described by ISO 8589: 2007 (ISO, 2007).

The pieces of Reino cheese were cut using an industrial slicer (Braesi, model CFBA-030/1, Rio Grande do Sul, Brazil) so as to obtain approximately 2-mm thick slices, which were then cut into a triangular shape by a stainless-steel mold, disregarding the peel. The samples were kept refrigerated (5 ± 1 °C) until the test was performed. The cheese slices were placed on previously coded disposable Petri dishes with three random digits, and sensory analysis was performed in individual booths, with controlled illumination (white) and temperature of 25 ± 1 °C. Samples were distributed in a monadic random fashion, with a design following complete balanced blocks accompanied by water and soda crackers.

The acceptance test evaluated the attributes appearance, color, aroma, texture, flavor and global acceptance by using a nine-point verbal-category hedonic scale, with scores ranging from 1 (disliked very much) to 9 (liked very much). The ideal scale with values ranging from 1 (extremely less than ideal) to 9 (extremely more than ideal) was also applied to know the opinions about the items: intensity of yellow color, characteristic aroma, characteristic flavor, succulence, salty taste and bitter taste. The product consumption intention was evaluated using a five-point structured scale ranging

from 1 (certainly would not consume) to 5 (certainly would consume), according to Dutcosky's methodology (2013).

2.4.2. Determination of physicochemical properties

The physicochemical analyses used for the response variables were: water activity (A_w) (method no. 978.18), moisture (method no. 925.09), ashes (method no. 930.30), fat (method no. 2000.18), fat in the dry extract (method no. 925.23) and protein (method no. 939.02), following the AOAC methodology (2005). pH was determined using a digital potentiometer (Tecnal[®], model TEC-5, Piracicaba, São Paulo, Brazil).

2.4.3. Proteolysis determination

Total nitrogen (TN), trichloroacetic acid (TCA), soluble nitrogen (SN) was determined by the Kjeldahl method multiplied by factor (6.38) (AOAC, 2005). The soluble nitrogen (SN) content at pH 4.6 was determined according to Andreatta et al. (2007). Proteolysis was evaluated according to the extent of the proteolysis index (EPI) and depth of the proteolysis index (DPI) were calculated following Equations 1 and 2:

$$EPI = \frac{SN \text{ at pH } 4.6}{TN} \times 100 \quad (\text{Eq.1})$$

$$DPI = \frac{12\% \text{ TCA at SN}}{TN} \times 100 \quad (\text{Eq.2})$$

2.4.4. Mineral analysis

The samples were submitted to nitroperchloric digestion according to the methodology by Sarruge and Haag (1974) and read on an optical emission spectrometer with inductively coupled plasma (ICP-OES; Perkin Elmer Model Optima 8300 DV, PerkinElmer, California, USA). The equipment was calibrated with multi-elemental solution in the same matrix as that of samples at different concentration ranges to detect phosphorus (P), potassium (K) and calcium (Ca).

2.4.5. Determination of instrumental color

The determination of instrumental color was performed using a Minolta digital colorimeter (Model CR-300; Minolta, Osaka, Japan). The lightness (L^*), red/green (a^*) and yellow/blue (b^*) parameters were determined according to the CIE system (1996).

The equipment was previously calibrated and color coordinate measurements were performed on the inside of the cheese immediately after removing the packaging for analysis according to the methodology by Sheehan, O’Cuinn, FitzGerald, & Wilkinson (2009).

2.4.6. Instrumental texture

The texture profile of Reino cheese was determined on a texture analyzer (Ametek Brookfield, Massachusetts, USA). The cheeses were diced (1.5 x 1.5 x 1.5 cm). In the experiment, 50% of their original height was compressed at a speed of mm/min. A 50-mm probe was used. After a 5-s pause, the probe rose at a speed of 24.00

mm/min until it returned to its original height, according to the methodology described by Wang et al. (2011).

2.4.7. Determination of the fatty-acid profile

The fatty-acid profile was obtained by lipid extraction according to the methodology described by Folch, Less and Stanley (1957), and then the fat with solvent was submitted to evaporation with nitrogen gas. The fat obtained underwent the methyl esterification process according to the methodology described by Hartman and Lago (1973) and fatty-acid quantification was obtained using a calibration curve with methyl ester standards (Supelco[®] 37 Component FAME Mix). Analysis was performed on a gas-chromatography and mass-spectrometry system (GC-MS-QP2010, Shimadzu, Kyoto, Japan) using a Durabound DB-23 column (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm). Injector and detector temperatures were set at 230 °C and column temperature at 90 °C. The elution gradient on the column was 90 to 150 °C (10 °C/min), 150 to 200 °C (2 °C/min), 200 to 230 °C (10 °C/min) at one total run time of 34 minutes with a split/splitless of 100. The carrier gas was helium with total flow of 187.2 mL/min; the gas flow in the column was 1.82 mL/min.

Atherogenicity (AI) and thrombogenicity (TI) indexes were calculated according to Equations 3 and 4 (Ulbricht & Southgate, 1991).

$$AI = \frac{C12:0 + (4 \times C14:0) + C16:0}{\omega 6 + \omega 3 + MUFA + C18:1} \quad (\text{Eq.3})$$

$$TI = \frac{C14:0 + C16:0 + C18:0}{0.5 \times (C18:1 + MUFA + \omega 6) + (3 \times \omega 3) + \frac{\omega 3}{\omega 6}} \quad (\text{Eq.4})$$

The desirable fatty-acid percentage (DFA) was calculated according to Equation 5 using the sum of monounsaturated (MUFA), polyunsaturated (PUFA) and stearic acid (C18:0) (Barać et al., 2018).

$$DFA = MUFA + PUFA + C18:0 \quad (\text{Eq.5})$$

2.5. Statistical analysis

Data were submitted to univariate ANOVA and the means of each treatment were compared with those of the additional treatment (2.2% milk and 13.5:6.5 for the NaCl:KCl ratio) by Dunnett's test with $p \leq 0.05$. Sequentially, bivariate ANOVA was applied to test the main effects (fat and NaCl:KCl ratio) and their interaction. The residual mean square of the univariate ANOVA was used for the bivariate ANOVA tests.

Significant differences were reported for $P \leq 0.05$. Sensory analysis data were analyzed using a generalized linear model considering the multinomial distribution and the link equal to cumulative logit, comparing the probability of distribution of the categories by Tukey's test (Schabenberger & Pierce, 2001). These analyses were performed using SAS[®] University Edition (2015).

Spearman's nonparametric correlation was applied to correlate sensory data. Principal Component Analysis (PCA) and cluster analysis using the K-Means Clustering method were performed. The JMP[®] Pro 13 program was used for multivariate analysis.

3. Results and discussion

3.1 Physicochemical and microbiological quality of milk and microbiological quality of Reino cheese

The properties of milk after heat treatment met the specifications in the Brazilian legislation regarding the parameters of density at 15 °C, titratable acidity, pH and fat, indicating that the milk was suitable for cheese processing. It was also observed that the five milk samples analyzed were within the Brazilian legal limit for coliforms (30/35 °C) (<3.0 MPN/mL), coliforms (45 °C) (<3.0 MPN/mL), *Salmonella* sp./25 mL (absence) and standard plate count (<1.0 x 10³ CFU/mL) (Brazil, 2011b).

The values for all microbiological parameters indicated that the five cheese samples met the standard established by the Brazilian legislation for coliforms at 45 °C (MPN/g) (<3.0), *Staphylococcus* (CFU/g) (10³) and *Salmonella* sp./25 g (absence) (Brazil, 2001).

3.3. Physicochemical analysis results

The effect of milk fat reduction and partial replacement of NaCl by KCl in brine on the physicochemical properties, mineral content and color of Reino cheese are presented in Table 1.

The treatment with greater replacement of NaCl by KCl (12:8 NaCl:KCl) and lower milk fat content (1.1%) resulted in cheeses with higher moisture content 52.13 ± 0.26% w/w. Possibly the substitution of sodium by potassium favored casein hydration, making the product more pasty (Khetra, Kanawjia, Puri, Kumar, & Meena, 2018). The

moisture content observed in this study allowed to characterize the cheeses as having high moisture, generally known as soft or soft mass (Brazil, 1996). However, increasing milk fat continuously reduced the moisture content of the cheese. Thus, the combination of 3.3% milk fat with 15:5 NaCl:KCl resulted in the lowest moisture content $46.12 \pm 0.10\%$ w/w.

Traditionally, Reino cheese has high sodium content and low water activity. It resembles Pecorino Romano cheese, which at different ripening times, had average water activity values ranging from 0.837 ± 0.011 to 0.863 ± 0.007 (Addis et al., 2015). In this study, variations in milk fat concentrations as well as the replacement of NaCl by KCl did not significantly influence the water activity (A_w) of Reino cheese, whose high mean values may have contributed to increase the activity of microorganisms, enzymes and proteolysis (Fenelon & Guinee, 2000).

The reduction in milk fat resulted in lower-lipid-content cheeses as expected. In addition, the replacement of NaCl by KCl also influenced the lipid content as it caused increased moisture and thus decreased fat concentration due to the dilution of this component in cheese mass, as reported by Rulikowska et al. (2013). Treatments with the lowest milk fat content (1.1% and 2.2%) showed mean values of fat in dry extract ranging from $23.05 \pm 0.17\%$ to $38.93 \pm 1.58\%$ m/m, and this result characterizes the product as semi-fat and lean, respectively, although Brazilian legislation standardizes the dry fat content of Reino cheese at a minimum of 45.00% and a maximum of 59.90% w/w (Brazil, 2018).

Total treatment fat ranged from $11.03 \pm 0.03\%$ to $26.33 \pm 0.29\%$ m/m, which corresponds to a reduction from 3.90% to 59.74% when compared to the total fat content (27.4% g/100 g m/m) of commercial Reino cheese (Brazil, 2011a). It is noted that the combination of 1.1% milk fat with 12:8 NaCl:KCl in brine favored lower fat

and fat content in the dry extract, indicating that these combinations result in healthier cheeses in terms of final lower lipid levels.

The ash result of Reino cheese showed similar behavior to that observed by Rulikowska et al. (2013) for Cheddar cheese, as the increase in sodium concentration (from 1.25% to 3.00%) directly reflected the increase in ash content, which ranged from $3.02 \pm 0.30\%$ to $4.04 \pm 0.30\%$ m/m.

When the fat content was low (1.1%), the replacement of NaCl by KCl resulted in a higher Proteolysis Extension Index (EPI). On the other hand, when the fat content in milk was high (3.3%), the highest EPI was observed for cheese made with the highest concentration of NaCl in brine (15%). The ripening conditions employed in order to reduce the speed of proteolysis, as well as lipolysis and microorganism proliferation in Reino cheeses with fat reduction and partial replacement of NaCl by KCl (5 °C for 60 days) allowed for low values of the Proteolysis Extension Index (from $3.05 \pm 0.02\%$ to $7.03 \pm 0.08\%$).

The replacement of NaCl by KCl resulted in the highest Proteolysis Depth Index (DPI) regardless of fat concentration, while the increase in fat content increased DPI regardless of NaCl and KCl combinations in brine. Low DPI values (from $3.16 \pm 0.01\%$ to $3.92 \pm 0.01\%$) may also have been influenced by the low temperature during ripening. A study by Perna, Simonetti, Intaglietta, & Gambacorta (2014) reported similar results in Caciocavallo cheese produced with bovine milk, after 60 days of ripening at a temperature of 10 to 12 °C, whose mean values for the Extension Index and Depth Index were 4.70 and 2.68, respectively. Soodam, Ong, Powell, Kentish, & Gras (2017), when ripening Cheddar cheese at higher temperatures - 20 °C, found increased protein solubilization, increased proteolysis and maintenance of fat agglomeration due to restrictions on the protein network.

It was observed that the reduction in sodium in brine resulted in the variation of this mineral in cheese from 32.72% to 45.38%, which represents a reduction of more than 25% of sodium when these values are compared with Reino cheese (Brazil, 2011a). No perception of metallic or bitter aftertaste common to the use of KCl (Grummer et al. 2013). Making it possible to classify sodium-reduced cheeses as light cheeses according to the Brazilian legislation (Brazil, 2012).

The World Health Organization (2012) recommends a maximum consumption of 5 g of NaCl per day for adults. The processed Reino cheese samples presented mean values ranging from 0.77 ± 0.01 g to 0.94 ± 0.01 g of NaCl in 100 g of cheese, which represents 15.4% to 18.8% of the maximum recommended daily sodium chloride intake. On the other hand, Reino cheese brands present about 2.1 g of NaCl in 100 g of cheese (Brazil, 2011a), which represents 42% of the recommended maximum consumption of sodium chloride. According to McCarthy, Wilkinson, Kelly, & Guinee (2016), Cheddar cheese made by using 100% NaCl brine showed 1.9% m/m NaCl, which is 38% of the maximum recommended by WHO considering a daily consumption of 100 g of cheese. This example confirms that traditional brine-ripened cheeses should have their sodium chloride values reduced on the basis of this recommendation in order to make them healthier for the consumer.

