



Instituto Politécnico
de Castelo Branco
Escola Superior
Agrária

Caracterização do Queijo de Mistura com Adição de Orégãos

Mestrado em Inovação e Qualidade na Produção Alimentar

Paula Cristina Matos Guterres

Orientadores

Luis Pedro Mota Pinto de Andrade

Laura Santiago

dezembro de 2013



Instituto Politécnico
de Castelo Branco
Escola Superior
Agrária

Caracterização do Queijo de Mistura com Adição de Orégãos

Paula Cristina Matos Guterres

Orientadores

Luis Pedro Mota Pinto de Andrade

Laura Santiago

Dissertação de mestrado apresentado à Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Inovação e Qualidade na Produção Alimentar, realizado sob a orientação científica Doutor Luís Pedro Mota Pinto de Andrade, do Instituto Politécnico de Castelo Branco

dezembro de 2013

Agradecimentos

Após a conclusão do trabalho, e feita uma reflexão mais aprofundada sobre o que ficou para trás, observo que houve pessoas que contribuíram generosamente para a elaboração deste trabalho. A elas gostaria de dedicar algumas palavras de agradecimento.

Um agradecimento especial à Dra. Cristina Miguel, pelo apoio e disponibilidade demonstrados durante a realização do estágio, não só no acompanhamento na realização dos parâmetros microbiológicos e na análise sensorial como também na dissertação da tese. Sem a sua ajuda seria muito mais difícil a conclusão do trabalho;

Ao Dr. Luís Pedro Pinto de Andrade, pela confiança, ensinamentos e motivação transmitida e por me ter dado a oportunidade de realizar o trabalho prático no Centro de Apoio Tecnológico Agroalimentar;

Ao Dr. Paulo Antunes pela disponibilidade e acompanhamento na realização das determinações físico-químicas.

À Mafalda Resende pela ajuda prestada na realização das determinações físico-químicas e na realização da análise sensorial.

À engenheira Laura Santiago pela disponibilidade que sempre demonstrou ao longo da realização do trabalho cuja sua ajuda foi imprescindível à realização do mesmo;

À minha mãe, pela força com que me ensinou a lutar durante toda a minha vida e a quem devo tudo o que sou. A ela agradeço tudo o que me ensinou;

Aos meus amigos, por todo o apoio, paciência e amizade que sempre manifestaram para comigo.

Resumo

Para efeitos de diversificação do sabor ou apresentação têm sido fabricados queijos com adição de frutas, ervas, especiarias, entre outros condimentos. Neste trabalho fez-se a caracterização do queijo de mistura com orégãos e a sua comparação com o queijo de mistura tradicional. Esta caracterização baseou-se na avaliação de parâmetros microbiológicos, físico-químicos e sensoriais (painel de consumidores) realizados após 42 dias de cura.

Relativamente aos parâmetros microbiológicos os grupos de microrganismos avaliados foram: bactérias do ácido láctico (LAB), coliformes totais (TC), *Staphylococcus aureus* (STA), *Escherichia coli* (EC), Microrganismos aeróbios a 30°C (TVC), Bolores e Leveduras (YM) e *Enterobactériaceae* (EB). Foram encontradas cargas microbianas semelhantes de EB e YM (aproximadamente 6 log ufc). No entanto verifica-se que a adição de orégãos no queijo leva a um aumento das contagens de TC, EC e STA. Este facto deve-se provavelmente à qualidade microbiológica das ervas.

No que respeita aos parâmetros físico-químicos, os resultados obtidos mostram que o teor de gordura (46,46%) é superior no queijo de mistura face ao queijo de mistura com orégãos (42,53%) havendo diferenças significativas entre os dois tipos de queijo. Por outro lado, o queijo de mistura com orégãos apresenta um teor de proteínas superior (39,49% face a 35,77%). O índice de peróxidos é também superior neste queijo (1 mEq. O₂ activo/kg óleo) sendo que no queijo de mistura o valor é de 0 mEq. O₂ activo/kg óleo. Este facto leva a considerar que a adição de ervas aromáticas estimula a oxidação lipídica provocando a rancificação do queijo.

Na avaliação do produto por consumidores estes preferiram o queijo de mistura (58% face a 42%). Estes resultados são corroborados pelas pontuações atribuídas aos descritores Apreciação global, Aspeto e Cor que foram superiores no queijo de mistura (variando entre 7,37 e 7,63) relativamente ao queijo de mistura com orégãos, variando entre 6,50 e 6,72. Apesar destes resultados, podemos constatar que este produto inovador pode ocupar o seu lugar no mercado, pois as pontuações atribuídas aos descritores avaliados foram bastante elevadas (superior a 6).

Palavras-chave: Queijo de mistura, orégãos, parâmetros microbiológicos, Parâmetros físico-químicos e prova de consumidores

Abstract

For taste or appearance diversification cheeses have been manufactured with added fruits, herbs, spices and other condiments. This work performed the characterization of mixed cheese with oregano and its comparison with the simple mixture cheese. This characterization is based on the evaluation of microbiological, physicochemical and sensory parameters (consumer panel) performed after 42 days of ripening time.

Regarding microbiological parameters the following groups of microorganisms analysed were: Lactic Acid Bacteria (LAB), total coliforms (TC), *Staphylococcus aureus* (STA), *Escherichia coli* (EC), Aerobic microorganisms at 30°C (TVC), Yeast and Molds (YM) and *Enterobacteriaceae* (EB). Were found similar microbial loads of EB and YM (approximately 6 log cfu). However it appears that the addition of oregano in cheese lead to an increase of TC, EC and STA. This is probably due to the microbiological quality of the herbs.

Regarding physicochemical parameters, the results show that the fat content is higher in the mixture cheese (46.46%) over the mixture cheese with oregano (42.53%). Moreover, the mixture cheese with oregano has a higher protein content (39.49% versus 35.77%). The peroxide is also higher in this cheese (1 mEq. active O₂ / kg oil) and in the mixture cheese the value is 0 mEq. O₂ active / kg oil. This leads to the conclusion that the addition of herbs stimulate lipid oxidation causing cheese rancidity.

In product evaluation, consumers preferred the mixture cheese (58% versus 42%). These results are corroborated by the scores attributed to global descriptors, Global appreciation, Aspect and Color that were greater in mixture cheese (ranging between 7.37 and 7.63) relative to the mixture cheese with oregano, varying between 6.50 and 6.72 . Despite these results, we note that this innovative product can take its place in the market because the scores assigned to the descriptors evaluated were very high (greater than 6).

Keywords: mixed cheese, oregano, microbiological evaluation, physicochemical evaluation, testing with consumers

Índice Geral

1.Introdução e Objetivos.....	1
2.Revisão Bibliográfica	2
2.1. Matéria-prima – Leite.....	2
2.2. Queijo.....	3
2.3. Queijos Tradicionais Portugueses.....	4
2.4. Processo de Fabrico	7
2.5. Ervas Aromáticas	9
2.6. Parâmetros microbiológicas	9
2.7. Parâmetros Físico-Químicos	16
2.8. Prova de consumidores.....	19
2.9. Inovação nos queijos tradicionais.....	22
3.Material e Métodos.....	24
3.1. Matéria-Prima	27
3.2. Esquema de produção de queijinhos de orégãos	27
3.3. Determinações Microbiológicas.....	30
3.3.1. Microrganismos indicadores.....	30
3.3.2. Microrganismos Patogénicos	30
3.4.Determinações Físico-químicas	32
3.5. Prova de consumidores.....	34
3.6. Análise Estatística.....	36
4.Resultados e discussão	36
4.1. Matéria-prima	36
4.2.Queijos com zero dias de tempo de cura.....	38
4.3.Queijo em fim de cura	40
5.Considerações finais	49
Referencias Bibliográficas.....	51
Anexos	57
Anexo I – Poster, Microbiological Profile of Artesanal Cheese Prepared From Raw Milk With Oregano Herbs.....	59
Anexo II – Ficha Utilizada na Prova de Classificação Por Pares.....	63
Anexo III – Ficha de Avaliação dos Atributos do Queijo Sem Orégãos.....	67
Anexo V – Questões Abertas Relativas aos Atributos do Queijo.....	73

Índice de Figuras

Figura 1 - Agro-indústrias com e sem inovação, em 2006, em Portugal continental (Cruz et. al. 2012).....	23
Figura 2 - Parâmetros estudados no leite utilizado para produção de queijos.....	25
Figura 3 - Parâmetros estudados no queijo antes de entrar na câmara de maturação.	26
Figura 4 - parâmetros estudados nos queijos em fim de cura.	26
Figura 5 - Diagrama de fabrico do queijo de mistura curado.... Erro! Marcador não definido.	
Figura 6 - TEMPO.....	30
Figura 7 - TEMPO (reader).....	30
Figura 8 - Mini VIDAS para pesquisa de microrganismos patogénicos.....	31
Figura 9 - Foodscan – equipamento automatizada para determinação físico-química de alimentos.	32
Figura 10 - Laboratório de análise sensorial: A – sala de preparação de amostras; B – sala de provas.	36
Figura 11 - Parâmetros microbiológicos do queijo antes de entrar na câmara de maturação.	40

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Comparação da composição físico-química de vários tipos de leite (Adaptado de: Alfa-laval (Citado por: Vieiros 2005)).	3
Tabela 2 - Características microbiológicas de alguns queijos tradicionais Portugueses (Adaptado de Reis e Malcata, 2011).	5
Tabela 3 - Características físico-químicas de queijos tradicionais portugueses feitos com leite de mistura (ovelha e cabra) e com coalho animal.	6
Tabela 4 - N. ^o de bolores e levedura no leite cru (log ₁₀ ufc/g) e no queijo (log ₁₀ ufc/g) (Adaptado de Torkar & Vengust 2008).	13
Tabela 5 - Avaliação de coliformes totais presentes no queijo de coalho do estado de Rio Grande do Norte (Adaptado de Feitosa et. al. 2003).	13
Tabela 6 - quantidades de ácidos gordos (mg/kg) presentes em queijos feitos com diferentes tipos de leite (Mallatou <i>et al.</i> 2003).	19
Tabela 7 - Vantagens e desvantagem dos diferentes locais de realização da prova de consumidores (Hersleth <i>et al.</i> , 2004).	21
Tabela 8 - Número de empresas do sector agro-industrial que introduziram produtos novos para o mercado ou para a empresa (Cruz <i>et al.</i> 2010).	24
Tabela 9 - Parâmetros microbiológicos relativos ao leite de cabra e de ovelha.	37
Tabela 10 - Parâmetros físico-químicos dos tipos de leite para a elaboração do queijo.	38
Tabela 11 - Contagem de <i>Staphylococcus aureus</i> nos dois tipos de queijo e interpretação dos resultados.	39
Tabela 12 - Parâmetros microbiológicos do queijo com 42 dias de cura (log ₁₀ UFC/g).	40
Tabela 13 - parâmetros físico-químicos do queijo de mistura e do queijo de mistura com orégãos.	43
Tabela 14 - média dos ácidos gordos presentes em cada tipo de queijo.	46
Tabela 15 - pontuação atribuída (média ± DP) aos diferentes atributos do queijo.	47

Abreviaturas

CATAA – Centro de apoio tecnológico agroalimentar

CCS – Contagem de células somáticas

DOP – Denominação de origem protegida

EB – *Enterobacteriaceae*

ES – Extrato Seco

E. coli – *Eschericia coli*

HC – Hidratos de Carbono

IMG – Isento de matéria Gorda

IP – Índice de peróxidos

LAB – Bactérias do Ácido Lático

NaCl – Cloreto de Sódio

STA – *Staphylococcus aureus*

TC – Coliformes totais

TVC – Microrganismos aeróbios a 30 °C

YM – Bolores e leveduras

1. Introdução e Objetivos

Com o objetivo de dar continuidade à atividade do fabrico de Queijo tradicional realizada pelos seus pais e avós, Henrique Santiago Criou a empresa “Henrique Santiago, Lda.” há 20 anos. Esta está sediada em Castelo Branco e conta atualmente com 4 colaboradores. Tem como principal atividade a produção de queijo e como atividade secundária a produção de requeijão.

O queijo é um dos mais antigos alimentos preparados que a história da humanidade regista. A arte do fabrico do queijo teve o seu início num passado remotíssimo, milhares de anos antes do nascimento de Cristo. Os egípcios estão entre os primeiros povos que cuidaram dos animais e tiveram, no leite e no queijo, fonte importante da sua alimentação (Veiga, 2012).

O fabrico de queijo é, na sua essência, um processo que visa a conservação dos componentes do leite, um produto alimentar facilmente perecível, por períodos mais ou menos longos, de forma alterada ou modificada, fazendo uso do contributo de diferentes meios de conservação, como a desidratação, a acidificação, aspetos que compõem, no seu conjunto, aquilo que se designa por tecnologia de fabrico (Martins & Vasconcelos, 2003).

A caracterização dos queijos tradicionais é muito importante para a proteção da diversidade da tradição e para a criação de base de dados para novas pesquisas de qualidade e controlo uma vez que é consensual que atualmente é necessário produzir produtos de alta qualidade (Ercan *et al.*, 2011).

No entanto, paralelamente aos novos negócios, ao artesanato e às atividades turísticas, as estratégias de diversificação das economias rurais e dos seus produtos têm vindo a colocar uma grande ênfase na produção agroalimentar de qualidade (Cavaco, 1995)

As ervas aromáticas e especiarias, vegetais e outros condimentos são essencialmente agentes aromáticos que são adicionados ao queijo para diversificar o sabor do queijo para fins comerciais. Estes aditivos também conferem cor ao queijo melhorando, assim, a sua apresentação e capacidade de atração para os consumidores. As ervas aromáticas devem ser de excelente qualidade microbiológica não devendo introduzir microrganismos indesejáveis no queijo para influenciar o seu fundo desejável e sabor único ao queijo (Hayaloglu & Farkye, 2011).

O objetivo geral do presente trabalho prende-se com a caracterização e análise comparativa dos queijos de mistura (ovelha e cabra) e dos queijinhos de orégãos.

Os objetivos específicos do trabalho estão indicados abaixo:

- Caracterização microbiológica dos dois tipos de queijo e principais diferenças que ocorrem a este nível;

- Caracterização físico-química, dos dois tipos de queijo e análise das principais diferenças entre eles;
- Avaliação sensorial dos dois tipos de queijo de forma a averiguar quais os aspetos relevantes de cada um deles e a respetiva preferência do consumidor.

2.Revisão Bibliográfica

2.1. Matéria-prima - Leite

O leite produzido por pequenos ruminantes, in estreme ou de mistura, sem ter sofrido qualquer tratamento térmico, isto é, leite cru, é a matéria-prima utilizada no fabrico dos mais afamados queijos tradicionais. Este é porventura, o facto de maior relevância para este tipo de produtos, quer como fator da qualidade, quer como principal fonte de problemas para o produto (Martins & Vasconcelos, 2003).

O leite cru, matéria-prima comum a todos os queijos tradicionais portugueses com Denominação de Origem Protegida, é considerado como o representante da grande maioria dos fatores da tipicidade do queijo (Martins & Vasconcelos, 2003)

Nos países ocidentais aproximadamente 40% do leite (vaca, ovelha e cabra) produzido destina-se a consumo como bebida. O remanescente é transformado pela indústria leiteira em milhares de produtos. Este é, provavelmente, o sector que maior diversidade e flexibilidade apresenta dentro da indústria alimentar. As potencialidades de processamento do leite residem nas propriedades químicas e físicas dos seus componentes (Fox, 2000).

Qualquer que seja a sua origem, o leite é composto pelos mesmos constituintes maioritários, variando apenas a percentagem de cada um deles, como se pode verificar na tabela 1.

Tabela 1 - Comparação da composição físico-química de vários tipos de leite (Adaptado de: Alfa-laval, 1990).

	Ovelha	Vaca	Cabra
Matéria Seca (%)	17,4 – 18,9	10,5 – 14,3	11,9 – 14,0
Gordura (%)	6,0 – 7,5	2,8 – 4,8	4,1 – 4,5
Alb. Glob. (%)	0,9 – 1,1	0,3 – 0,8	0,4 – 1,0
Caseína (%)	4,3-4,6	2,5-3,6	2,5-3,3
Lactose (%)	4,3-4,8	4,2-5,0	4,1-4,4
Cinzas (%)	0,9	0,7-0,9	0,8
Cálcio (mg/l)	2030	1360	-
Sódio (mg/l)	360	460	-
Vit. A (mg/l)	0,5	0,3	-
Vit. E (mg/l)	15,8	7	-
Vit. C (mg/l)	40,0	22	-
Kcal/100g	113	73	77

2.2. Queijo

De acordo com o *Codex Alimentarius*, o queijo é um produto maturado ou não maturado, de pasta extra-dura, dura, semi-dura ou mole, podendo ser revestido e no qual a relação proteína/caseína do soro não excede a do leite. Pode ser obtido por coagulação total ou parcial da proteína do leite total ou parcialmente desnatado, nata, soro ou leitelho, ou de qualquer combinação destes, através da ação de coalho ou de outros agentes coagulantes apropriados, drenando parcialmente o soro resultante da coagulação, respeitando o princípio de que a elaboração de queijo resulta de uma concentração de proteína láctea. O queijo também pode ser obtido por outras técnicas de processamento resultando num produto final com características semelhantes às de um produto obtido por coagulação da forma acima definida (Codex Standard 283, 1978).

As características do queijo resultam de um conjunto de ações físicas, químicas e bioquímicas, exercidas sobre o leite e os seus componentes, por via de diversos fatores de transformação e agentes químicos e biológicos, nativos do leite, adquiridos ao longo do ciclo de transformação, ou ainda adicionados ao longo do processo de fabrico. As características do queijo refletem-se na sua qualidade sendo que, para

alguns, o aspeto é a sua característica mais importante (Martins & Vasconcelos, 2003).

No caso dos produtos tradicionais, a qualidade está intimamente ligada à riqueza e diversidade sensorial, difícil de traduzir por palavras mas que um apreciador consegue "sentir" e "desfrutar", embora, na conjuntura atual, os aspetos relacionados com a segurança alimentar não possam, também neste caso, deixar de ser considerados (Martins & Vasconcelos, 2003).

2.3. Queijos Tradicionais Portugueses

Em Portugal, a designação de alguns produtos alimentares representam uma região, as suas gentes e, frequentemente, um modo característico de produção. Nos últimos anos, tem-se registado um interesse crescente, em termos científicos e tecnológicos, por produtos alimentares tradicionais laborados de forma artesanal, devido, por um lado, às características organolépticas únicas desses produtos, e, por outro, à dificuldade em imitá-los ao nível da produção em grande escala como é o caso de diversos queijos feitos com leite cru de pequenos ruminantes (Reis *et al.* s.d.).