Experimental Reino cheese samples showed an increase in potassium levels ranging from 584.57% to 961.43% in relation to the content found in commercial Reino cheese (121 mg/100 g) (Brazil, 2011a). This corresponds to 20.15% to 33.14% of the recommended daily dietary potassium intake, which is 3,500 mg (WHO, 2012). Potassium ingestion may decrease the inductive effect of sodium and hypertension, decrease urinary calcium excretion, and thus potentially protect skeletal mass (Kamleh et al., 2012).

Lower calcium values than those in this study were found by O'Mahony et al. (2005) when analyzing Cheddar cheese with a calcium content of 852 mg/100 g. Calcium was positively correlated with ash content ($r = 0.88$; Figure 2). Thus, it was the main constituent of the Reino cheese mineral fraction.

Cheeses with higher milk fat content (3.3%) and a higher percentage of brine NaCl (15:5 NaCl:KCl ratio) showed a higher L^* value (75.17 ± 0.46), a less reddish color (lower value of $a^* = 10.12$) and intense yellow coloration (high $b^* = 49.33$), which was possibly due to the higher content of beta carotene in milk fat (Tian, Pitchford, Morris, Cullen, & Bottema, 2010). Decreased fat levels reduced L^* values, increased the reddish color (higher a^* values) and reduced the yellowish color (lower b^* values) when NaCl was high in brine (15:5 NaCl:KCl), which may have been affected by higher moisture resulting in lower dye concentration. In turn, replacing NaCl with KCl reduced L^* values, except when milk fat was very low (1.1%), continuously increased a^* values, thus intensifying the reddish coloration, and increased the b^* value when fat in milk was low (1.1%).

Variations in cheese fat content showed strong positive correlation ($r = 0.88$) with L^* values, strong negative correlation ($r = -0.89$) with a^* values, and moderate positive correlation ($r = 0.56$) with b^* values (Figure 2). In turn, the variations in the contents of K and Na showed moderate and negative correlation ($r = -0.68$ and $r = -0.67$, respectively) with L^* values, strong and positive correlation ($r = 0.73$) and moderate positive ($r = 0.55$), respectively, with a^* values, in addition to Na presenting moderate and negative correlation ($r = -0.69$) with b^* . These results together confirm the strong influence that milk fat content, NaCl and KCl contents in brine, and consequently Na and K in cheese, have on the coloration of Reino cheese.

Additionally, we can observe that the effects can be antagonistic, in the case of fat and NaCl replacement in brine, or complementary, when we favor the accumulation of both Na and K in the cheese, indicating that the selection of cheeses with desired coloration should not only consider the concentration of one of these factors individually, but the interaction of both (fat, NaCl and KCl).

3.4. Instrumental texture

In the formulation with 3.3% milk fat, the change in the NaCl:KCl ratio from 15:5 to 12:8 caused a hardness reduction of 38.64%, while the milk fat 1.1% sample with the same ratio change for NaCl replacement by KCl favored a hardness reduction of 13.53% (Table 2), thus showing that the replacement of NaCl by KCl in brine results in milder Reino cheeses, and this may be justified by the fact that KCl modifies protein hydration properties (Khetra, Kanawjia, Puri, Kumar, & Meena, 2018). In addition, lower milk fat concentrations substantially increase cheese hardness, as fat acts as a lubricant and can break down the protein matrix to make cheese milder (Koca & Metin, 2004).

The highest hardness observed in the cheeses that were made was $37.53 \pm 0.08\text{N}$ for the 15:5 NaCl:KCl combinations with 1.1% fat, while the lowest hardness was $13.29 \pm 0.08\text{N}$ in the 12:8 NaCl:KCl treatment and 3.3% fat, corresponding to a reduction of 64.59%. The variations in the hardness of Reino cheese showed moderate and positive correlation with moisture, strong and positive with ash content and protein content ($r = 0.68, 0.81$ and 0.81 respectively), as well as a strong and negative correlation with fat content and DPI ($r = -0.70$ and -0.88 respectively), but showed no significant correlation with Ca content, suggesting that proteolysis together with moisture and fat are mainly

responsible for the changes in Reino cheese hardness. Wang et al. (2011) also reported that proteolysis was important for the texture of Cheddar cheeses, while Ca balance showed no effect.

In addition to reducing hardness, the increase in milk fat percentage promoted a significant decrease ($P \leq 0.05$) in elasticity, gumminess, chewiness, cohesiveness and fracturability at both NaCl:KCl levels (Table 2). Partial replacement of NaCl by KCl also reduced adhesiveness when milk fat levels were high (3.3%); reduced gumminess and chewiness when milk fat levels were low (1.1%) as well as reduced fracturability at both fat levels.

3.5. *Fatty acid profile*

The fatty acid profile of Reino cheese as a function of milk fat and different NaCl:KCl ratios is shown in Table 3. Thirteen fatty acids were identified, of which eight were saturated (SFA), four monounsaturated (MUFA) and one polyunsaturated (PUFA). The presence of short-chain fatty acids (C2-C4) was not observed. Medium-chain (C8-C12) fatty acids ranged from 3.81 ± 0.06 to 7.14 ± 0.10 g/100 g of fatty acids and long-chain (C14-C24) fatty acids from 92.86 ± 0.10 to 96.19 ± 0.06 g/100 g of fatty acids, as classified by Matera et al. (2018). Reduction in the amount of short- and medium-chain fatty acids due to milk creaming results in ripened cheeses with less intense aroma and flavor, as components such as esters, aldehydes, alcohols and ketones will be present in smaller quantities (Fuente, Fontecha, & Juarez, 1993).

Higher NaCl concentration in relation to KCl as well as increased fat in milk resulted in higher saturated fatty acid content. Thus, the lowest SFA content was $64.24\% \pm 0.06$ g/100 g of fatty acids, observed for the combination of 1.1% milk fat

with a 12:8 NaCl:KCl ratio, while the highest value was $68.52\% \pm 0.11$, observed for the combination of 3.3% milk fat with a 15:5 NaCl:KCl ratio. In this context, myristic acid (C14:0), palmitic acid (C16:0) and stearic acid (C18:0) were predominant in all samples, which is a characteristic of cheeses made from bovine milk (Kalač & Samková, 2010).

Some saturated fatty acids (SFAs), such as lauric (C12:0), myristic (C14:0) and palmitic (C16:0) acids, in addition to trans fatty acids, may be responsible for the increase of coronary artery disease (Lenighan, McNulty, & Roche, 2019).

In turn, monounsaturated fatty acids increased with the reduction in milk fat concentration, and polyunsaturated fatty acids were not influenced by milk fat content when combined with a higher NaCl (15:5 NaCl:KCl) concentration. Additionally, greater replacement of NaCl by KCl resulted in higher MUFA and PUFA contents for both fat concentrations. Monounsaturated and polyunsaturated fatty acids have a hypocholesterolemic effect because they act by reducing blood cholesterol levels, so they should be considered when assessing the lipid profiles of food (Rodríguez-Alcalá, Villar-Tajadura, Juárez, & Fontecha, 2013).

Appropriate atherogenicity (AI) and thrombogenicity (TI) values should be less than or close to 1, as this will prevent platelet aggregation and coronary disease (Turan, Sönmez, & Kaya, 2007). The Reino cheeses produced presented mean AI values ranging from 1.98 ± 0.01 to 2.39 ± 0.02 and TI from 1.73 ± 0.00 to 2.02 ± 0.01 . A study by O'Callaghan et al. (2017) on Cheddar cheese reported mean values of atherogenicity indexes ranging from 2.84 ± 0.23 to 3.29 ± 0.04 and thrombogenicity ranging from 2.78 ± 0.19 to 3.92 ± 0.05 , which were higher than those found in this study.

The values found for the polyunsaturated-fatty-acid:saturated-fatty-acid ratio (PUFA:SFA) in Reino cheeses were 0.03 for all samples. This relationship is used to

evaluate the nutritional value of fat in foods, and values below 0.45 have been considered undesirable in diet due to their relationship with cardiovascular diseases and cancers (Simopoulos, 2016). Thus, future studies should seek new techniques for reincorporating short-chain fatty acids and reducing the content of medium- and long-chain fatty acids.

The replacement of NaCl by KCl (12:8) showed the highest mean values of desirable fatty acid (DFA) content, ranging from $53.54\% \pm 0.13$ to $54.00\% \pm 0.09$ for formulations with 3.3% and 1.1% milk fat, respectively. The best lipid index for human health was observed for the combination of 1.1% milk fat with 12:8 NaCl:KCl, as it showed higher DFA $54.00\% \pm 0.09$ g/100 g and lower AI $1.98\% \pm 0.01$ g/100 g and TI $1.73\% \pm 0.00$ g/100 g, confirming once again that lower fat content in milk is important in making healthier Reino cheese.

3.6. Sensory

The changes in the sensory profile of Reino cheese as a function of different milk fat concentrations combined with different NaCl:KCl ratios in brine are shown in Figures 3 and 4, including the probabilities of the scores attributed to each cheese. It is noteworthy that the scores range from 1 to 9 and respectively represent the categories: “disliked very much” and “liked very much”. In this context, low milk fat (1.1%) combined with 12:8 NaCl:KCl resulted in low-scoring cheeses for global acceptance, appearance, color, texture and flavor (Figure 3A to F, except C), as well as for succulence, characteristic taste and salty taste (Figure 4C, D and E, respectively). Thus, a lower percentage of fat in milk resulted in cheeses with lower probabilities of

consumption intention (Figure 5A), and this effect was observed even when combined with a higher NaCl concentration than that of KCl (15:5).

When milk fat was 3.3%, the cheeses received high scores for global acceptance, appearance, aroma, color, texture, flavor, characteristic yellow color, succulence, characteristic taste and salty taste. It is noteworthy that these results were observed even when the brine NaCl:KCl ratio was 12:8, indicating that replacing NaCl with KCl in brine did not detract from the quality of Reino cheese combined with high fat levels. In addition, cheeses from these treatments received higher scores for consumption intention. In fact, the correlation analysis in Figure 4B reveals that the consumption intention of Reino cheese is positively correlated with its sensory characteristics of appearance and taste, except for the characteristic yellow color.

It is also noteworthy that the combination of 13.5:6.5 NaCl:KCl with 2.2% fat did not differ significantly from treatments with higher fat percentage, therefore, it resulted in cheeses with high sensory acceptance and higher consumption intention. Reducing milk fat percentage up to 2.2% combined with the replacement of NaCl by KCl in brine up to 13.5:6.5 represents an alternative to obtain medium-fat Reino cheese, lower Na and NaCl concentration, as well as satisfactory sensory quality and high consumption intention.

4. Conclusion

The results of Reino cheese with fat reduction and partial replacement of NaCl by KCl allowed for the analysis of the physicochemical and nutritional characteristics that led to good sensory acceptance of the product. The formulation with 3.3% milk fat content received high scores for global acceptance, appearance, aroma, color, texture,

taste, characteristic yellow color, succulence, characteristic taste and salty taste, even when the NaCl:KCl ratio was 12:8, thus indicating that the replacement of NaCl by KCl in brine did not detract from the quality of Reino cheese combined with high fat levels. In all formulations there was the reduction in sodium in brine resulted in the variation of this mineral in cheese from 32.72% to 45.38% and a reduction in milk fat ranged from 3.90% to 59.74% compared to commercial Reino cheese. The reduction in milk fat percentage up to 2.2% combined with the replacement of NaCl by KCl in brine up to 13.5:6.5 is an alternative for obtaining medium-fat Reino cheese, medium values of atherogenicity and thrombogenicity, lower concentration of Na and NaCl, as well as satisfactory sensory quality and high consumption intention. The study has contributed to a new formulation of Reino cheese to meet consumers' demands for healthier foods and thus help boost the ripened cheese market.

Acknowledgements

This study was funded by the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel - Brazil (CAPES) - Financing Code 001. Thanks are given to Chr. Hansen® for their kindly providing some ingredients for this study.

References

- Addis, M., Fiori, M., Riu, G., Pes, M., Salvatore, E., & Pirisi, A. (2015). Physico-chemical characteristics and acidic profile of PDO Pecorino Romano cheese: Seasonal variation. *Small Ruminant Research*, 126, 73 -79.
- Amarante, J. O. A. Queijos do Brasil e do mundo para iniciantes e apreciadores. (4th. ed.) São Paulo: Mescla Editorial, 2015.
- Andreatta, E., Fernandes, A. M., Santos, M. V., Lima, C. G., Mussarelli, C., Marques, M. C., et al. (2007). Effects of milk somatic cell count on physical and chemical characteristics of mozzarella cheese. *Australian Journal of Dairy Technology*, 62(3), 166–170.
- AOAC (2005). *Official methods of analysis of AOAC International* (18th ed.). Gaithersburg, MD: AOAC International.
- APHA (2001). *American Public Health Association. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. (4th ed.). Washington, Chapter 7. pp.63-67
- Barać, M., Kresojević, M., Špirović-Trifunović, B., Pešić, M., Vučić, T., & Kostić, A. (2018). Fatty acid profiles and mineral content of Serbian traditional white brined cheeses. *Mljekarstvo*, 68(1), 37-45.
- Brazil. (1996). Ministério da Agricultura e do Abastecimento- MAPA. Secretaria Nacional de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Portaria nº 146, de 07 de março de 1996. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, nº 146, 3977 p. 11 mar. 1996. Seção 1. Available at: <
<https://www2.cead.ufv.br/sgal/files/apoio/legislacao/legislacao6.pdf> >
- Brazil. (2001). Agência Nacional de Vigilância Sanitária- ANVISA. Resolução nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprovar o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos

para alimentos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Available at: <
http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b>

Brazil. (2010). Agência Nacional de Vigilância Sanitária- ANVISA. Resolução nº24, de 15 de julho de 2010. Dispõe sobre a oferta, propaganda, publicidade, informação e outras práticas correlatas cujo objetivo seja a divulgação e a promoção comercial de alimentos considerados com quantidades elevadas de sódio. Diário Oficial da União, 2010. Available at:

<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33864/284972/RDC24_10_Publicidade%2Bde%2Balimentos.pdf/c406d0df-e88b-407a-9c0f-30da652f4a44>

Brazil. (2011a). Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística- IBGE. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009. Tabelas de composição Nutricional dos Alimentos Consumidos no Brasil. Rio de Janeiro. Available at:
<https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv50002.pdf>

Brazil. (2011b). Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento- MAPA. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Regulamento técnico de produção, identidade e qualidade de leite tipo A. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2011. Available at:
<http://bibliodigital.unijui.edu.br:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/5027/INSTRU%c3%87%c3%83O%20NORMATIVA%20N%c2%ba%2062%2c%20DE%2029%20D E%20DEZEMBRO%20DE%202011.pdf?sequence=1>

Brazil. (2012). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Anvisa. Resolução - RDC nº 54, de 12 de novembro de 2012. Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar. Brasília, Brasil: Ministério da Saúde.

Brasil. (2018). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento- MAPA. Instrução normativa nº 48, de 29 de outubro de 2018. Aprova o regulamento técnico que fixa a identidade e as características de qualidade que deve apresentar o queijo Reino. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2018. Available at:
http://www.lex.com.br/legis_27726693_INSTRUCAO_NORMATIVA_N_48_DE_29_DE_OUTUBRO_2018.aspx

- Carmi, I. K., & Benjamin, O. (2016). Reduction in sodium content of fresh, semihard Tzfat cheese using salt replacer mixtures: taste, texture and shelf life evaluation. *International Journal of Dairy Technology*, 70(3), 354–364.
- CIE - Commission Internationale de l'Éclairage. *Colorimetry* (1996). (2 th ed.) Vienna: CIE publication.
- Cody. R. *An Introduction to SAS University Edition*. Cary. NC. SAS Institute. 366p. 2015.
- Simopoulos, A.P. (2016). An increase in the omega-6/omega-3 fatty acid ratio increases the risk for obesity, *Nutrients*, 8 (3), 1-17.
- Dutcosky, S. D. (2013). *Análise sensorial de alimentos*. (4 th. ed.) Curitiba: Champagnat, pp.531.
- Fenelon, M. A., P. O'Connor, & T. P. Guinee. 2000. The effect of fat content on the microbiology and proteolysis in Cheddar cheese during ripening. *Journal of Dairy Science*. 83, 2173–2183.
- Ferrão, L. L., Silva, E. B., Silva, H. L. A., Silva, R., Mollakhalili, N., Granato, D., et al. (2016). Strategies to develop healthier processed cheeses: Reduction of sodium and fat contents and use of prebiotics. *Food Research International*, 86, 93–102.
- Folch, J., Less, M., & Stanley, S. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal Biological Chemistry*, 226(1), 497-509.
- Fox P.F., Guinee T.P., Cogan T.M., & McSweeney P.L.H. (2017). Cheese: Historical Aspects. In: *Fundamentals of Cheese Science*. Springer, Boston, MA.
- Fox, P. F.; McSweeney, P. L. H.; Cogan, T. M.; & Guinee, T. P. (2004). *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Volume 1. General Aspects. Published by Elsevier Academic Press. 3 nd. ed. 617p.
- Fox, P. F.; Uniacke-Lowe, T.; McSweeney, P. L. H.; & O'Mahon, J. A. (2015). *Dairy chemistry and biochemistry* (4th edn.). Springer, Boston, MA. 584.
- Fuente, M. G., Fontecha, F. J., & Juarez, M. G. V. (1993). Fatty acid composition of the triglyceride and free fatty acid fractions in different cows-, ewes- and goats-milk cheeses. *European Food Research & Technology*, 196(2), 155-158.
- Gobbetti, M., Neviani, E., & Fox, P. (2018). *The Cheeses of Italy: Science and Technology*. Science and Technology. Springer International Publishing.
- Guinee, T. P., Fox, P. F. 2004. *Salt in cheese: physical and biological aspects*. In: (Eds. Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., & Cogan, T. M., Guinee, T. P.). *Cheese: Chemistry,*

Physics and Microbiology. 3rd Ed. Volume 1, General Aspects. London: Elsevier. pp: 207-259.

Hartman, L., & Lago, R. C.A. (1973). Rapid preparation of fatty acid methyl from lipids. *Laboratory Practice*, 22(6), 474-476.

Kalač, P., & Samková (2010). E. The effects of feeding various forages on fatty acid composition of bovine milk fat: A review. *Czech Journal of Animal Science*, v. 55, n. 12, p. 521-537.

ISO (2007). *General guidance for the design of test room*. Standard N^o 8589:2007. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.

Kamleh, R., Olabi, A., Toufeili, I., Najm, N. E. O., Younis, T., & Ajib. R. (2012). The effect of substitution of sodium chloride with potassium chloride on the physico chemical, microbiological, and sensory properties of Halloumi cheese. *Journal of Dairy Science*, 95(3), 1146–1149.

Khetra, Y., Kanawjia, S. K., Puri, R., Kumar, R., & Meena, G. S. (2018). Using taste-induced saltiness enhancement for reducing sodium in Cheddar cheese: Effect on physico-chemical and sensorial attributes. *International Dairy Journal*, 91, 165-171.

Koca, N., & Metin, M. (2004). Textural, Melting and Sensory Properties of Low-fat Fresh Kashar Cheese Produced by Using Fat Replacers. *International Dairy Journal*, 14, 365-373.

Grummer, J. et al. Use of potassium chloride and flavor enhancers in low sodium Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, v. 96, n. 3, p. 1401-1418, 2013.

Matera, J., Luna, A. S., Batista, D.B., Pimentel, T. C., Moraes, J, Kamimura, B. A., et al. (2018). Brazilian cheeses: A survey covering physicochemical characteristics, mineral content, fatty acid profile and volatile compounds. *Food Research International*, 108:18-26.

McCarthy, C. M., Wilkinson, M. G., Kelly, P. M., & Guinee, T. P. (2016). Effect of salt and fat reduction on proteolysis, rheology and cooking properties of Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 56, 74–86.

O’Callaghan, T. F., Mannion, D. T., Hennessy, D., McAuliffe, S., O’Sullivan, M. G., Leeuwendaal, N., et al. (2017). Effect of pasture versus indoor feeding systems on quality characteristics, nutritional composition, and sensory and volatile properties of full-fat Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, 100(8), 6053–6073

- O'Mahony, L., McCarthy, J., Kelly P., Hurley, G., Luo, F., Chen, K., et al. (2005). *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* in irritable bowel syndrome: symptom responses and relationship to cytokine profiles. *Gastroenterology*, 128(3), 541-551.
- Perna, A., Simonetti, A., Intaglietta, I., & Gambacorta, E. (2014). Effects of genetic type, stage of lactation, and ripening time on Caciocavallo cheese proteolysis. *Journal Dairy Science*, 97(4), 1909-1917.
- Rodríguez-Alcalá L.M., Villar-Tajadura, A., Juárez, M., & Fontecha, J. (2013). Commercial conjugated linoleic acid (CLA) fortified dairy products. In: Preedy V., Srirajaskanthan R. , Patel V. (eds) *Handbook of Food Fortification and Health*. Nutrition and Health. Humana Press, 173–184 New York, NY.
- Rulikowska, A., Kilcawley, K. N.; Doolan, I. A.; Alonso-Gomez, M.; Nongonierma, A. B.; Hannon, J.A., et al. (2013). The impact of reduced sodium chloride content on Cheddar cheese quality. *International Dairy Journal*, 28(2), 45-55.
- Santiago-López, L., Aguilar-Toalá, J. E., Hernández-Mendoza, A., Vallejo-Cordoba, B., Liceaga, A. M., & González-Córdova, A. F. (2018). Invited review: Bioactive compounds produced during cheese ripening and health effects associated with aged cheese consumption. *Journal of Dairy Science*, 101(5), 3742–3757.
- Sarruge, J. R.; & Haag, H.P. *Análises químicas em plantas*. Piracicaba, ESALQ, 1974, 56 p.
- Schabenberger, O., & Pierce, F.J. (2001). *Contemporary Statistical Models for the Plant and Soil Sciences* (Boca Raton, FL, USA: CRC Press), pp.730.
- Sheehan, A., O’Cuinn, G., FitzGerald, R. J., & Wilkinson, M. G. (2009). Distribution of microbial flora, intracellular enzymes and compositional indices throughout a 12kg Cheddar cheese block during ripening. *International Dairy Journal*, 19(5), 321–329.
- Soodam, K., Ong, L., Powell, I. B., Kentish, S. E. & Gras, S. L. (2017). Effect of elevated temperature on the microstructure of full fat Cheddar cheese during ripening. *Food Structure*, 14, 08-16.
- Taveira, L. B.; Costa, R. G. B.; Costa Jr, L. C. G.; Sobral, D.; & Paula, J. C. J. (2015). Distribuição de NaCl no queijo reino ao longo da maturação. *Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, 70 (3), 141-149.
- Tian, R., Pitchford, W. S., Morris, C. A., Cullen, N. G., & Bottema, C. D. K. (2010). Genetic variation in the β , β -carotene-9', 10'-dioxygenase gene and association with fat colour in bovine adipose tissue and milk. *Animal Genetics*, 41(3), 253–259. doi:10.1111/j.1365-2052.2009.01990.x

- Turan, H.; Sönmez, G.; & Kaya, Y. (2007). Fatty acid profile and proximate composition of the thornback ray (*Raja clavata*, L. 1758) from the Sinop coast in the Black Sea. *Journal Fish Science*, Dongcheng, 1(2), 97-103.
- Ulbricht, T. L., & Southgate, D. A. T. (1991). Coronary heart disease: seven dietary factors. *The Lancet*, 338 (8773), 985-92.
- Urgu, M., Türk, A., Ünlütürk, S., Kaymak-Ertekin, F, & Koca, N. (2019). Milk Fat Substitution by Microparticulated Protein in Reduced-fat Cheese Emulsion: The Effects on Stability, Microstructure, Rheological and Sensory Properties. *Food Science of Animal Resources*, 39(1), 23-34.
- Wang F., Zhang, X., Luo, J., Guo, H., Zeng, S. S., & Ren, F. (2011). Effect of Proteolysis and Calcium Equilibrium on Functional Properties of Natural Cheddar Cheese during Ripening and the Resultant Processed Cheese. *Journal of Food Science*, 76(3), E249- E253.
- WHO (2012). *Guideline: Sodium intake for adults and children*. Geneva, Switzerland: World Health Organization
- Lenighan, Y. M., McNulty, B. A., & Roche, H. M. (2019). Dietary fat composition: replacement of saturated fatty acids with PUFA as a public health strategy, with an emphasis on α -linolenic acid. *Proceedings of the Nutrition Society*, 1–12.

Table 1 - Effect of milk-fat reduction and partial replacement of NaCl by KCl on the physical-chemical characteristics of Reino cheese.