O regulamento (CE) nº 509 de 2006 define "tradicional" como sendo de uso comprovado no mercado comunitário por um período que mostre a transmissão entre gerações, ou seja, pelo menos 25 anos.

O regulamento (CE) 510 de 2006 define «Denominação de origem»: o nome de uma região, de um local determinado ou, em casos excecionais, de um país, que serve para designar um produto agrícola ou um género alimentício:

- Originário dessa região, desse local determinado ou desse país,
- Cuja qualidade ou características se devem essencial ou exclusivamente a um meio geográfico específico, incluindo os fatores naturais e humanos, e
- Cuja produção, transformação e laboração ocorrem na área geográfica delimitada.

Para lhes ser atribuída a denominação de origem protegida (DOP), o fabrico de queijos de ovelha e de cabra tornam-se estritamente regulamentados a nível nacional e europeu. Para dar suporte a este tipo de proteção legal em Portugal e impor altos padrões de qualidade de processo do produto têm sido desenvolvidas algumas pesquisas nas últimas décadas englobando queijos DOP. Estes são ainda obtidos por métodos tradicionais bem estabelecidos sendo que os queijos mais procurados são os queijos feitos com leite de ovelha como por exemplo o queijo Serra da Estrela, Serpa, Azeitão e de Castelo Branco. No entanto, já existem muitos queijos feitos com leite de cabra ou de mistura com o leite de ovelha (Reis & Malcata, 2011).

Todos os queijos apresentam características únicas associadas ao modo artesanal de fabrico e cura. Apesar das várias diferenças que os distinguem, os queijos apresentam alguns aspetos tecnológicos em comum incluindo um conjunto de passos

fundamentais: coagulação (coalho animal ou vegetal), dessoramento (por meio do corte do coalho, trabalhando a coalhada e drenagem do soro de leite), a moldagem, a prensagem e a salga. Embora a textura e a qualidade dos queijos sejam fortemente determinadas pelas etapas anteriores, é durante a maturação que se desenvolvem as características da textura e do sabor levando desta forma à variabilidade do queijo (Reis & Malcata, 2011).

Aspetos microbiológicos do queijo tradicional

As características microbianas dos queijos tradicionais portugueses são tipicamente diversas uns dos outros mas consistentemente elevadas uma vez que são fabricados a partir de leite cru. Na tabela 2 está representada parte da flora microbiana normalmente presente no queijo feito com leite cru nomeadamente, *Enterobacteriaceae* (EB), bactérias do ácido láctico (LAB), bolores e leveduras (YM) e *Staphylococcus aureus* (STA), bem como as contagens destes microrganismos nos diferentes tipos de queijo.

Tabela 2 - Características microbiológicas de alguns queijos tradicionais Portugueses (ufc/g) (Adaptado de Reis e Malcata, 2011).

Variedade de queijo	Tempo de cura (dias)	Carga microbiana (ufc/g)			
		EB	LAB	YM	STA
Serra da Estrela	30-60	10^5	10^7	$3 \times 10^0 - 1 \times 10^7$	$3,6 \times 10^5 - 2,5 \times 10^8$
Picante da Beira Baixa	0	10^7	10^9	10^6	10^6
	40	10^4	10^8	10^7	10^7
	83	0	10^8	10^7	10^7
	110	0	10^8	10^5	10^6
	180	0	10^6	$< 10^3$	10^4
Amarelo da Beira Baixa	50	10^3	-	10^6	-
Azeitão	20	$10^6 - 10^7$	10^8	10^6	-
Castelo Branco	40	$10^2 - 10^6$	-	-	-

A elevada carga microbiana dos queijos levanta preocupações com a saúde e nesse sentido têm sido desenvolvidos alguns trabalhos que visam a caracterização dos perfis quantitativos e qualitativos da flora microbiana dos queijos (Reis & Malcata, 2011).

A incidência de microrganismos indesejáveis no queijo feito com leite cru, como é o caso de microrganismos de deterioração ou mesmo os microrganismos patogénicos, é um dos principais problemas afetos a este produto sendo um traço comum nos queijos tradicionais portugueses. Assim, é provável que contribuam para as alterações físico-químicas que ocorrem no seu interior e, conseqüentemente, as características do produto final (Pereira *et al.* 2010).

Aspetos físico-químicos dos queijos tradicionais

A maturação de queijos é um conjunto de processos bioquímicos relativamente lentos que envolvem a ação concertada de vários microrganismos viáveis e enzimas celulares livres. Os fenómenos bioquímicos fundamentais da maturação são a glicólise, proteólise e lipólise, mas a importância atribuída de cada um deles depende da variedade de queijo em questão (Freitas & Malcata, 2000).

A proteólise desempenha um papel crucial no desenvolvimento do sabor característico do queijo e da sua textura. A proteólise inicial das caseínas durante a maturação é causada, principalmente, pelo coalho residual e produz peptídeos médios e grandes que podem ser, posteriormente, degradados (Freitas & Malcata, 2000).

Na tabela 3 estão representadas as principais características físico-químicas de alguns queijos tradicionais portugueses feitos com leite de mistura (ovelha e cabra) e com coalho de origem animal. Verifica-se que estas características variam em função do tipo de queijo.

Tabela 3 - Características físico-químicas de queijos tradicionais portugueses feitos com leite de mistura (ovelha e cabra) e com coalho animal (Adaptado de Freitas & Malcata, 2000).

Queijo	Amarelo da Beira Baixa	Picante da Beira Baixa		Rabaçal	
		0 dias	180 dias	2 dias	28 dias
Dias de cura	50 dias	0 dias	180 dias	2 dias	28 dias
pH		5,58	6,05	6,00	4,80
Humidade (ES)%	47,54	57,74	40,28	62,25	35,78
NaCl (ES)%	6,23	8,85	19,79	-	-
Cinzas (ES)%		11,71	21,18	8,82	5,47
Gordura (ES)%	53,94	47,92	50,65	53,35	52,48
Proteína (ES)%	35,63	30,50	30,50	-	39,90

Aspetos sensoriais e de textura dos queijos tradicionais

A textura é um dos atributos principais da qualidade dos queijos. Para cada tipo de queijo há um atributo textural dominante e nos queijos tradicionais esta regra não é exceção. Desta forma, a caracterização da textura é o primeiro passo para definir a qualidade como uniforme e assim o sucesso do queijo será comparado com produtos semelhantes e que podem ser adquiridos pelo consumidor como alternativa (Reis & Malcata, 2011).

Existe uma forte relação entre a estrutura do alimento e a sua textura. A matriz de caseína, em que os glóbulos de gordura são aprisionados e o soro é ligado com o enchimento dos orifícios, é o representante principal da estrutura de formação do coalho (Reis & Malcata, 2011).

2.4. Processo de Fabrico

O fabrico de queijo envolve diversas fases, que vão desde a preparação da matéria-prima até ao acabamento final do queijo (Gomes, 2011). Segue-se uma descrição generalizada das etapas do processo de fabrico dos queijos tradicionais portugueses.

Receção do leite: O processo de fabrico inicia-se com a receção do leite na queijaria. Durante a trasfega do leite deverá proceder-se simultaneamente à filtração do mesmo, através de filtro próprio ou pano adequado para retenção de eventuais sujidades. No caso de o leite não ser processado imediatamente após a receção, deve ser refrigerado. O leite pode ser conservado durante 48 horas se for mantido abaixo dos 4°C e durante 36 horas se for conservado entre 4°C e 6°C (Regulamento (CE) nº 1662/2006).

Coagulação: A coagulação é o fenómeno fundamental do fabrico de queijo. A tradição queijeira nacional utiliza a coagulação enzimática. Os coagulantes normalmente utilizados são complexos enzimáticos de origem animal, o comum "coalho", termo nem sempre corretamente empregue, ou de origem vegetal, o conhecido "cardo", muito ligado ao queijo de leite de ovelha, considerado um dos fatores responsáveis pela tipicidade de alguns queijos tradicionais (Martins & Vasconcelos, 2003).

Outro fator fulcral no processo de coagulação é o tipo de leite, nomeadamente o seu teor caseínico e de cálcio, bem como as características das caseínas, que são responsáveis pela eficácia da transformação, mas também pelas características da coalhada e do futuro queijo. É ao nível do teores e das características específicas das caseínas que podemos encontrar a grande diferença entre os queijos de vaca, de ovelha e de cabra. Estes influenciam não só as propriedades do queijo mas também o

comportamento do leite durante a coagulação e as características do gel, que condicionam o tipo de trabalho que a coalhada pode sofrer (Martins & Vasconcelos, 2003).

O comportamento do leite das três espécies é bastante diferente no processo de coagulação interferindo nas características do queijo, tanto em fresco como curado. Estes aspetos tornam-se primordiais nas tecnologias tradicionais, uma vez que, geralmente, se extrapolam as noções referentes ao leite de vaca, de facto o mais estudado, para o leite de outras espécies (Martins & Vasconcelos, 2003).

Outro fator importante é o tipo de coagulante. A sua ação não se resume à fase enzimática da coagulação, mas exerce-se até ao final da mesma e, posteriormente, a nível da maturação do queijo, por intermédio da fração residual que permanece no produto. O tipo de coagulante é caracterizado pela relação C/P (atividade específica de coagulação/atividade proteolítica não específica) (Martins & Vasconcelos, 2003).