Variables	NaCl:KCl	Fat content of milk (%)		Milk with 2.2% fat + 13.5:6.5 of NaCl:KCl
		1.1	3.3	
<i>pH</i>	12:8	6.88±0.01 ^{aA}	6.69±0.02 ^{*bB}	6.89±0.02
	15:5	6.86±0.03 ^{aA}	6.83±0.02 ^{*aA}	
<i>Aw</i>	12:8	0.98±0.00 ^{ns}	0.98±0.01	0.97±0.00
	15:5	0.97±0.00	0.97±0.00	
<i>Moisture (%)</i>	12:8	52.13±0.26 ^{*aA}	48.13±0.17 ^{*aB}	47.34±0.18
	15:5	51.19±0.01 ^{*bA}	46.12±0.10 ^{*bB}	
<i>Ashes (%)</i>	12:8	4.77±0.00 ^{*aA}	3.72±0.00 ^{*aB}	4.17±0.01
	15:5	4.71±0.01 ^{*bA}	3.68±0.01 ^{*bB}	
<i>Lipids (%)</i>	12:8	11.03±0.03 ^{*bB}	25.67±0.58 ^{*bA}	20.50±0.87
	15:5	15.00±0.01 ^{*aB}	26.33±0.29 ^{*aA}	
<i>FDM</i>	12:8	23.05±0.17 ^{*bB}	49.65±1.21 ^{*aA}	38.93±1.58
	15:5	30.74±0.02 ^{*aB}	48.87±0.45 ^{*aA}	
<i>Protein (%)</i>	12:8	30.83±0.10 ^{*aA}	22.66±0.38 ^{*bB}	26.74±0.59
	15:5	30.49±0.13 ^{*aA}	23.45±0.27 ^{*aB}	
<i>EPI (%)</i>	12:8	3.05±0.02 ^{aB}	3.64±0.06 ^{*bA}	3.15±0.02
	15:5	2.86±0.02 ^{*bB}	7.03±0.08 ^{*aA}	
<i>DPI (%)</i>	12:8	3.39±0.01 ^{aB}	3.92±0.01 ^{*aA}	3.46±0.12
	15:5	3.16±0.01 ^{*bB}	3.63±0.01 ^{*bA}	
<i>K (mg.100g⁻¹)</i>	12:8	1163.33±34.12 ^{*aA}	907.33±9.50 ^{*aB}	805±29.57
	15:5	806.33±15.50 ^{bA}	707.33±13.50 ^{*bB}	
<i>Na (mg.100g⁻¹)</i>	12:8	333.67±14.84 ^{*bA}	303.33±4.51 ^{*aB}	268.00±8.00
	15:5	371.67±4.73 ^{*aA}	319.33±15.50 ^{*aB}	
<i>KCl (g.100g⁻¹)</i>	12:8	2.21±0.06 ^{*aA}	1.73±0.18 ^{*aB}	1.5±0.56
	15:5	1.53±0.03 ^{bA}	1.34±0.25 ^{*bB}	
<i>NaCl (g.100g⁻¹)</i>	12:8	0.84±0.03 ^{*bA}	0.77±0.01 ^{*aB}	0.68±20.34
	15:5	0.94±0.01 ^{*aA}	0.81±0.03 ^{*aB}	
<i>Ca (mg.100g⁻¹)</i>	12:8	2085±65.00 ^{*aA}	1553.00±73.00 ^{aB}	1577.33±13.50
	15:5	1779.33±9.50 ^{*bA}	1269.00±58.00 ^{*bB}	
<i>L*</i>	12:8	65.06±0.22 ^{*aB}	70.92±0.54 ^{*bA}	72.98±0.36
	15:5	65.46±0.39 ^{*aB}	75.17±0.46 ^{*aA}	
<i>a*</i>	12:8	13.58±0.12 ^{*aA}	11.81±0.19 ^{*aB}	11.34±0.04
	15:5	13.22±0.08 ^{*bA}	10.12±0.11 ^{*bB}	
<i>b*</i>	12:8	48.10±0.40 ^{aA}	48.54±0.49 ^{aA}	48.59±0.37
	15:5	45.35±0.90 ^{*bB}	49.33±0.30 ^{aA}	

*Values are the mean ± SD; means are significantly different from those in the additional treatment (milk with 2.2% fat + 2.08 of NaCl:KCl), according to Dunnett's test $P \leq 0.05$. ^{a,b,A,B} Means with different superscript lowercase letters in the same column and with different superscript uppercase letters in the same row differ significantly (t test, $P \leq 0.05$). ns- Non-significant F test ($P \leq 0.05$). S**- Variation of NaCl and KCl salts in the brine at 19° Baumé. FDM - Fat in dry matter; EPI - Extent of proteolysis; DPI - Depth of proteolysis indexes.

Table 2 - Effect of milk-fat reduction and partial replacement of NaCl by KCl on the instrumental-texture profile of Reino cheese.

Variables	NaCl:KCl	Fat content of milk (%)		Milk with 2.2% fat + 13.5:6.5 of NaCl:KCl
		1.1	3.3	
<i>Hardness (N)</i>	12:8	23.03±1.74 ^{*bA}	13.29±0.08 ^{*bB}	18.88±1.03
	15:5	37.53±0.59 ^{*aA}	15.37±0.47 ^{*aB}	
<i>Adhesiveness (mJ)</i>	12:8	1.37±0.06 ^{*aA}	1.10±0.10 ^{*bB}	0.90±0.00
	15:5	1.33±0.06 ^{*aB}	2.30±0.10 ^{*aA}	
<i>Elasticity (mm)</i>	12:8	0.92±0.01 ^{*aA}	0.86±0.01 ^{aB}	0.88±0.01
	15:5	0.92±0.01 ^{*aA}	0.76±0.02 ^{*bB}	
<i>Chewiness (N)</i>	12:8	18.27±0.88 ^{*bA}	5.86±0.14 ^{*aB}	14.29±0.38
	15:5	28.30±0.75 ^{*aA}	5.20±0.26 ^{*aB}	
<i>Resilience</i>	12:8	0.32±0.00 ^{*aA}	0.23±0.01 ^{*aB}	0.30±0.01
	15:5	0.33±0.01 ^{*aA}	0.14±0.00 ^{*bB}	
<i>Cohesiveness (N)</i>	12:8	0.81±0.01 ^{aA}	0.62±0.01 ^{*aB}	0.79±0.01
	15:5	0.82±0.01 ^{*aA}	0.51±0.02 ^{*bB}	
<i>Fracturability (N)</i>	12:8	24.71±1.33 ^{*bA}	13.29±0.08 ^{*bB}	20.10±0.47
	15:5	37.30±0.44 ^{*aA}	15.39±0.41 ^{*aB}	
<i>Gumminess (N)</i>	12:8	19.54±0.31 ^{*bA}	6.77±0.23 ^{*aB}	16.22±0.36
	15:5	33.04±1.40 ^{*aA}	7.64±0.16 ^{*aB}	

*Values are the mean ± SD; means are significantly different from those in the additional treatment (milk with 2.2% fat + 2.08 of NaCl:KCl) according to Dunnett's test ($P \leq 0.05$). ^{a,b,A,B} Means with different superscript lowercase letters in the same column and with different superscript uppercase letters in the same row differ significantly (t test, $p \leq 0.05$). ns - non-significant F test ($P \leq 0.05$). S**- Variation of NaCl and KCl salts in brine at 19° Baumé.

Table 3- Effect of milk-fat reduction and partial replacement of NaCl by KCl on the fatty-acid profile of Reino cheese.

Fat content of milk	1.1		3.3		2.2
NaCl:KCl	12:8	15:5	12:8	15:5	13.5:6.5
(C8:0)	nd	nd	nd	0.94±0.02	nd
(C10:0)	1.61±0.01 ^{aA}	1.56±0.02 ^{aB}	1.56±0.05 ^{aB}	2.87±0.05 ^{*aA}	1.55±0.05
(C12:0)	2.20±0.06 ^{aA}	2.25±0.05 ^{aB}	2.29±0.05 ^{aB}	3.33±0.13 ^{*aA}	2.39±0.04
(C14:0)	9.46±0.06 ^{*bB}	9.62±0.04 ^{aB}	9.65±0.02 ^{aB}	10.22±0.10 ^{*aA}	9.72±0.07
(C14:1)	0.72±0.02 ^{*aA}	0.62±0.03 ^{*bB}	0.73±0.02 ^{*aA}	0.98±0.03 ^{*bA}	0.83±0.02
(C15:0)	1.16±0.03 ^{aA}	1.17±0.06 ^{aB}	1.17±0.01 ^{bA}	1.29±0.02 ^{aA}	1.25±0.02
(C16:0)	30.69±0.08 ^{*bB}	31.18±0.03 ^{*aA}	31.17±0.15 ^{*aA}	30.98±0.30 ^{*aA}	31.65±0.01
(C16:1)	1.07±0.03 ^{aA}	1.11±0.01 ^{*aB}	1.04±0.03 ^{bA}	1.38±0.07 ^{*aA}	0.98±0.03
(C17:0)	0.89±0.02 ^{*aA}	0.79±0.03 ^{*bA}	0.62±0.01 ^{*aB}	0.59±0.01 ^{aB}	0.58±0.01
(C18:0)	18.24±0.07 ^{aB}	18.43±0.03 ^{aA}	18.60±0.05 ^{*aA}	18.30±0.30 ^{bA}	18.11±0.09
(C18:1n9t)	1.53±0.04	1.33±0.04	1.10±0.07	Nd	0.89±0.02
(C18:1n9c)	30.37±0.04 ^{aA}	30.07±0.04 ^{bA}	29.89±0.22 ^{*aB}	27.29±0.08 ^{*bB}	30.19±0.05
(C18:2n6c)	2.07±0.02 ^{aB}	1.86±0.05 ^{bA}	2.18±0.05 ^{*aA}	1.84±0.04 ^{*bA}	2.01±0.08
SCFAs	nd	nd	nd	nd	nd
MCFAs	3.81±0.06 ^{aA}	3.82±0.05 ^{aB}	3.85±0.03 ^{bA}	7.14±0.10 ^{*aA}	3.94±0.04
LCFAs	96.19±0.06 ^{aA}	96.18±0.05 ^{aA}	96.15±0.03 ^{aA}	92.86±0.10 ^{*bB}	96.07±0.05
SFAs	64.24±0.06 ^{*bB}	65.01±0.05 ^{aB}	65.07±0.16 ^{bA}	68.52±0.11 ^{*aA}	65.24±0.08
MUFAs	33.69±0.04 ^{*aA}	33.13±0.05 ^{bA}	32.76±0.20 ^{aB}	29.64±0.08 ^{*bB}	32.86±0.04
PUFAs	2.07±0.02 ^{*aB}	1.85±0.05 ^{bA}	2.18±0.05 ^{*aA}	1.84±0.04 ^{bA}	1.90±0.05
MUFAs/SFAs	0.52±0.00 ^{*aA}	0.51±0.00 ^{bA}	0.50±0.00 ^{aB}	0.43±0.00 ^{*bB}	0.50±0.00
PUFAs/SFAs	0.032±0.00 ^{*aB}	0.029±0.00 ^{bA}	0.033±0.00 ^{*aA}	0.027±0.00 ^{*bB}	0.029±0.00
DFAs	54.00±0.09 ^{*aA}	53.42±0.03 ^{bA}	53.54±0.13 ^{*aA}	49.78±0.33 ^{*bB}	52.87±0.12
AI	1.98±0.01 ^{*bB}	2.06±0.00 ^{aB}	2.06±0.01 ^{bA}	2.39±0.02 ^{*aA}	2.10±0.01
TI	1.73±0.00 ^{*bB}	1.78±0.00 ^{*aB}	1.80±0.02 ^{bA}	2.02±0.01 ^{*aA}	1.81±0.00

SCFAs. short-chain fatty acids; MCFAs. medium-chain fatty acids; LCFAs. long-chain fatty acids; SFAs. saturated fatty acids; MUFAs. monounsaturated fatty acids; PUFAs. polyunsaturated fatty acids; MUFAs / SFAs. monounsaturated fatty acids/ saturated fatty acids; PUFAs/SFAs. polyunsaturated fatty acids/saturated fatty acids; DFAs. desirable fatty acids = MUFAs + PUFAs + C18: 0; AI. atherogenicity index = [(C12: 0 + (4 x C14: 0) + C16: 0)] / ω -6 + ω -3 + MUFAs + C18: 1; TI. thrombogenicity index = (C14: 0 + C16: 0 + C18: 0) / (0.5 x (C18: 1 + MUFAs + ω -6) + (3 x ω -3) + (ω -3 / ω -6)).

*Values are the mean $\pm$ SD; means are significantly different from those in the additional treatment (milk with 2.2% fat + 2.08 of NaCl:KCl) according to Dunnett's test ($P \leq 0.05$). ^{a,b,A,B}Means with different superscript lowercase letters in the same line and with different superscript uppercase letters in the same row differ significantly (t test, $P \leq 0.05$). ns - Non-significant F test ($P \leq 0.05$). nd - Not determined. S**- Variation of NaCl and KCl salts in brine at 19° Baumé.