Dessoramento e Moldagem: O dessoramento pressupõe a aceleração, embora controlada, da expulsão da água (e substâncias dissolvidas, o soro) para que se obtenha um produto moldável mas que mantenha a forma que se pretende e que apresente condições mínimas de conservação, permitindo a evolução controlada durante a maturação (Martins & Vasconcelos, 2003).

Para o dessoramento, usam-se diversos processos, sobretudo meios mecânicos e agentes físicos, que facilitam a saída do soro, como o corte, divisão controlada do gel de modo a aumentar a superfície de expulsão do soro, a temperatura, a agitação da coalhada e a prensagem (Martins & Vasconcelos, 2003).

Segue-se a moldagem, em que a massa é colocada em cinchos ou formas montados com diversos moldes que dão a forma e o tamanho final do queijo (Martins & Vasconcelos, 2003).

Cura: Para produtores que fabricam queijo certificável, aplicam-se as derrogações aprovadas pela Entidade Nacional competente. A título de exemplo verifica-se que para o Queijo Serra da Estrela foi definido um tempo mínimo de cura de 30 dias, para o Queijo Serra da Estrela velho 120 dias (Regulamento de execução nº 562/2013) e para o Queijo Rabaçal um tempo mínimo de cura de 20 dias (Noronha *et al.* 2005).

As câmaras de cura climatizadas recriam as melhores condições de cura, independentemente das condições climatéricas externas (Noronha *et al.* 2005). Os produtores podem ter, para além das câmaras de cura climatizadas, uma sala de cura natural proporcionando a poupança de energia no Inverno e aproveitamentos ao longo da época para diversos fins, tais como a cura, secagem ou conservação. Para isso é necessário que o edifício tenha um bom isolamento térmico e esteja bem orientado com salas de cura a Norte (Noronha *et al.* 2005).

Para a maturação do queijo no interior das câmaras podem ser utilizadas tábuas de maturação em madeira. No entanto, estas devem ser substituídas por grelhas e redes próprias para o efeito ou tábuas de plástico adequado (Noronha *et al.* 2005).

Em suma, determinadas etapas do processo de fabrico, como é o caso da cura, podem desenvolver-se de forma diferente de queijo para queijo. Este facto justifica a grande diversidade de queijos existente (Gomes, 2011).

2.5. Ervas Aromáticas

As especiarias e ervas aromáticas têm sido utilizadas ao longo dos séculos como indutores de aroma e de sabor aos alimentos. Nos tempos antigos, as especiarias serviam também para conservação de alimentos o que já não se verifica atualmente (McKee, 1994).

Orégano ou orégão (*Origanum vulgare*) é uma erva perene e aromática, muito utilizada na cozinha Mediterrânica. São utilizadas as suas folhas, frescas ou secas, pelo sabor e aroma que dão aos pratos. Considera-se que as folhas secas têm melhor sabor. Estas ervas apresentam uma alta atividade antioxidante pela presença de ácido fenólico e flavonóides e propriedades antimicrobianas, com o seu potencial efeito inibitório sobre a *Listeria monocytogenes* (Apostolidis *et al.*, 2008).

A utilização de conservantes químicos não assegura por completo a eliminação de microrganismos patogénicos alimentares como é o caso da *Listeria monocytogenes* nem contribuem para o atraso da deterioração microbiana. Além dos seus efeitos aromáticos, algumas especiarias e ervas aromáticas têm efeitos antimicrobianos e auxiliam o processo de eliminação de patogéneos humanos. Esta questão tem um interesse particular uma vez que se tem verificado uma crescente preocupação com a segurança dos alimentos devido ao aumento da ocorrência de novos surtos de doenças de origem alimentar causadas por microrganismos patogénicos (Tajkarimi *et al.*, 2010).

Muitas vezes, estas são cultivadas e armazenadas em condições precárias o que contribui para o aumento da carga microbiana nos alimentos. Numerosos estudos têm demonstrado a presença de elevadas cargas microbianas em especiarias e ervas aromáticas as quais podem ser transmitidas aos alimentos (McKee, 1994).

2.6. Parâmetros microbiológicas

Os microrganismos são entidades vivas ou não vivas de tamanho microscópico onde se incluem bactérias, vírus, fungos, algas e protozoários. Entre os microrganismos descritos podemos encontrar alguns que atuam de forma desejável sobre os alimentos enquanto que, outros, por sua vez, têm a capacidade de serem indesejáveis nos alimentos (Ray, 2004), uma vez que determinados microrganismos

podem ser relevantes no alimento ou no seu processo de fabrico. Os contaminantes de origem alimentar podem ser patogénicos, organismos de deterioração alimentar, organismos indicadores e toxinas microbianas (Bell *et al.*, 1997).

As doenças de origem alimentar são definidas como: “Qualquer doença de natureza infecciosa ou tóxica causada pelo consumo de alimentos.” (WHO, 2008). Têm sido descritas mais de 250 doenças de origem alimentar. A maioria destas doenças são infeções, causadas por diversas bactérias, vírus e parasitas de origem alimentar (CDC 2005, citado por Valente, 2012).

Praticamente todos os microrganismos patogénicos envolvidos em doenças de origem alimentar são considerados patogénicos entéricos, com exceção de alguns, como é o caso de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum* (exceção para o botulismo infantil), *Clostridium perfringens* e de bolores toxicogénicos, o que significa que podem sobreviver, multiplicar-se ou estabelecer-se no trato gastrointestinal de seres humanos e de animais (Ray, 2004).

Métodos automatizados para determinação de parâmetros microbiológicos:

Para a contagem ou pesquisa de microrganismos podem ser utilizados métodos automatizados como é o caso do teste VIDAS e do teste TEMPO.

O princípio do teste VIDAS é semelhante tanto para a *Salmonella* spp. como para a *Listeria monocytogenes*. Este é um teste imunoenzimático que permite a deteção de antigénios de *Salmonella* ou de *Listeria monocytogenes* (consoante os casos) pela técnica ELFA (*Enzyme Linked Fluorescent Assay*) com o aparelho da família VIDAS.

Geralmente o teste VIDAS é favoravelmente comparado com o método tradicional com a vantagem de obtenção dos resultados num espaço de tempo inferior (Walker *et al.* 2001).

O teste TEMPO consiste numa solução automatizada para o controlo dos microrganismos indicadores de qualidade. Este sistema baseia-se num método microbiológico bem conhecido, o número mais provável (NMP). A automatização proposta pelo TEMPO permite padronizar numerosas etapas de preparação, interpretação e de fornecimento de resultados deste método NMP, antigo e fastidioso, obtendo assim resultados mais rápidos, e mais exatos do que com o método inicial.

O menu do sistema TEMPO abrange uma vasta gama de indicadores de qualidade: TEMPO TVC (flora aeróbia mesófila total), validada pela AOAC OMA desde Outubro 2008, TEMPO EC (*Escherichia coli*), TEMPO TC (Coliformes Totais), TEMPO STA (*Staphylococcus aureus*), TEMPO EB (*Enterobacteriaceae*), TEMPO YM (Leveduras e Bolores) e TEMPO LAB (bactérias lácticas). (www.biomerieux.pt)

Microrganismos indicadores

A dificuldade associada à detecção de pequenos números de microrganismos potencialmente patogênicos nos gêneros alimentícios torna este procedimento pouco eficaz quando aplicado de forma rotineira. Em alternativa, podem-se pesquisar organismos a estes associados que estejam presentes em maior número, em detrimento da monitorização de microrganismos patogênicos específicos, sendo este o conceito de microrganismos indicadores (Adams & Moss, 2008).

Apesar de não existir uma correlação direta entre os resultados de uma análise a um microrganismo indicador e de microrganismos patogênicos entéricos, estes podem ser utilizados para revelar a qualidade microbiológica de determinado alimento e designadamente estabelecer o seu tempo de prateleira e a sua segurança (Ponciano, 2010).

Microrganismos aeróbios a 30°C: Embora com limitações, a contagem dos microrganismos aeróbios a 30°C tem uma especial importância na Microbiologia Alimentar. Pode ser utilizada para aferir a qualidade higiénica, para determinar a aceitabilidade organoléptica, para verificar a aplicação de boas práticas de fabrico e, ainda, se bem que em menor grau, como indicador de segurança (Downes & Ito, 2001).

De um modo geral, quando se obtém uma contagem elevada de microrganismos aeróbios a 30°C significa que provavelmente o produto sofreu higienizações insuficientes ou padece de problemas ao nível do controlo dos processos de fabrico ou das matérias-primas. No entanto, alguns produtos têm naturalmente contagens elevadas de microrganismos, como é o caso de produtos fermentados (Downes & Ito, 2001).

De acordo com o Regulamento (CE) 1662/2006, que estabelece as regras específicas de higiene aplicáveis aos gêneros alimentícios de origem animal o leite deve obedecer ao seguinte critério: Contagem em placas a 30°C $\leq 1,5 \times 10^6$ ufc.

Escherichia coli: é a espécie do género *Escherichia* que inclui Bacilos Gram-negativos móveis, predominantemente anaeróbios facultativos e que pertencem à família *Enterobacteriaceae*. Desenvolve-se entre os 7° C -10° C e os 50 °C, evidenciando uma temperatura ótima a 37°C (WHO, 2008). É um grande e diverso grupo de bactérias e a maioria delas é inofensiva, relacionando-se através de comensalismo com humanos e animais (Adams & Moss, 2008).

A presença de *Escherichia coli* em alimentos é um indicador de contaminação fecal direta ou indireta. Elevadas contagens de *Escherichia coli* e de coliformes totais normalmente indica falhas ao nível da higiene (Yucel & Ulusoy, 2006).

A contaminação fecal direta ocorre durante o processamento de matérias primas de origem animal. Já a contaminação fecal indireta pode ser devida a água poluída de esgoto ou a uma fraca higiene pessoal dos manipuladores (Ray, 2004).

Enterobacteriaceae: a presença de *Enterobacteriaceae* é indicadora da qualidade e da higiene do produto, e a sua presença pode ser relacionada com contaminação de origem fecal. Contagens elevadas deste grupo de microrganismos no leite e no queijo indicam más práticas de higiene na ordenha, armazenamento e transporte durante o fabrico de queijo. Elevados períodos de refrigeração contribuem para o aumento da população de *Enterobacteriaceae* (Tornadijo *et al.* 2001).

Como se pode verificar na tabela 2, onde está representada a população microbiana de alguns queijos tradicionais, a contagem de *Enterobacteriaceae* é bastante elevada para queijos feitos com leite cru sendo que o seu valor mais baixo é na ordem dos 10^2 no caso do queijo de Castelo Branco com 40 dias de cura.

Bolores e leveduras: A contaminação do queijo por bolores e leveduras pode ser causada de modo cruzado nomeadamente por bolores e leveduras presentes nas câmaras de maturação, na água, no leite e na salmoura. A presença de diversos tipos de bolores é indesejável, uma vez que podem influenciar as características organoléticas dos queijos pela produção de micotoxinas representando um potencial risco para a saúde (Torkar & Vengust, 2008).

A tabela 4 mostra os valores de bolores e leveduras no leite e em queijos com diferentes características. Verifica-se que o valor médio de leveduras, foi superior em amostras de queijo de pasta mole (3,0 log₁₀ ufc / g) face às amostras de queijo de pasta semi-dura (1,5 log₁₀ ufc / g). A contaminação deve-se, em parte, a condições inadequadas de higiene do processo (Torkar & Vengust, 2008).

Tabela 4 - N.º de bolores e levedura no leite cru ($\log_{10}\text{ufc/g}$) e no queijo ($\log_{10}\text{ufc/g}$) (Adaptado de Torkar & Vengust 2008).

Parâmetros	Amostras					
	Leite Cru		Queijo de Pasta mole		Queijo Semi-duro	
	Leveduras	Bolores	Leveduras	Bolores	Leveduras	Bolores
Média	1,7	0,7	3,0	1,4	1,5	1,3
Mínimo	≤ 0	≤ 0	≤ 1	≤ 1	≤ 1	≤ 1
Máximo	4,1	3,1	5,2	5,7	5,2	5,6
Desvio Padrão	0,9	0,9	1,3	1,6	1,2	0,6

Torkar & Vengust (2008), constataram também que as leveduras em concentrações superiores a 10 ufc/g da amostra foram encontradas em (60%) dos testes. O valor de bolores e leveduras presentes no queijo foi superior quando comparado com o leite.

Coliformes Totais: Os coliformes foram um dos primeiros grupos de indicadores de bactérias utilizados na indústria dos laticínios e na água. Estes pertencem à família das *Enterobacteriaceae*. Estes organismos não têm origem exclusivamente fecal (Adams & Moss, 2008).

Segundo Feitosa *et al.* (2003), têm-se verificado contagens elevadas de bactérias do grupo coliformes em alguns tipos de queijo, o que evidencia que estes foram produzidos sob condições higiénicas desadequadas. Como se pode verificar pela análise da tabela 5, todas as amostras de queijo apresentaram coliformes totais sendo que grande percentagem (72,7%) apresenta contagens superiores a 100 (NMP/g).

Tabela 5 - Avaliação de coliformes totais presentes no queijo de coalho do estado de Rio Grande do Norte (Adaptado de Feitosa *et al.* 2003).

Microrganismos	Contagem	Nº de amostras	%
Coliformes Totais	< 3	0	0
	11 a 100	3	0
	100 a ≥ 2400	8	72,7

Bactérias do ácido láctico: As Bactérias do Ácido Láctico (LAB) são um grupo de microrganismos morfológicamente heterogéneo, como cocos e bacilos, que podem estar dispostos em cadeia ou individualmente, Gram-positivas, não esporuladas, catalase negativas, anaeróbicas facultativas, capazes de realizar a fermentação em anaerobiose,

bem como em aerobiose, mas de uma forma mais lenta. Produzem o ácido láctico, como o principal produto final da fermentação dos açúcares, estando envolvidas na acidificação dos produtos alimentares destinados quer a humanos, quer a animais (Lahtinen *et al.* 2012).

As bactérias lácticas são importantes na produção queijeira, uma vez que, promovem o desenvolvimento do ácido láctico que, acelera a coagulação do leite, auxiliando na sinérese do soro, contribuindo ainda para o sabor, corpo e textura do queijo acabado (Awad *et al.*, 2007)

Estafilococos Coagulase positivo: O *Staphylococcus aureus* é uma espécie do género *Staphylococcus* e inclui cocos Gram-positivos, anaeróbios facultativos e mesófilos, com um desenvolvimento ótimo a 37 °C (Ponciano, 2010).

Este é um organismo muito comum, capaz de produzir várias enterotoxinas causadoras de sintomas de intoxicação nos humanos de variante intestinal quando contaminados por ingestão alimentar. Esta espécie do género *Staphylococcus* é considerada a 3ª causa de doença mais importante no mundo entre os descritos de doença transmitida pelos alimentos (Normanno *et al.*, 2004).

A tabela 2 mostra a prevalência de *Staphylococcus aureus* em determinados queijos tradicionais portugueses. De acordo com o estabelecido no capítulo 2 do anexo I do Regulamento (CE) 1441/2007 que define os critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios, no queijo fabricado com leite cru devem ser determinados os estafilococos coagulase positivos durante o processo de fabrico, no momento em que se prevê que o número de estafilococos seja mais elevado. A contagem de estafilococos deve estar dentro dos limites definidos pelo referido regulamento sendo $n=5$, $c=2$, $m=10^4$ e $M=10^5$ em que “n” corresponde ao número de unidades que constituem a amostra e “c” o número de unidades da amostra com valores entre m e M. Pela análise da tabela verifica-se que a contagem de *Staphylococcus aureus* nos queijos tradicionais portugueses tem valores muito superiores ao estipulado na legislação em vigor. Verifica-se também que com o aumento do tempo de maturação este valor deste grupo de microrganismos vai diminuindo

Microrganismos patogénicos

Devido à sua rica composição em nutrientes, os produtos lácteos podem apresentar contaminações por microrganismos, inclusive microrganismos patogénicos (Veiga, 2012).

Os queijos podem apresentar diferenças significativas na contaminação por microrganismos patogénicos, como consequência da sua presença no leite cru usado na produção e subsequente sobrevivência durante o processo de fabrico (Donnelly, 2004, citado por Veiga 2012)).

No entanto, estas também podem contaminar o queijo nas etapas pós-processamento, se as condições de higiene na linha de produção não forem suficientes para prevenir a recontaminação (LITTLE *et al.*, 2008).

Pesquisa de *Listeria monocytogenes*: Bacilo Gram-positivo, psicrotrófico, não formador de esporos, anaeróbio facultativo com oxidase negativa e catalase positiva (Apostolidis, 2008). Os animais podem ser portadores assintomáticos de *L. monocytogenes*, contaminando géneros alimentícios de origem animal tais como a carne e o leite/produtos lácteos (Lecuit, 2007).

A incidência da listeriose é de 2 para 10 milhões mas é consideravelmente mais elevada em crianças recém-nascidas (Soncini & Valnegri, 2004).

Listeria monocytogenes tem sido isolada a partir de uma grande variedade de alimentos crus e processados, incluindo leite cru e pasteurizado. O queijo fresco e outros produtos lácteos são uma importante fonte de contaminação, principalmente se forem produzidos a partir de leite não pasteurizado (Soncini & Valnegri, 2004).

Segundo (Soncini & Valnegri, 2004) foram analisadas amostras de leite de cabra tratado e não tratado para a presença de *L. monocytogenes*. Verificou-se a presença de várias espécies de *Listeria* exceto *L. monocytogenes* em ambos os tipos de queijo.

De acordo com o capítulo 1 do anexo I do Regulamento (CE) 1441/2007 que estabelece os critérios de segurança dos géneros alimentícios deve ser feita a pesquisa de *Listeria monocytogenes* em alimentos prontos para consumo suscetíveis de permitir o crescimento deste microrganismo, exceto os destinados a latentes e a fins medicinais específicos. A pesquisa deve ser feita antes de o alimento deixar de estar sob o controlo imediato do operador da empresa do sector alimentar que o produziu. O resultado deve ser de ausência em 25g.

Salmonella: A associação entre o consumo de leite cru ou produtos feitos com leite cru e salmoneloses foi identificada em vários relatórios. Recentes surtos em humanos com *Salmonella* Typhimurium GT 104 ligados ao consumo de um queijo mexicano feito com leite cru, sublinha ainda mais esta associação. No entanto, o consumo de produtos feitos com leite cru é preferido por um determinado número de indivíduos por várias razões sendo elas culturais, nutricionais económicas ou sensoriais (Walker *et al.*, 2000).