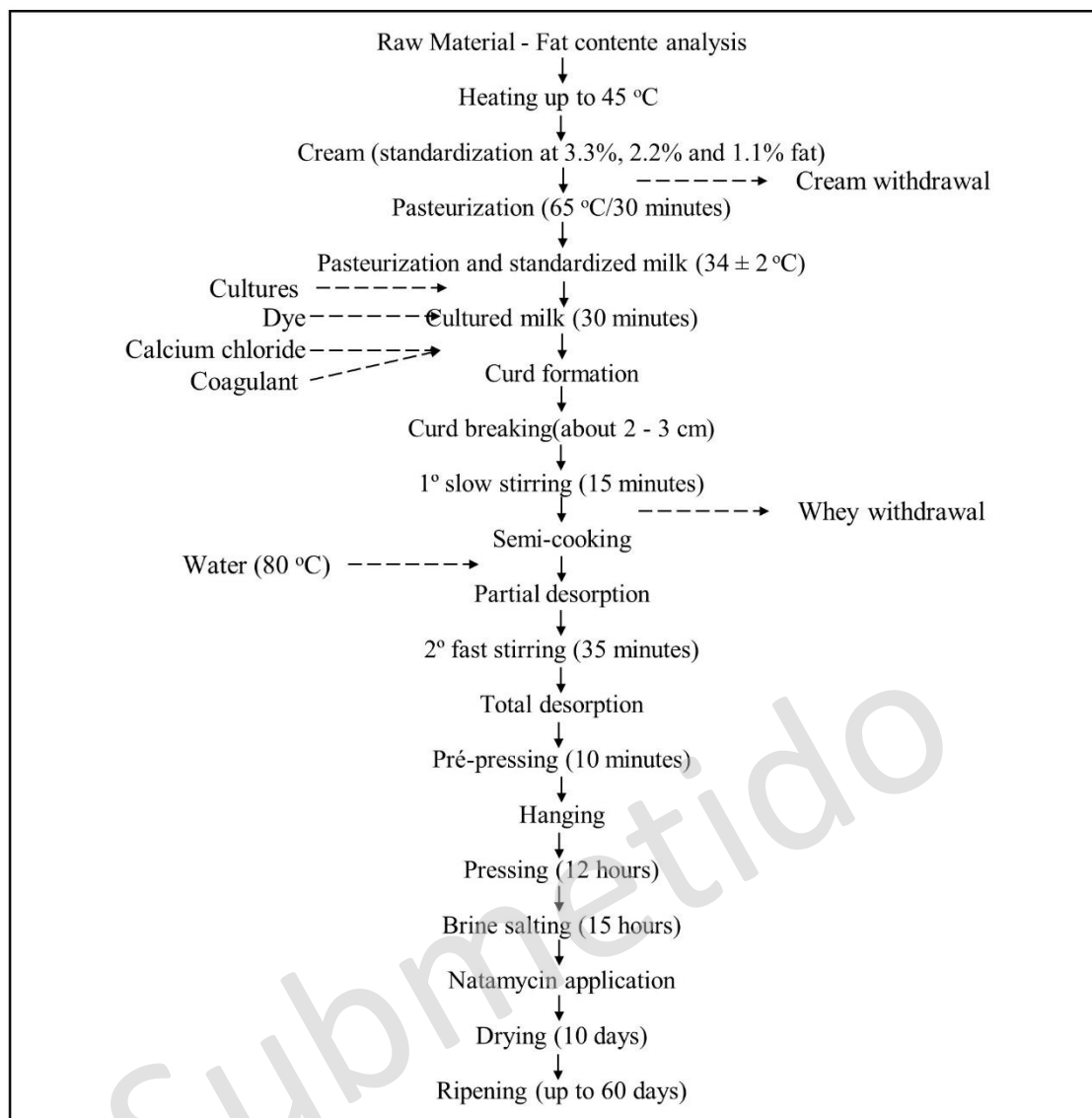


Figure 1 - Flowchart of Reino cheese processing with fat reduction and partial replacement of NaCl by KCl.

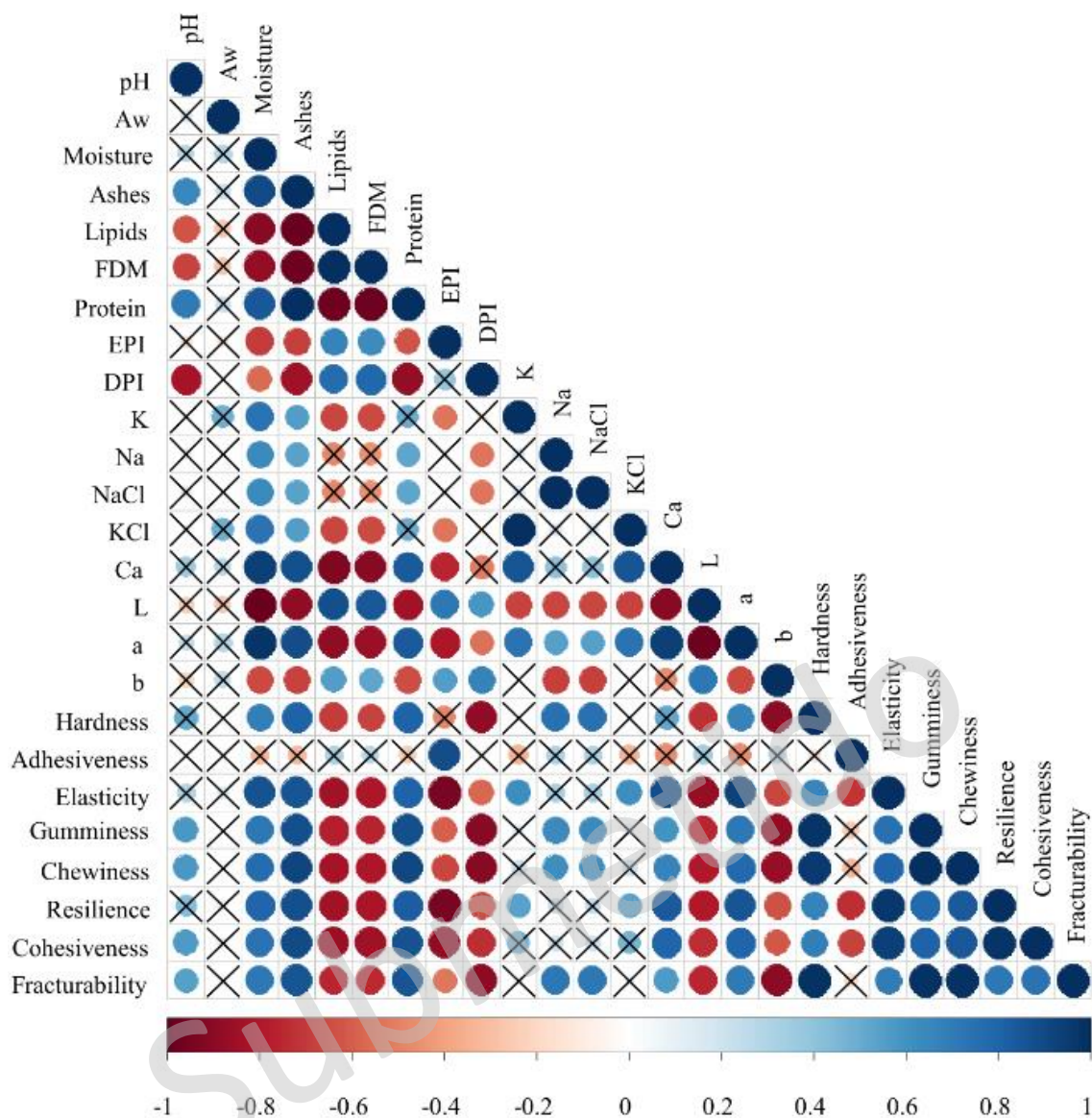


Figure 2 - Pearson's correlation between physical-chemical and instrumental-texture variables. "X" in the box indicates non-significant correlation coefficient up to 5% probability.

FDM - Fat in dry matter; EPI - Extent of proteolysis; DPI - Depth of proteolysis indexes.

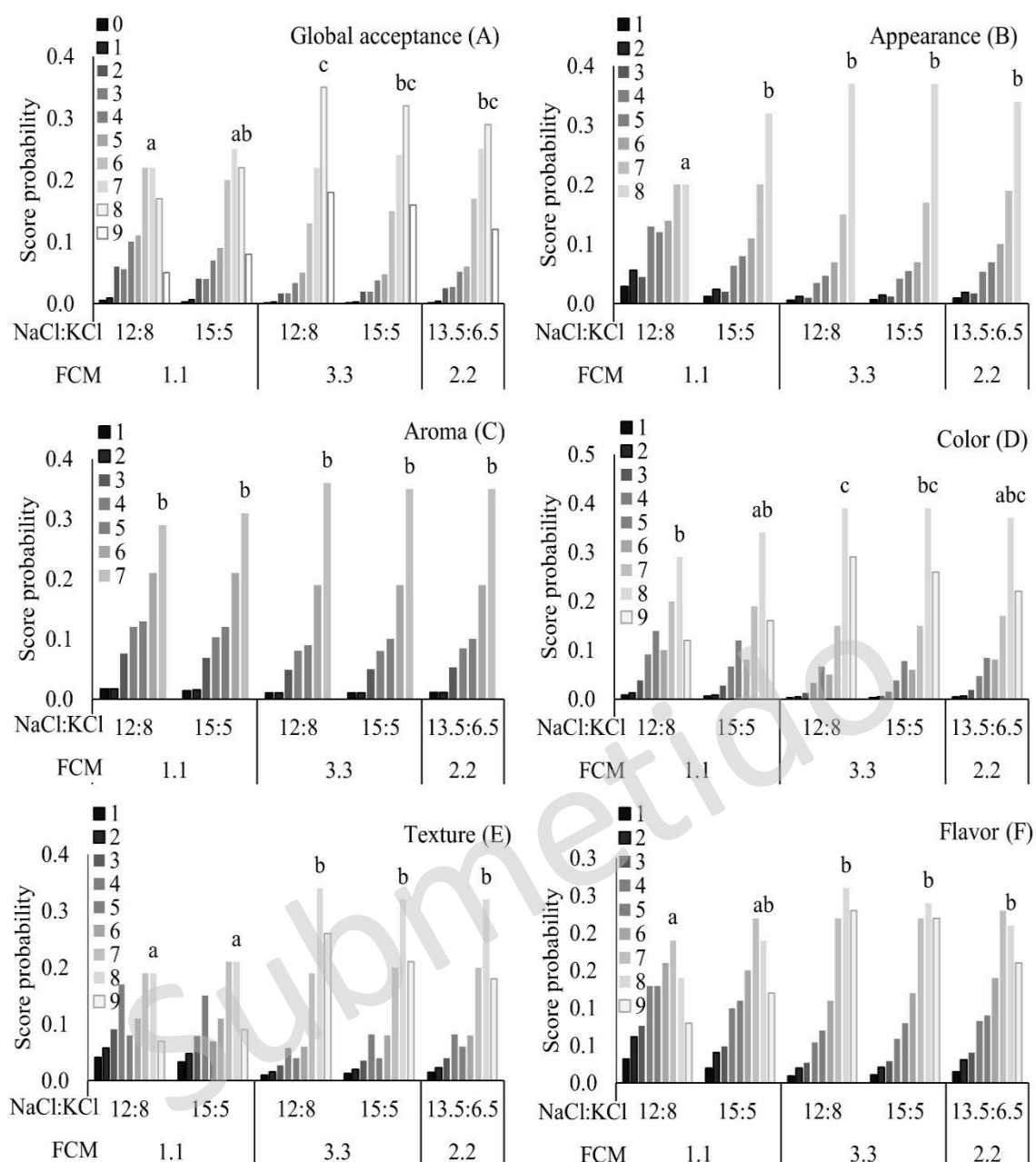


Figure 3 - Effect of milk-fat reduction [(FCM – Milk fat content (%)] and partial replacement of NaCl by KCl (NaCl:KCl ratio) on the sensory acceptability of the Reino cheese.

^{a,b,c}Means with different letters in the same column differ significantly (Tukey's Test, $P \leq 0.05$). S** - Variation of NaCl and KCl salts in brine at 19° Baumé.