De acordo com o capítulo 1 do anexo I do Regulamento (CE) 1441/2007 que estabelece os critérios de segurança dos géneros alimentícios deve ser feita a pesquisa de *Salmonella* em queijo, manteiga e natas fabricados com leite cru ou leite que tenha sido submetido a tratamento térmico mais fraco que a pasteurização. A referida pesquisa deve ser feita em produtos colocados no mercado durante o seu período de vida útil. O resultado deve ser de ausência em 25g.

2.7. Parâmetros Físico-Químicos

A evolução das características físico-químicas do queijo é influenciada por vários fatores nomeadamente: tipo de leite, raça do animal, área geográfica, período de lactação e o fabrico do próprio queijo (Reis & Malcata, 2011).

Contagem de Células Somáticas (CCS): A contagem de células somáticas do leite faz parte de um programa de base mundial para o controlo das anomalias do leite de vaca, cabra e ovelha. Nos Estados Unidos, o limite legal de CCS estabelecido pela Food and Drug Administration é de $7,5 \times 10^5 \text{ ml}^{-1}$ para o leite de vaca e de $1,0 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$ para o leite de cabra e de ovelha. Na União Europeia (UE), de acordo com a diretiva 92/46ECC Council, 1992, o limite legal para o leite de vaca é de $4,0 \times 10^5 \text{ ml}^{-1}$ e não existe limite legal nem para o leite de cabra nem para o leite de ovelha. A contagem de células somáticas transformou-se num parâmetro de aceitabilidade para a qualidade do leite e numa ferramenta de gestão para leiteiros em todo o mundo (Paape *et al.* 2006).

Apesar da CCS ser considerada um parâmetro aceite para avaliar o leite de vaca e de ovelha, este não é aplicável ao leite de cabra. Isto acontece porque existem diversos fatores que contribuem para um aumento significativo da CCS em cabras nomeadamente, práticas de gestão, fase de lactação, paridade e vírus caprino de artrite-encefalite (Paape *et al.* 2006).

Proteína: As proteínas são substâncias compostas por carbono, hidrogénio e azoto podendo, também, estar presentes o ferro, o fosforo e o enxofre. Estas são constituintes fundamentais para a vida das células tendo especial importância no leite e produtos lácteos (Ramírez, 2010).

As proteínas do leite, utilizadas no fabrico do queijo, contribuem para o seu valor nutricional e têm um papel importante no processo de coagulação. A caseína é a principal proteína do leite, o que representa cerca de 77-82% das proteínas totais. Por ação do coalho, o ácido precipita a caseína o sendo uma propriedade importante na produção do queijo (Ramírez, 2010).

Gordura: A importância da gordura na qualidade do queijo pode considerar-se a partir de três pontos de vista: como suporte nutricional, pela sua influência nas características estruturais e reológicas do queijo, e pela sua participação na formação do aroma (Nájera *et al.*, 1993).

A gordura encontra-se no queijo sob a forma de glóbulos gordos. Devido às suas elevadas dimensões, a presença de glóbulos gordos obriga à existência de grandes extensões de rede proteica, com uma densidade de ligações reduzida, resultando

numa estrutura menos elástica e com uma textura mais macia e homogénea. Uma matriz proteica com menor quantidade de glóbulos gordos apresenta menos interrupções, contribuindo para uma textura mais dura (Drake et al, 1996 citado por Alvarenga, 2008). Quanto à participação da gordura na formação do aroma do queijo, a gordura do leite caracteriza-se por ter uma elevada concentração de ácidos gordos de cadeia curta que, no decurso da maturação, podem ser libertados por ação da lipólise condicionando fortemente o aroma do queijo. A lipólise é catalizada por enzimas lipolíticas que são libertadas pelos microrganismos contaminantes Gram negativos (Moussa *et al.*, 2008).

Os queijos podem classificar-se, quanto ao teor de gordura referida ao resíduo seco (GRS), em: extragordo (GRS>60%), gordo (45% < GRS < 60%), meio gordo (25% < GRS < 45%), pouco gordo (10% < GRS < 25%) e magro (GRS < 10%) (Portaria 73/90 de 1 de fevereiro).

Humidade: Apesar de muitos queijos serem consumidos frescos, existem outros que são curados durante um período compreendido entre 3 semanas a 2 anos. Por norma, a duração do período de maturação é inversamente proporcional ao teor de humidade do queijo (Fox et. al. 2000). Este facto ocorre dado que, após a coagulação, os processos que se seguem, como a moldagem, a prensagem e a salga, que diferem consoante o tipo de queijo, são acompanhados por uma diminuição do pH e originam uma perda de humidade considerável, através da remoção do soro (Walstra, 1999, citado por Alvarenga 2008).

Cinzas: As cinzas, nos queijos, são caracterizadas pela presença de substâncias salinas e de materiais minerais presentes no leite e/ou adicionados durante o fabrico de queijo e que são degradadas à temperatura de 550 °C. (Justus *et al.*, 2011).

Sal: A adição de sal, geralmente 1 a 4 %, para além de funcionar como condimento remove a humidade do queijo através do efeito osmótico. Existem várias maneiras de se proceder à salga, quer adicionando o sal diretamente à coalhada, por pulverização após a expulsão do soro, quer submergindo os queijos em tanques com salmoura. O sal adicionado contribui para o sabor, o aumento do tempo de vida útil e textura do queijo, assim como para a sua maturação (Fox, 2000)

Índice de Peróxidos

A oxidação dos lípidos é uma das principais causas da deterioração da qualidade.

A oxidação dos lípidos (peroxidação) nos alimentos provoca o aparecimento de sabores e odores desagradáveis, destrói as vitaminas sensíveis e pode gerar compostos tóxicos.

A determinação do índice de peróxidos mede a concentração de peróxidos. Como os peróxidos se podem decompor e formar outros produtos antes da sua determinação deve ter-se especial atenção na interpretação dos seus dados. Se as condições forem propícias afeta a maioria dos alimentos inclusivamente os alimentos pobres em gorduras. Os sabores e odores indesejáveis que se produzem frequentemente caracterizam-se como ranço, daí o termo “rancidez oxidativa”.

Os ácidos gordos polinsaturados são especialmente suscetíveis à ocorrência da peroxidação lipídica devido às duplas ligações presentes nas suas cadeias de hidrocarbonetos. Esta situação deve-se a que a peroxidação lipídica se realize através de um mecanismo de radicais livres e os ácidos gordos insaturados são particularmente suscetíveis de serem atacados por radicais livres (Miller, 2001).

Perfil de ácidos gordos: Ácido gordo designa qualquer ácido monocarboxílico alifático que possa libertar-se por hidrólise a partir de óleos ou gorduras naturais (Campos, 1999).

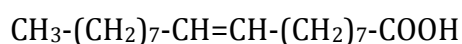
Os mais importantes e frequentes são os monocarboxílicos, de cadeia linear não ramificada, com número par de átomos de carbono (entre 4 e 30). Podem ser saturados, insaturados e, por vezes, hidroxilados (Campos, 1999).

Os ácidos gordos constituintes dos trigliceróis da gordura de leite de ruminantes podendo ser agrupados em: saturados de cadeia curta (C4 e C6), saturados de cadeia média (C8, C10 e C12), saturados de cadeia longa (C14, C15, C16 e C18) e insaturados de cadeia longa (C14:1, C16:1, C18:1 e C18:2). Estes ácidos estão normalmente presentes em teores acima de 1% e constituem cerca de 95% do total de ácidos gordos. No caso específico do leite de ovelha, observam-se maiores teores de ácidos saturados de cadeia curta e média (C6 a C12), comparativamente com o leite de vaca (Gomes, 2011).

Ácidos gordos Saturados: Obedecem à fórmula geral: $\text{GH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_n\text{-COOH}$. Os que se encontram mais frequentemente são o ácido palmítico (C₁₆) e o ácido esteárico (C₁₈). Em menor concentração, encontram-se os ácidos gordos contendo 12 e 14 átomos de carbono. O leite é, em contra-partida, rico em ácidos gordos de cadeia curta. A par dos ácidos gordos com número par de átomos de carbono, encontram-se, geralmente em pequenas quantidades, ácidos gordos com 15, 17 ou 19 átomos de carbono (Weil, 2000).

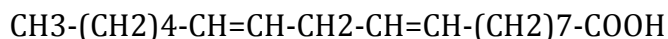
Ácidos gordos Insaturados (Weil, 2000): Os principais ácidos insaturados são:

1. Ácidos gordos mono-insaturados (uma dupla ligação): ácido oleico (C₁₈), dupla ligação entre C₉ e C₁₀; abreviadamente: (C₁₈, Δ₉, ou 18:1(9), ou 18 ω 9).



2. Ácidos gordos poli-insaturados (várias duplas ligações): Os mais comuns apresentam duplas ligações não conjugadas separadas por um grupo metileno.

Ácido linoleico (C18, Δ9,12, ou 18:2(9,12), ou 18:2 ω 6)



Na tabela 6 estão representadas as quantidades de ácidos gordos para queijos feitos com leite de várias origens. Verifica-se que o ácido acético (C₂) se encontra presente em maior quantidade em todos os tipos de queijo seguindo-se o ácido palmítico. Os ácidos gordos presentes em menor quantidade, em todos os tipos de queijo, são o ácido butírico (C₄) e o ácido capróico (C₆)

Tabela 6 - Quantidades de ácidos gordos (mg/kg) presentes em queijos feitos com diferentes tipos de leite (Adaptado de Mallatou *et al.* 2003).

nomenclatura	60 dias de cura		
	Queijo de ovelha	Queijo de cabra	Queijo de ovelha e cabra
C ₂	308±47	276±41	353±6
C ₄	35±0	35±0	36±0
C ₆	35±0	35±0	35±0
C ₈	55±0	55±0	55±0
C ₁₀	36±2	50±3	46±3
C ₁₂	56±2	55±3	55±3
C ₁₄	58±4	45±5	58±7
C ₁₆	183±14	175±18	196±19
C ₁₈	93±10	93±12	96±8
C _{18:1}	140±18	100±15	121±9
C _{18:2}	73±3	72±2	72±2

2.8. Prova de consumidores

A qualidade dos alimentos inclui vários fatores como a segurança, aspetos nutricionais e sensoriais. A perceção sensorial é reconhecida como determinante no comportamento de escolha pelos consumidores (Ismail *et al.* 2001).

O queijo feito com leite de ovelha tem um sabor único, diferente do queijo feito a partir de leite de vaca. Além disso, estes produtos minoritários têm uma imagem de qualidade e autenticidade bastante acentuada e o seu carácter tradicional é decisivo para o consumidor. Por esta razão, e considerando que o mercado está dominado por

produtos lácteos feitos à base de leite de vaca, a proteção de queijos tradicionais feitos com leite de ovelha está a adquirir um novo significado (Bárcenas *et al.* 2003).

A realização da análise sensorial de uma forma racional vai permitir conhecer a preferência, aceitação e o grau de satisfação dos consumidores, assim como determinar a possível diferença entre as características sensoriais dos queijos e listar exaustivamente os descritores para um queijo (Chamorro e Losada, 2002).

A análise sensorial é um método científico utilizado para evocar, medir, analisar e interpretar reações às características dos alimentos e materiais percebidos pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição (Stone and sidel, 2004, citado por Kemp *et al.* 2009).

O conjunto de provas utilizadas para a avaliação das características sensoriais de um queijo distribuem-se em 3 grupos:

- Descritivas: São utilizadas para definir os atributos do queijo bem como as suas sensações; evitam a subjetividade e critérios hedonistas; as fichas descritivas podem ser muito genéricas ou específicas de cada tipo de queijo (Chamorro e Losada, 2002);
- Discriminantes: utilizada para diferenciar dois ou mais queijos. São postas em prática quando se pretendem analisar várias amostras em que o provador tem ou não que decidir se são ou não diferentes umas das outras (Chamorro e Losada, 2002).;
- Hedónicas: São utilizadas para comparar produtos concorrenciais; otimizar um produto em que se obtém uma nota hedónica elevada ou que são preferidos por um grande número de consumidores; ajuda a definir uma gama de produtos para responder a um nicho particular de consumidores; ajuda a determinar a data de validade; ajuda a estudar o impacto das características sensoriais de um produto sobre as respostas afetivas, independentemente das características extrínsecas do produto (marca e preço) (NF XP V 09-500, 2009).

A seleção dos descritores a avaliar tem um papel importante no desenvolvimento de produtos de sucesso. Os métodos convencionais, como o painel de provadores treinados, são comumente utilizados para extrair um perfil descritivo de um produto alimentar, sendo perfeitamente adequados para a obtenção de uma descrição pormenorizada dos produtos. No entanto, estes métodos não proporcionam qualquer indicação da importância dos descritores gerados (Grygorczyk *et al.* 2013).

O teste de consumidores avalia as respostas subjetivas de produtos. Utilizando metodologias quantitativas e qualitativas obtém-se uma visão sobre a preferência do consumidor, atitudes, opiniões, comportamentos e perceções relativas ao produto. O teste de consumidores é, portanto, uma parte fundamental no processo de desenvolvimento do produto (Kemp *et al.* 2009).

Barros *et al.*, (2006) e Martins *et al.*, (2012) realizaram uma prova de consumidores para vários tipos de queijo. Os atributos analisados por estes autores foram: aparência, aroma, sabor, textura e apreciação global. Foi feita a comparação dos vários atributos nos dois queijos.

No entanto, a maioria das provas sensoriais descritas por vários autores (Pereira *et al.* 2011, Ryffel *et al.* 2008) são realizadas por provadores treinados não dando grande destaque à prova de consumidores.

Na tabela 7 estão representadas as vantagens e desvantagens dos diferentes locais onde pode ser realizada a prova de consumidores.

Tem-se verificado uma procura crescente por novos produtos e extensões da linha do mercado alimentar. Os testes de preferência são muitas vezes utilizados quando se exige uma tomada de decisão sobre o lançamento dos produtos no mercado (Hersleth *et al.*, 2004).

Tabela 7 - Vantagens e desvantagem dos diferentes locais de realização da prova de consumidores (Hersleth *et al.*, 2005).

	Vantagens	Desvantagens
Teste de laboratório	<ul style="list-style-type: none"> • Índice de resposta bastante elevado; • Condições controladas; • Feedback imediato (informatizado); • Baixo custo; • Avaliação de vários produtos por consumidor. 	<ul style="list-style-type: none"> • Não representa um contexto natural; • Atributos importantes podem ser perdidos; • O número de questões a realizar é limitado; • Os inquiridos não são representativos da população.
Sala de teste	<ul style="list-style-type: none"> • Elevado número de respostas; • Inquiridos da população geral; • Avaliação de vários produtos por consumidor; • Mais controlo sobre a forma como o produto é avaliado. 	<ul style="list-style-type: none"> • Não representa um contexto natural; • Menos controlo do que nos testes laboratoriais; • Atributos importantes podem ser perdidos; • O número de questões a realizar são limitadas.
Teste de uso doméstico	<ul style="list-style-type: none"> • Número de respostas relativamente elevado; • Produto testado em condições reais; • Possibilidade de testar o produto em condições repetidas de utilização. • Capacidade de obter intenções realísticas sobre a intenção de comprar. 	<ul style="list-style-type: none"> • Mais respostas nulas e ausentes; • Não há controlo nos produtos utilizados; • Mais demorado • Feedback lento; • Pequeno número de produtos • Geralmente mais caro.

2.9. Inovação nos queijos tradicionais

A inovação é um fenómeno complexo, que envolve a produção, difusão e tradução de conhecimento científico ou técnico em produtos e serviços novos ou modificados, bem como novas técnicas de processamento ou de produção (Menrad, 2004).

As inovações, entendidas como novos produtos, processos ou serviços são um instrumento importante para as empresas da indústria alimentar para se destacarem nas competições e cumprir as expectativas do consumidor (Menrad, 2004). Segundo Vaz, (2009) “É através da introdução de novos componentes e criação de novos produtos, das novas formas de apresentação do produto e de organização nos serviços, tais como novos conceitos de marketing que se consegue atrasar o decréscimo da produção, evitando a entrada na fase final da existência dos produtos. A inovação representa a sobrevivência da empresa e quanto mais competitiva for a economia e global o mercado, maior é a necessidade desta de conseguir incluir inovações nos respetivos processos produtivos”. O setor dos lacticínios não é exceção a esta realidade (Almli *et al.*, 2011). De acordo com Bishop (2006) “Inovação é a chave para o crescimento futuro do mercado do queijo e continuará a ser o foco de futuras pesquisas e desenvolvimento de tecnologia.”

Vários autores consideram que a indústria alimentar é um sector maduro e de crescimento lento, com baixa intensidade de investigação e muito conservadora em termos de tipos de inovação introduzidas no mercado. No entanto, mudanças importantes, tanto no tipo de procura de alimentos, como na organização da cadeia de abastecimento e um ambiente industrial cada vez mais competitivo, levam à consciencialização da importância da inovação na industria alimentar para ter uma atividade empresarial capaz de se rentabilizar (Galit, 2013).

A figura 1 pretende demonstrar a razão entre as empresas inovadoras e não inovadoras em função da sua localização geográfica (Cruz *et al.*, 2012).

Em primeiro lugar torna-se evidente que a região do Norte é, de longe, aquela que apresente maior índice de industrialização agroindustrial, seguida das regiões de Lisboa, Alentejo e Algarve. Neste capítulo a região Centro é claramente a menos desenvolvida, sendo que, tanto o número de empresas com inovação como o número de empresas sem inovação não atinge sequer as 50. Contudo, apesar da região do Norte ser a mais industrializada neste sector, esta não é a região do país onde existe maior quantidade de empresas inovadoras, dado que é na região de Lisboa, onde se encontram mais de 250 empresas com inovação que este índice é o mais elevado.

Conclui-se ainda que, das 5 regiões inquiridas, a região de Lisboa é a única em que o número de empresas com inovação é superior ao número de empresas sem inovação.

Por outro lado, a região do Norte é a que apresenta maior discrepância entre o número de empresas sem inovação e o número de empresas com inovação sendo que o primeiro é superior ao segundo em mais do dobro.