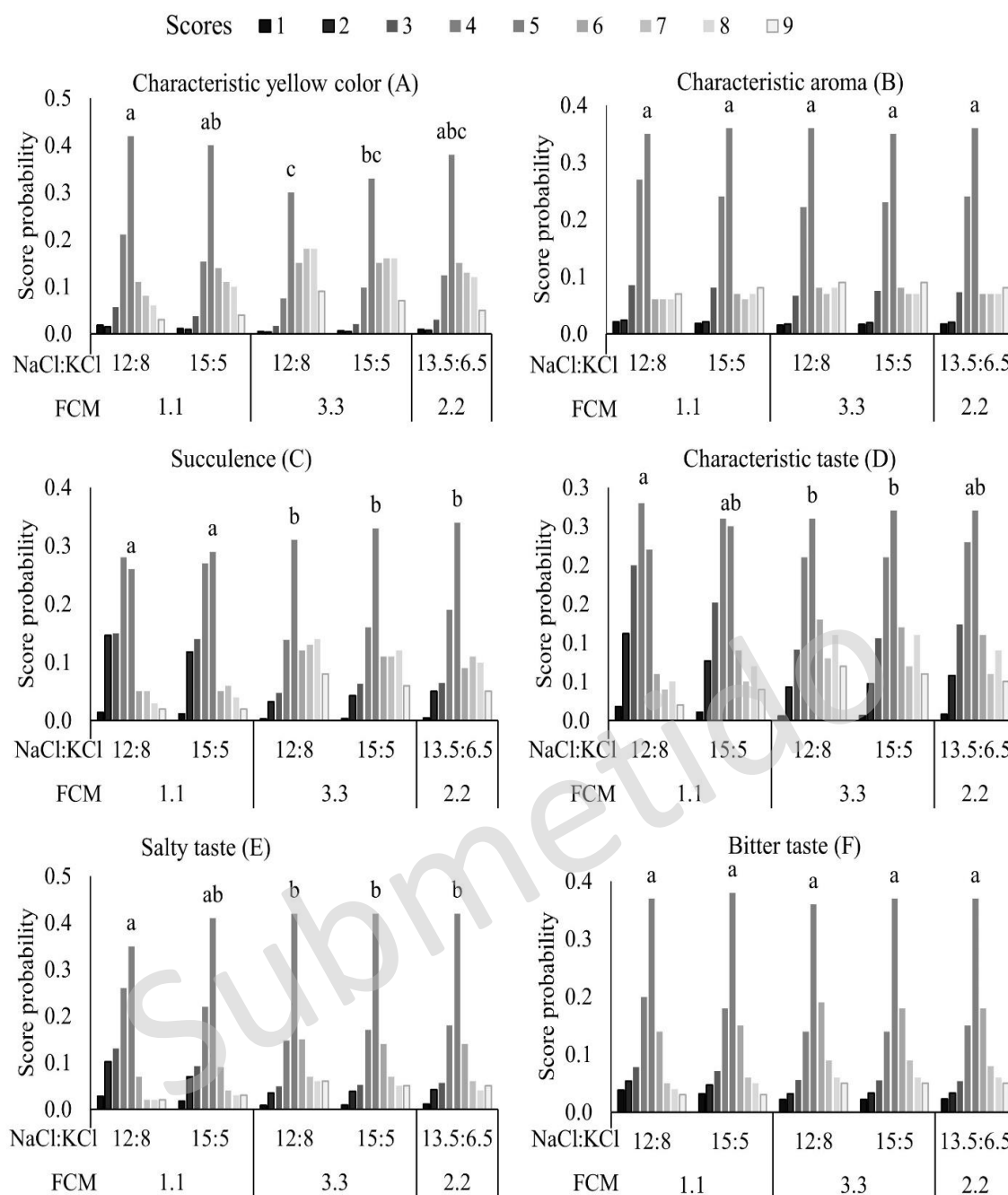


Figure 4 - Effect of milk-fat reduction [(FCM – Fat Content Milk (%)] and partial replacement of NaCl by KCl (NaCl:KCl ratio) on the sensory acceptability of the Reino cheese.

^{a,b,c} Means with different letters in a column differ significantly (Tukey's Test, $P \leq 0.05$). S** - Variation of NaCl and KCl salts in brine at 19° Baumé.

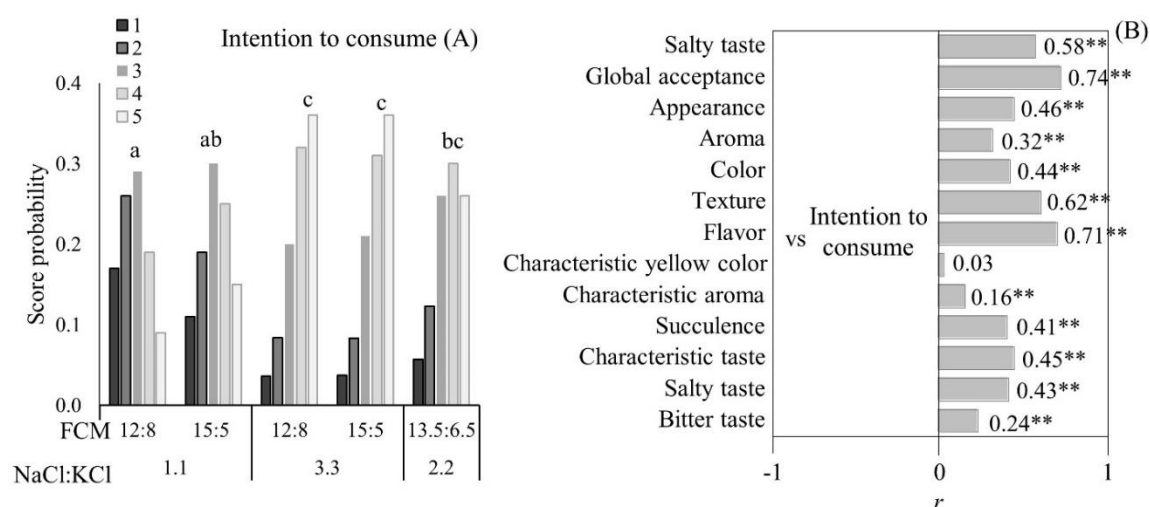


Figure 5 - Effect of milk-fat reduction [(FCM – Fat Content Milk (%)] and partial replacement of NaCl by KCl (NaCl:KCl ratio) on the intention for consumption of Reino cheese (A) and Spearman correlation for sensory acceptability by consumers' intention (B).

^{a,b,c} Means with different letters in a column differ significantly (Tukey's Test, $P \leq 0.05$). ^{S**} - Variation of NaCl and KCl salts in the brine at 19° Baumé.

CONCLUSÕES

Este trabalho apresenta a caracterização nutricional e sensorial do queijo Reino comercial e para atender os anseios dos consumidores foi elaborado e caracterizado queijo Reino com redução de gordura e substituição parcial de NaCl por KCl.

A pesquisa de mercado revelou que os consumidores buscam queijo Reino com redução de sódio e gordura, além do sabor mais suave requerido pelos consumidores mais jovens. Os resultados obtidos permitiram compreender a relação entre as características nutricionais e sensoriais dos queijos Reino com sua aceitação pelos consumidores. Neste contexto, a pesquisa contribuiu significativamente fornecendo uma escala de importantes parâmetros que são necessários para inovar o produto, mas mantendo determinadas características, típicas do queijo Reino.

Os resultados do queijo Reino com redução de gordura e substituição parcial de NaCl por KCl permitiram analisar as características nutricionais que resultaram em boa aceitação sensorial do produto. A formulação com teor de gordura no leite de 3.3% receberam escores elevados para avaliação global, aparência, aroma, cor, textura, sabor, coloração amarela característica, suculência, sabor característico e sabor salgado, mesmo quando a relação NaCl:KCl foi de 12:8, indicando que a substituição do NaCl por KCl na salmoura não deprecia a qualidade do queijo Reino se combinada com níveis elevados de gordura, além da redução superior a 25% o teor de sódio, comparado com o queijo comercial.

A redução do percentual de gordura no leite até 2.2% combinada com a substituição do NaCl por KCl na salmoura até 13.5:6.5 representa uma alternativa para obtenção de queijos Reino com médio teor de gordura, médios valores dos índices de aterogenicidade e trombogenicidade, menor concentração de Na e NaCl com redução superior a 25% de sódio, bem como qualidade sensorial satisfatória e elevada intenção de consumo. Nesse contexto, a pesquisa contribuiu com uma nova formulação de queijo Reino para atender os anseios dos consumidores por alimentos mais saudáveis e consequentemente ajudar a impulsionar o mercado de queijos maturados.

APÊNDICE

Apêndice A: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido da pesquisa de mercado

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado(a) Senhor(a),

Este trabalho é sobre pesquisa de mercado do queijo tipo Reino comercializado em João Pessoa - PB que está sendo desenvolvida pela pesquisadora Marília Cícera Gomes dos Santos, aluna do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal da Paraíba, sob a orientação da professora Dra. Haíssa Roberta Cardarelli.

Os objetivos do estudo são identificar o perfil do consumidor de queijo tipo Reino de João Pessoa - PB e caracterizar os hábitos do consumidor.

A finalidade deste trabalho é contribuir com informações sobre um alimento bastante apreciado na região Nordeste, mas pouco mencionado na literatura acadêmica. Para endossar o projeto serão realizadas análises físicas, químicas e sensoriais disponibilizando assim informações detalhadas a respeito das características nutricionais do queijo do Reino.

Solicitamos a sua colaboração na pesquisa de mercado, como também sua autorização para apresentar os resultados deste estudo em eventos da área de Ciência e Tecnologia de Alimentos e publicar em revista científica. Por ocasião da publicação dos resultados, seu nome será mantido em sigilo. Informamos que essa pesquisa pode oferecer algum incômodo aos consumidores.

Esclarecemos que sua participação no estudo é voluntária e, portanto, o(a) senhor(a) não é obrigado(a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pela pesquisadora. Caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum dano.

As pesquisadoras estarão a sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa.

Diante do exposto, declaro que fui devidamente esclarecido(a) e dou o meu consentimento para participar da pesquisa e para publicação dos resultados. Estou ciente que receberei uma cópia desse documento.

Assinatura do Participante da Pesquisa ou Responsável Legal

Contato da Pesquisadora Responsável:

Caso necessite de maiores informações sobre o presente estudo, favor ligar para a pesquisadora Marília Cícera Gomes dos Santos.

Endereço (Setor de Trabalho): Universidade Federal da Paraíba- Campus I, Castelo Branco, João Pessoa- PB, Brasil - CEP: 58051-900 (praça do Centro de Tecnologia, 1º andar – sala de estudos dos alunos do PPGCTA – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Telefone: (83) 32167269

Ou

Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, Hospital Universitário Lauro Wanderley - HULW - 4º andar. Campus I - Cidade Universitária - Bairro Castelo Branco. CEP: 58059-900 - João Pessoa- PB. Telefone (83) 3216. 7964

Atenciosamente,

Assinatura da Pesquisadora Responsável

Assinatura da Pesquisadora Participante

Apêndice B: Questionário pesquisa de mercado

ESTAMOS REALIZANDO UMA PESQUISA DE MERCADO PARA IDENTIFICAR O PERFIL DO CONSUMIDOR DE QUEIJO TIPO REINO (QUEIJO DO REINO)

1 Você reside em João Pessoa?		Qual bairro?
☐ sim ☐ não		_____
2 Gênero? ☐ masculino ☐ feminino		
3 Qual a sua faixa etária?		
☐ entre 18 e 21 anos	☐ entre 41 e 50 anos	
☐ entre 22 e 30 anos	☐ acima de 50 anos	
☐ entre 31 e 40 anos		
4 Qual seu estado civil?		
☐ solteiro(a)	☐ separado(a)/divorciado(a)	
☐ casado(a)	☐ viúvo(a)	
5 Qual o seu grau de escolaridade?		
☐ não estudou	☐ superior completo	
☐ fundamental incompleto	☐ pós-graduação andamento	
☐ fundamental completo	☐ pós-graduação	
☐ médio incompleto	☐ curso técnico	
☐ médio completo	☐ não sabe	
☐ superior andamento	☐ não quer responder	
6 Qual sua ocupação?		
☐ estudante	☐ do lar	
☐ estagiário	☐ empresário	
☐ funcionário público	☐ autônomo	
☐ funcionário empresa privada	☐ aposentado	
☐ profissional liberal	☐ outros	
7 Qual o número total de pessoas na sua residência (some todos os adultos e crianças que vivem na casa inclusive você): ☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5		
☐ mais de 5		
8 Possui poder de compra? ☐ sim ☐ não		
9 Qual sua renda familiar em salários mínimos (SM) mensal?		
☐ não sabe	☐ de 2 a 5 SM (entre R\$ 1.576,00 a R\$ 3.940,00)	
☐ não quer responder		
☐ sem rendimento	☐ de 5 a 10 SM (entre R\$ 3.940,00 a R\$ 7.880,00)	
☐ até 2 SM (até R\$ 1.576,00)	☐ de 10 a 15 SM (entre R\$ 7.880,00 a R\$ 11.820)	
	☐ de 15 SM (R\$ 11.820)	
	Observação: SM= salário(s) mínimo(s)	
10 Você consome queijo tipo Reino (queijo do Reino)?		
☐ Sim ☐ Não Se NÃO qual motivo?		
11 Qual(is) característica(s) você mais aprecia no queijo tipo Reino (queijo Reino)?		
☐ embalagem	☐ teor de gordura	
☐ cor	☐ textura	
☐ aroma	☐ outro: _____	
☐ sabor (característico)	*Pode marcar mais de uma resposta	

12 Com que frequência você compra queijo tipo Reino (queijo Reino)?

- | | |
|---|--|
| ☐ nunca comprei | ☐ mensalmente |
| ☐ uma vez por ano | ☐ semanalmente |
| ☐ duas vezes por ano | ☐ outros: _____ |
| ☐ três vezes por ano | |
-

13 Qual(is) melhor(es) momento(s) para consumir o queijo Reino?

- | | |
|---|---|
| ☐ café da manhã | ☐ nas festas de final de ano |
| ☐ almoço | ☐ a qualquer momento |
| ☐ jantar | ☐ outro: _____ |
| ☐ lanche | *Pode marcar mais de uma resposta |
| ☐ nas festividades juninas | |
-

14 Na compra de queijo tipo Reino, quais os parâmetros que você utiliza para decidir a compra?

- | | |
|--------------------------------------|--|
| ☐ embalagem | ☐ preço |
| ☐ qualidade | ☐ tradição da época |
| ☐ praticidade | ☐ outro: _____ |
| ☐ marca | *Pode marcar mais de uma resposta |
-

15 Qual alimento que melhor acompanha o queijo tipo Reino?

- | | |
|---|---------------------------------------|
| ☐ massas (pão, pizza, macarrão,...) | ☐ outro: _____ |
| ☐ doces (geleia, bolo, ...) | *Pode marcar mais de uma resposta |
| ☐ vinho | |
| ☐ não precisa de nenhum acompanhamento | |
-

16 Já comprou queijo tipo Reino que apresentou algum defeito ao abrir a embalagem?

- ☐ sim ☐ não (Se NÃO passar para 19º questão)
-

17 Se sim, qual(is) foi/foram o(s) defeito(s)?

- | | |
|---|---------------------------------------|
| ☐ textura firme | ☐ mofo |
| ☐ textura esfarelada (ressecada) | ☐ embalagem |
| ☐ sabor de ranço | ☐ outro: _____ |
| ☐ sabor pouco intenso | *Pode marcar mais de uma resposta |
| ☐ muita gordura | |
-

Apêndice C: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado (a) Senhor (a),

Esta pesquisa é sobre avaliação sensorial do queijo tipo Reino comercializado em João Pessoa - PB que está sendo desenvolvida pela pesquisadora Marília Cícera Gomes dos Santos, aluna do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal da Paraíba, sob a orientação da professora Dra. Haíssa Roberta Cardarelli.

Os objetivos do estudo são identificar o perfil do consumidor de queijo tipo Reino de João Pessoa - PB e caracterizar diferentes marcas deste queijo com relação aos parâmetros de qualidade físico-química e sensoriais.

A finalidade deste trabalho é contribuir com informações sobre um alimento bastante apreciado na região Nordeste, mas pouco mencionado na literatura acadêmica. Para endossar a pesquisa serão realizadas análises físicas, químicas e sensoriais disponibilizando assim informações detalhadas a respeito das características nutricionais, de opinião e atitudes dos consumidores em relação ao queijo tipo Reino.

Solicitamos a sua colaboração na análise sensorial, como também sua autorização para apresentar os resultados deste estudo em eventos da área de Ciência e Tecnologia de Alimentos e publicar em revista científica. Por ocasião da publicação dos resultados, seu nome será mantido em sigilo. Informamos que essa pesquisa pode oferecer incômodo, aos consumidores submetidos a dietas com restrição ao sódio, à gordura e/ou à lactose, sendo assim convidamos esses julgadores a não participem do teste sensorial.

Esclarecemos que sua participação no estudo é voluntária e, portanto, o (a) senhor (a) não é obrigado (a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pela pesquisadora. Caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum dano, nem haverá modificação na assistência que vem recebendo na Instituição.

As pesquisadoras estarão a sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa.

Diante do exposto, declaro que fui devidamente esclarecido (a) e dou o meu consentimento para participar da pesquisa e para publicação dos resultados. Estou ciente que receberei uma cópia desse documento.

Assinatura do Participante da Pesquisa ou Responsável Legal

Contato da Pesquisadora Responsável:

Caso necessite de maiores informações sobre o presente estudo, favor ligar para a pesquisadora Marília Cícera Gomes dos Santos.

Endereço (Setor de Trabalho): Universidade Federal da Paraíba- Campus I, Castelo Branco, João Pessoa- PB, Brasil - CEP: 58051-900 (praça do Centro de Tecnologia, 1º andar – sala de estudos dos alunos do PPGCTA – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos).

Telefone: (83) 32167269

Ou

Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, Hospital Universitário Lauro Wanderley - HULW - 4º andar. Campus I - Cidade Universitária - Bairro Castelo Branco. CEP: 58059-900 - João Pessoa- PB. Telefone (83) 3216.7964

Atenciosamente,

Assinatura da Pesquisadora Responsável

Assinatura da Pesquisadora Participante

Apêndice D: Ficha de Avaliação sensorial

Ficha de Avaliação

Nome: _____ Idade: _____

Gênero: Feminino () Masculino ()

1. Você está recebendo seis amostras de queijo tipo Reino, codificadas. Por favor, avalie-as da esquerda para direita segundo a escala hedônica abaixo, quanto aos atributos: AVALIAÇÃO GLOBAL, APARÊNCIA, AROMA, COR, TEXTURA e SABOR. Utilize o quadro de avaliação para pontuar suas notas.

Atenção: Entre uma amostra e outra, favor comer bolacha tipo água e sal e beber um pouco de água para que não haja interferência do sabor residual para as demais análises.

Escala hedônica de 9 pontos:

- 1 - Desgostei muitíssimo
- 2 - Desgostei muito
- 3 - Desgostei moderadamente
- 4 - Desgostei ligeiramente
- 5 - Não gostei e nem desgostei
- 6 - Gostei ligeiramente
- 7 - Gostei moderadamente
- 8 - Gostei muito
- 9 - Gostei muitíssimo

Quadro de avaliação:

[illegible]

2. Por favor, avalie da esquerda para direita utilizando a escala abaixo, para descrever o quanto você achou do produto em relação ao quesito SABOR SALGADO. Marque a posição da escala que melhor corresponda ao seu julgamento para o atributo em questão.

Atenção: Entre uma amostra e outra, favor comer bolacha tipo água e sal e beber um pouco de água para que não haja interferência do sabor residual para as demais análises.

Escala hedônica de 9 pontos:

- 1 - Extremamente menos que o ideal
- 2 - Muito menos que o ideal
- 3 - Moderadamente menos que o ideal
- 4 - Ligeiramente menos que o ideal
- 5 - Ideal
- 6 - Ligeiramente mais que o ideal
- 7 - Moderadamente mais que o ideal
- 8 - Muito mais que o ideal
- 9 - Extremamente mais que o ideal

[illegible]

3. Você consumiria este produto?

- 1- Certamente não consumiria
- 2- Provavelmente não consumiria
- 3- Talvez consumiria/ talvez não consumiria
- 4 - Provavelmente consumiria
- 5 - Certamente consumiria

[illegible]

Apêndice E: Ficha de Avaliação Sensorial do queijo Reino com redução de gordura e substituição parcial de NaCl por KCl

Ficha de Avaliação Sensorial

Nome: _____ Idade: _____

Gênero: Feminino () Masculino ()

1. Você está recebendo cinco amostras de queijo tipo Reino, codificadas. Por favor, avalie-as da esquerda para direita segundo a escala hedônica abaixo, quanto aos atributos: AVALIAÇÃO GLOBAL, APARÊNCIA, AROMA, COR, TEXTURA e SABOR. Utilize o quadro de avaliação para pontuar suas notas.

Atenção: Entre uma amostra e outra, favor comer bolacha tipo água e sal e beber um pouco de água para que não haja interferência do sabor residual para as demais análises.

Escala hedônica de 9 pontos:

- | |
|--------------------------------|
| 1 - Desgostei muitíssimo |
| 2 - Desgostei muito |
| 3 - Desgostei moderadamente |
| 4 - Desgostei ligeiramente |
| 5 - Não gostei e nem desgostei |
| 6 - Gostei ligeiramente |
| 7 - Gostei moderadamente |
| 8 - Gostei muito |
| 9 - Gostei muitíssimo |

Quadro de avaliação:

Amostra (Código)	Avaliação global (Pontuação)	Aparência (Pontuação)	Aroma (Pontuação)	Cor (Pontuação)	Textura (Pontuação)	Sabor (Pontuação)

2. Por favor, avalie da esquerda para direita utilizando a escala abaixo, para descrever o quanto você achou do produto em relação aos quesitos INTENSIDADE DA COR AMARELA, AROMA CARACTERISTICO, SUCULÊNCIA, SABOR CARACTERISTICO, SABOR SALGADO e SABOR AMARGO. Marque a posição da escala que melhor corresponda ao seu julgamento para o atributo em questão.

Atenção: Entre uma amostra e outra, favor comer bolacha tipo água e sal e beber um pouco de água para que não haja interferência do sabor residual para as demais análises.

Escala hedônica de 9 pontos:

- 1 - Extremamente menos que o ideal
- 2 - Muito menos que o ideal
- 3 - Moderadamente menos que o ideal
- 4 - Ligeiramente menos que o ideal
- 5 - Ideal
- 6 - Ligeiramente mais que o ideal
- 7 - Moderadamente mais que o ideal
- 8 - Muito mais que o ideal
- 9 - Extremamente mais que o ideal

Amostra (Código)	Intensidade da cor amarela (Pontuação)	Aroma característico (Pontuação)	Suculência (Pontuação)	Sabor característico (Pontuação)	Sabor Salgado (Pontuação)	Sabor Amargo (Pontuação)

3. Você consumiria este produto?

- 1 - Certamente não consumiria
- 2 - Provavelmente não consumiria
- 3 - Talvez consumiria/ talvez não consumiria
- 4 - Provavelmente consumiria
- 5 - Certamente consumiria

[illegible]

Apêndice F- TCLE queijo com substituição

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado (a) Senhor (a),

Esta pesquisa é sobre avaliação sensorial do queijo tipo Reino que está sendo desenvolvida pela pesquisadora Marília Cícera Gomes dos Santos Figueirêdo, aluna do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal da Paraíba, sob a orientação da professora Dra. Haíssa Roberta Cardarelli e está norteado pela Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde (CNS).

O objetivo do estudo é caracterizar diferentes formulações de queijo tipo Reino processado com diferentes concentrações no teor de gordura e de sódio. Para isto, será avaliada a qualidade do queijo por meio dos parâmetros físico-químicos, microbiológicos e sensorial. A finalidade deste trabalho é obter o perfil do produto após 60 dias da fabricação, com qualidade tecnológica e sensorial para o avaliador.

Solicitamos a sua colaboração na análise sensorial, como também sua autorização para apresentar os resultados deste estudo em eventos da área de Ciência e Tecnologia de Alimentos e publicar em revista científica. Por ocasião da publicação dos resultados, seu nome será mantido em sigilo. Informamos que essa pesquisa pode oferecer incômodo, aos consumidores submetidos a dietas com restrição ao sódio, à gordura e/ou à lactose, sendo assim convidamos esses julgadores a não participem do teste sensorial.

Esclarecemos que sua participação no estudo é voluntária e, portanto, o (a) senhor (a) não é obrigado (a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pela pesquisadora. Caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum dano, nem haverá modificação na assistência que vem recebendo na Instituição.

As pesquisadoras estarão a sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa.

Diante do exposto, declaro que fui devidamente esclarecido (a) e dou o meu consentimento para participar da pesquisa e para publicação dos resultados. Estou ciente que receberei uma cópia desse documento.

Assinatura do Participante da Pesquisa ou Responsável Legal

Contato da Pesquisadora Responsável:

Caso necessite de maiores informações sobre o presente estudo, favor ligar para a pesquisadora Marília Cícera Gomes dos Santos Figueirêdo.

Endereço (Setor de Trabalho): Universidade Federal da Paraíba- Campus I, Castelo Branco, João Pessoa- PB, Brasil - CEP: 58051-900 (praça do Centro de Tecnologia, 1º andar – sala de estudos dos alunos do PPGCTA – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos).

Telefone: (83) 32167269

Ou

Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba Campus I - Cidade Universitária - 1º Andar – CEP 58051-900 – João Pessoa/PB

☎ (83) 3216-7791 – E-mail: eticaccsufpb@hotmail.com

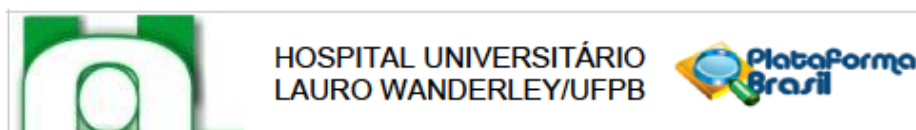
Atenciosamente,

Marília Cícera Gomes dos Santos Figueirêdo
Assinatura da Pesquisadora Responsável

Assinatura da Pesquisadora Participante

ANEXO

ANEXO A: CAAE no 45191115.4.0000.5183



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: PERFIL DO CONSUMIDOR E CARACTERIZAÇÃO DE DIFERENTES MARCAS DO QUEIJO TIPO REINO COMERCIALIZADAS EM JOÃO PESSOA- PB

Pesquisador: Marília Cícera Gomes dos Santos

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 45191115.4.0000.5183

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAIBA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

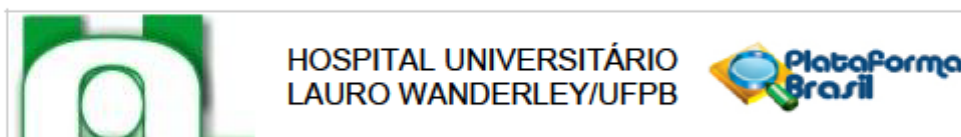
Número do Parecer: 1.798.417

Apresentação do Projeto:

Trata-se de uma Emenda(2) submetida pela pesquisadora responsável pelo estudo, cujo protocolo de pesquisa foi aprovado conforme parecer de nº1.199.746. É um projeto de tese vinculado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos da UFPB.

A presente Emenda tem como justificativa: Será incluída a Análise Descritiva Quantitativa- ADQ a fim de obter mais informações sobre o queijo tipo Reino e finalizar o estudo. ADQ é uma técnica de descrição sensorial muito utilizada na área de alimentos, pois permite o levantamento, a descrição e a quantificação dos atributos sensoriais detectáveis no produto, utilizando julgadores com alto grau de treinamento e análise estatística dos dados (STONE; SIDEL, 2004). Seguindo a metodologia de Stone e Sidel (1974); Faria e Yotsuyanagi (2002) as amostras comerciais com 45 e 90 dias de maturação serão servidas aos julgadores. A ADQ será realizada em cinco etapas, iniciando pelo recrutamento, seguindo as etapas de pré-seleção de candidatos, desenvolvimento de terminologia descritiva, seleção final dos provadores e avaliação final das amostras. Por se tratar de produtos comerciais não apresenta risco microbiológico. No entanto, consumidores submetidos a dietas com restrição ao sódio, à gordura e/ou à lactose não realizarão os testes, pois esses componentes estão presentes no queijo tipo Reino e pode gerar algum desconforto à saúde do julgador. Simultaneamente ao recrutamento os participantes assinarão o Termo de

Endereço: Hospital Universitário Lauro Wanderley - 2º andar - Campus I - UFPB.
 Bairro: Cidade Universitária CEP: 58.059-900
 UF: PB Município: JOAO PESSOA
 Telefone: (83)3216-7964 Fax: (83)3216-7522 E-mail: comitedeetica@hulw.ufpb.br



Continuação do Parecer: 1.798.417

/ Brochura Investigador	PLANO_TESE_ADQq.pdf	22:53:32	Gomes dos Santos	Aceito
Outros	Torre- QR.jpg	31/07/2015 21:09:08		Aceito
Outros	Oitizeiro- QR.jpg	31/07/2015 21:08:19		Aceito
Outros	Mangabeira I- QR.jpg	31/07/2015 21:07:43		Aceito
Outros	Manaíra- QR.jpg	31/07/2015 21:07:04		Aceito
Outros	Jaguaribe- QR.jpg	31/07/2015 21:06:36		Aceito
Outros	Cruz das Armas- QR.jpg	31/07/2015 21:06:05		Aceito
Outros	Bancários- QR.jpg	31/07/2015 21:05:38		Aceito
Outros	Aeroclube- QR.jpg	31/07/2015 21:05:05		Aceito
Outros	Colegiado.pdf	15/05/2015 10:47:56		Aceito
Outros	Sensorial.pdf	15/05/2015 10:46:30		Aceito
Folha de Rosto	Folha de rosto II.pdf	15/05/2015 10:42:49		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

JOAO PESSOA, 30 de Outubro de 2016

Assinado por:
MARIA ELIANE MOREIRA FREIRE
(Coordenador)

Endereço: Hospital Universitário Lauro Wanderley - 2º andar - Campus I - UFPB.
 Bairro: Cidade Universitária CEP: 58.059-900
 UF: PB Município: JOAO PESSOA
 Telefone: (83)3216-7964 Fax: (83)3216-7522 E-mail: comitedeetica@hulw.ufpb.br

ANEXO B: CAAE no 853794 18.4.0000.5188

UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: REDUÇÃO DE GORDURA E DE SÓDIO NO DESENVOLVIMENTO DE QUEIJO TIPO REINO- IMPLICAÇÕES TECNOLÓGICAS E SENSORIAIS

Pesquisador: Marília Cícera Gomes dos Santos Figueirêdo

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 85379418.4.0000.5188

Instituição Proponente: Universidade Federal da Paraíba

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.619.406

Apresentação do Projeto:

Trata-se de avaliar o projeto de pesquisa "REDUÇÃO DE GORDURA E DE SÓDIO NO DESENVOLVIMENTO DE QUEIJO TIPO REINO- IMPLICAÇÕES TECNOLÓGICAS E SENSORIAIS" da aluna Marília Cícera Gomes dos Santos Figueirêdo do Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia dos Alimentos do Centro de Tecnologia da Universidade Federal da Paraíba.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Obter respostas sobre as características físico-químicas, microbiológicas e sensorial do queijo tipo Reino, após redução de sódio e de gordura.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Gerar algum desconforto ao julgador.

Benefícios:

Após a realização da pesquisa será possível consumir queijo tipo Reino com características sensoriais próximas ao queijo de marcas comerciais, porém com menor teor de sódio e de gordura, contribuindo para a prevenção de algumas doenças, como hipertensão, obesidade e coronariana.

Endereço: UNIVERSITARIO S/N
Bairro: CASTELO BRANCO **CEP:** 58.051-900
UF: PB **Município:** JOAO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 **Fax:** (83)3216-7791 **E-mail:** comitedeetica@ccs.ufpb.br

**UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA**



Continuação do Parecer: 2.619.406

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1090773.pdf	26/03/2018 11:16:48		Aceito
Outros	Metodologia_de_sensorial.pdf	26/03/2018 11:16:21	Marília Cícera Gomes dos Santos Figueirêdo	Aceito
Outros	Projeto_Marília_Figueiredo_Metodologia_de_sensorial.pdf	26/03/2018 11:15:52	Marília Cícera Gomes dos Santos Figueirêdo	Aceito
Outros	Certidao_do_PPGCTA.pdf	26/03/2018 11:14:56	Marília Cícera Gomes dos Santos Figueirêdo	Aceito
Orçamento	Orcamento.pdf	09/03/2018 13:43:50	Marília Cícera Gomes dos Santos Figueirêdo	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Sensorial.pdf	09/03/2018 13:43:34	Marília Cícera Gomes dos Santos Figueirêdo	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_de_pesquisadores.pdf	09/03/2018 13:43:17	Marília Cícera Gomes dos Santos Figueirêdo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Anexo_5.pdf	09/03/2018 13:42:57	Marília Cícera Gomes dos Santos Figueirêdo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Anexo_2.pdf	09/03/2018 13:42:46	Marília Cícera Gomes dos Santos Figueirêdo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Marília_Figueiredo.pdf	09/03/2018 13:42:30	Marília Cícera Gomes dos Santos Figueirêdo	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	09/03/2018 13:42:07	Marília Cícera Gomes dos Santos Figueirêdo	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto_.docx	09/03/2018 13:41:41	Marília Cícera Gomes dos Santos Figueirêdo	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: UNIVERSITARIO S/N
 Bairro: CASTELO BRANCO CEP: 58.051-900
 UF: PB Município: JOAO PESSOA
 Telefone: (83)3216-7791 Fax: (83)3216-7791 E-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br

ANEXO C- Patente no do processo: BR 10 2018 073532 2



14/11/2018 870180151666
15:14
29409161812063694

**Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de
Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT**

Número do Processo: BR 10 2018 073532 2

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAIBA

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 24098477000110

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Cidade Universitária

Cidade: João Pessoa

Estado: PB

CEP: 58059-900

País: Brasil

Telefone: (83) 32167558

Fax:

Email: inova@reitoria.ufpb.br

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 14/11/2018 às 15:14, Petição 870180151666

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de **PROCESSO DE OBTENÇÃO DE QUEIJO TIPO REINO COM**

Utilidade (54): **REDUÇÃO DE SÓDIO E GORDURA E ADIÇÃO DE
CONSERVANTE NATURAL**

Resumo: A presente invenção de fabricação de queijo tipo Reino com redução de sódio e gordura e adição de conservante natural obtido através da redução no teor de gordura do leite(1) e salga em salmoura(13) com imersão em solução antifúngica(14) e em condições de secagem(15) e maturação diferenciadas(16) resulta em um produto com características de sabor mais suave, textura mais macia aceitos pelos consumidores. Além disso, o queijo apresenta características nutricionais mais favoráveis à saúde, devido à redução de ingredientes (sódio e gordura) que podem estar relacionados à maior incidência de doenças degenerativas não imunes. Não possui conservantes sintéticos potencialmente prejudiciais à saúde e emprega conservante natural. A maturação dentro da embalagem previne sua contaminação e favorece a qualidade e estabilidade para comercialização.

Figura a publicar: 1

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 14/11/2018 às 15:14, Petição 870180151666

ANEXO D- Certificado de Revisão da tradução- Inglês artigo 1

Carlos Augusto Pantoni - Tradutor Português - Inglês - RG 12.851.609-4

CERTIFICATE OF TRANSLATION REVIEW

I, **Carlos Augusto Pantoni**, am competent to translate from Portuguese into English and certify that I have reviewed the original Portuguese-to-English translation of the manuscript entitled *"Market research, sensory profile and nutritional characterization of commercial Reino Cheese"*, making it true and accurate to the best of my abilities.



Carlos Augusto Pantoni
B.A. in Portuguese, English and Literature
I.D. 12.851.609-4

Date:

August 28, 2019

Translator's address:

Av. Rua Tibiriçá, 1094 - Apto. 503
14010-190 - Ribeirão Preto - SP
Brasil

Translator's telephone number:

+55 16 99259 4715

ANEXO E- Comprovante da submissão do artigo 1

Confirmação de submissão

Title: Market research, sensory analysis and nutritional characterization of commercial Reino cheese

Article Type: Research Article

Dear Dr. Cardarelli

We have received your article

Title: "Market research, sensory analysis and nutritional characterization of commercial Reino cheese"

Article Type: Research Article

for consideration for publication in the
International Dairy Journal.

Your manuscript will be given a reference number once an editor has been assigned.

To track the status of your paper, please do the following:

1. Go to this URL: <https://www.editorialmanager.com/inda/>

2. Enter these login details:

Your username is: hrcarda@gmail.com

If you need to retrieve password details, please go to:
http://ees.elsevier.com/inda/automail_query.asp

3. Click [Author Login]

This takes you to the Author Main Menu.

4. Click [Submissions Being Processed]

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Elsevier Editorial System

International Dairy Journal

Please note that the editorial process varies considerably from journal to journal. To view a sample editorial process, please click here:

http://ees.elsevier.com/eeshelp/sample_editorial_process.pdf

For further assistance, please visit our customer support site

at <http://help.elsevier.com/app/answers/list/p/7923>. Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions and learn more about EES via interactive tutorials. You will also find our 24/7 support contact details should you need any further assistance from one of our customer support representatives

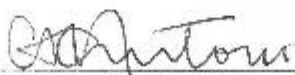
In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time.

ANEXO F- Certificado de Revisão da tradução - Inglês artigo 2

Carlos Augusto Pantoni - Tradutor Português - Inglês - RG 12.851.609-4

CERTIFICATE OF TRANSLATION REVIEW

I, **Carlos Augusto Pantoni**, am competent to translate from Portuguese into English and certify that I have reviewed the original Portuguese-to-English translation of the manuscript entitled "*Nutritional and sensory quality of Reino cheese with fat reduction and partial replacement of NaCl by KCl in brine*", making it true and accurate to the best of my abilities.



Carlos Augusto Pantoni
B.A. in Portuguese, English and Literature
I.D. 12.851.609-4

Date:

September 14, 2019

Translator's address:

Av. Rua Tibiriçá, 1094 - Apto. 503
14010-190 - Ribeirão Preto - SP
Brasil

Translator's telephone number:

+55 16 99259 4715

ANEXO G: Comprovante da submissão do artigo 2

18/09/2019

Email – Marília Santos – Outlook

Fwd: Submission Confirmation**Haíssa Roberta Cardarelli**

Ter, 17/09/2019 14:10

Para: Marília <marilia_santos85@hotmail.com>

----- Forwarded message -----

De: International Dairy Journal <em@editorialmanager.com>**Date:** ter, 17 de set de 2019 às 14:09**Subject:** Submission Confirmation**To:** Haissa Roberta Cardarelli <hrcarda@gmail.com>

Title: Nutritional and sensory quality of Reino cheese with fat reduction and partial replacement of NaCl by KCl in brine
Article Type: Research Article

Dear Dr. Cardarelli

We have received your article

Title: "Nutritional and sensory quality of Reino cheese with fat reduction and partial replacement of NaCl by KCl in brine"
Article Type: Research Article

for consideration for publication in the
 International Dairy Journal.

Your manuscript will be given a reference number once an editor has been assigned.

To track the status of your paper, please do the following:

1. Go to this URL: <https://www.editorialmanager.com/inda/>
2. Enter these login details:
 Your username is: hrcarda@gmail.com
 If you need to retrieve password details, please go to:
http://ees.elsevier.com/inda/automail_query.asp
3. Click [Author Login]
 This takes you to the Author Main Menu.
4. Click [Submissions Being Processed]

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,