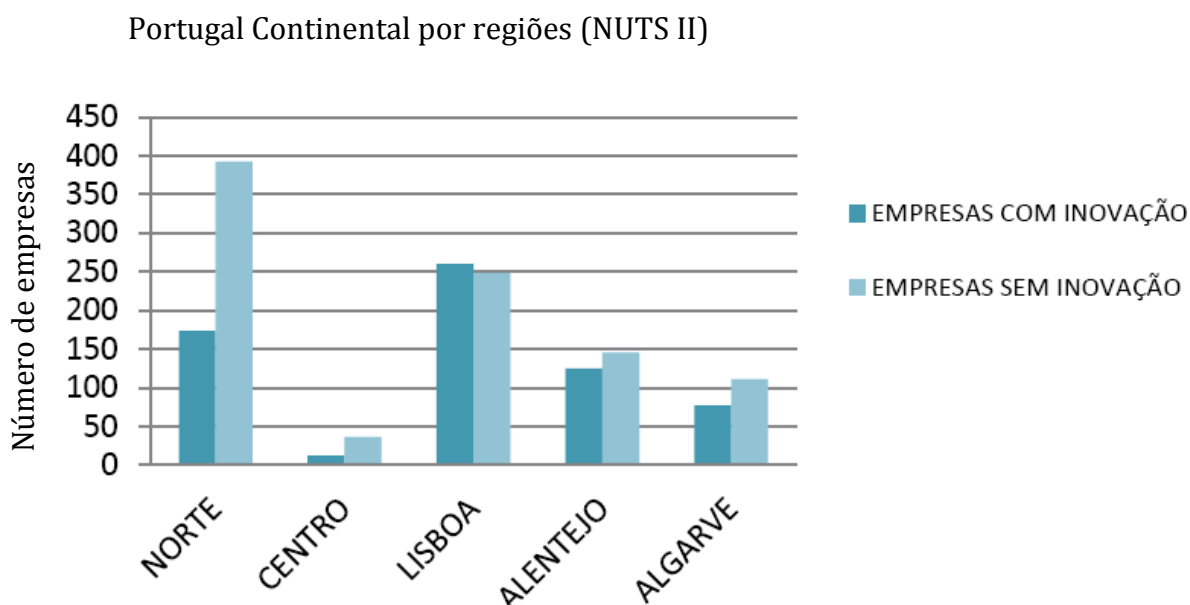


Figura 1 - Agro-indústrias com e sem inovação, em 2006, em Portugal continental (Cruz *et al.* 2012)

A tabela 8 dá-nos a relação do número de empresas do sector agroindustrial que introduziram produtos novos para o mercado ou para a empresa pelo que se pode verificar que relativamente à introdução de produtos novos para o mercado, houve uma diminuição de 2004 para 2006 nas regiões do norte, centro e Alentejo. Nas regiões de Lisboa e do Algarve o número de empresas que introduziram alterações para o mercado aumentou em 2006 relativamente ao ano de 2004. No que respeita ao número de empresas que introduziram produtos novos para a mesma, verifica-se uma diminuição, em todas as regiões, do ano de 2004 para 2006.

Tabela 8 - Número de empresas do sector agro-industrial que introduziram produtos novos para o mercado ou para a empresa (Cruz *et al.* 2010).

Regiões Nuts II	Mercado		Empresa	
	2004	2006	2004	2006
Norte	60	39	139	75
Centro	5	4	11	7
Lisboa	45	78	139	77
Alentejo	55	54	96	54
Algarve	10	25	41	24
Média	35	40	85,2	47,4

Estes dados estão de acordo com Galit, (2013), que refere que as empresas do sector alimentar ainda se apresentam muito pouco inovadoras.

Um dos motivos que pode levar a esta dificuldade de inovação por parte da indústria agroalimentar é o facto de a tradição e a inovação poderem ser difíceis de combinar uma vez que os consumidores tendem a rejeitar inovações que afetem o carácter autêntico dos alimentos tradicionais (Almli *et al.*, 2011). É neste sentido que o papel do consumidor é determinante para que os produtores do sector agroalimentar possam disponibilizar no mercado uma oferta que dê a resposta adequada às necessidades de consumo.

Um aspeto crucial sobre as atitudes dos consumidores para a inovação de produtos alimentares tradicionais é o tipo de inovação aplicada. Por norma, as inovações que visam aumentar a segurança do alimento ou fornecer ao produto benefícios importantes são aceites pelo consumidor sempre que não alterem as características originais do mesmo.

3. Material e Métodos

O presente trabalho decorreu em dois locais diferentes:

(A) Na queijaria Henrique Santiago onde foi fabricado o queijo em estudo e onde foi feito o acompanhamento ao longo de todo o período de maturação. Esta etapa decorreu entre o período de 4 de fevereiro a 18 de março de 2013.

(B) No Centro de Apoio Tecnológico Agroalimentar de Castelo Branco (CATAA), onde foram efetuadas as determinações microbiológicas e físico-químicas da matéria

prima (leite), do queijo antes de entrar na câmara de maturação e do queijo em fim de cura bem como a prova sensorial dos dois tipos de queijo.

O esquema do delineamento experimental (Figuras 2, 3 e 4) mostram o tipo de parâmetros analisados em cada etapa de produção de queijo.

Para a caracterização da matéria prima recolheram-se 2 copos de cada tipo de leite (ovelha e cabra) sendo que, um copo foi utilizado para a avaliação microbiológica e o outro para a avaliação dos parâmetros físico-químicos. Para a caracterização dos dois tipos de queijo recolheram-se 5 queijos de mistura sem orégãos e 5 queijos de mistura com orégãos antes de entrarem na câmara de maturação e fez-se a avaliação microbiológica do produto nesta etapa do processo de fabrico. Recolheu-se a mesma quantidade de queijo após 42 dias de cura para a avaliação microbiológica, físico-química e sensorial do produto.

Após a elaboração do trabalho experimental foi apresentado um poster (anexo I), no Congresso Nacional Microbitec' 13, com os resultados obtidos relativamente aos parâmetros microbiológicos.

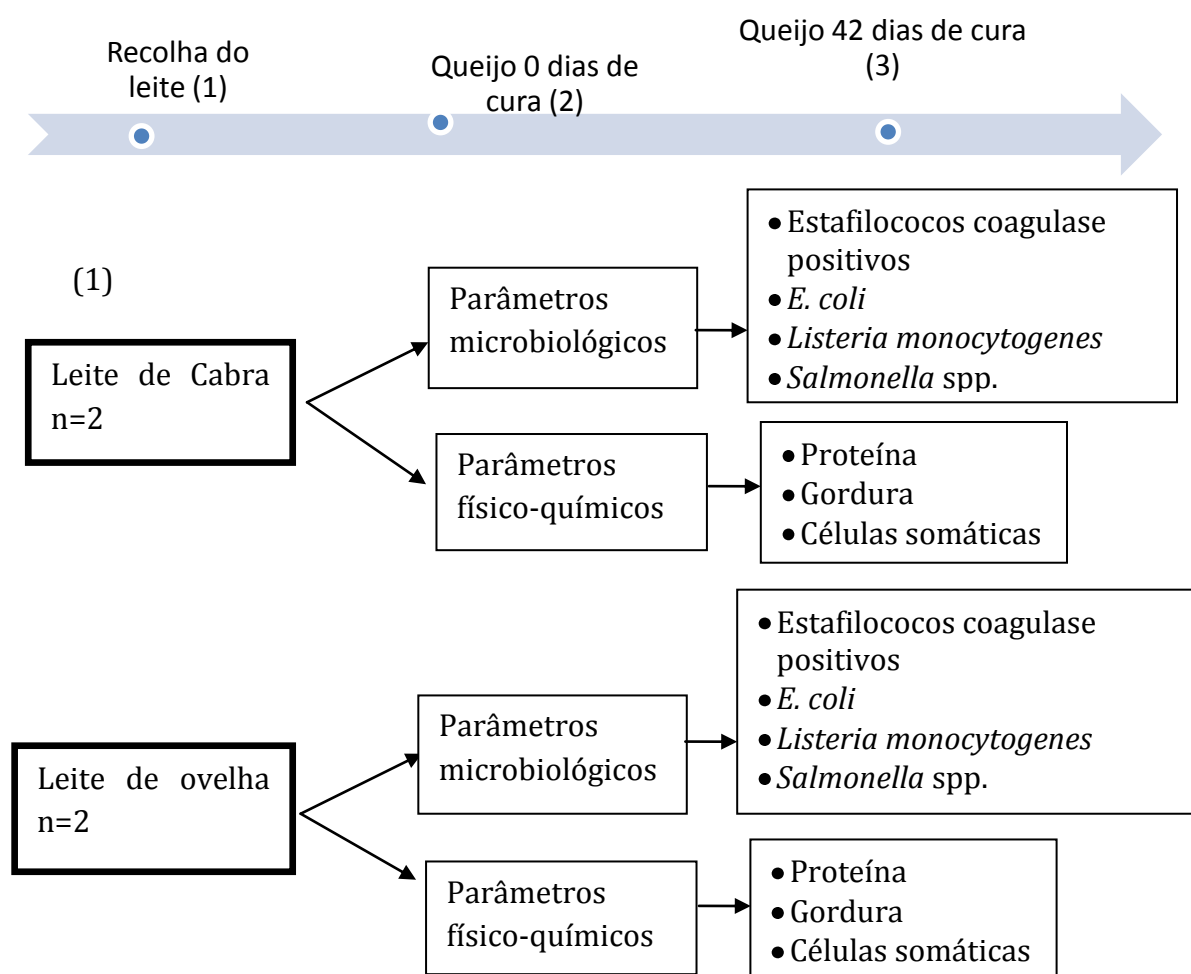


Figura 2 - Parâmetros estudados no leite utilizado para produção de queijos.

(2)

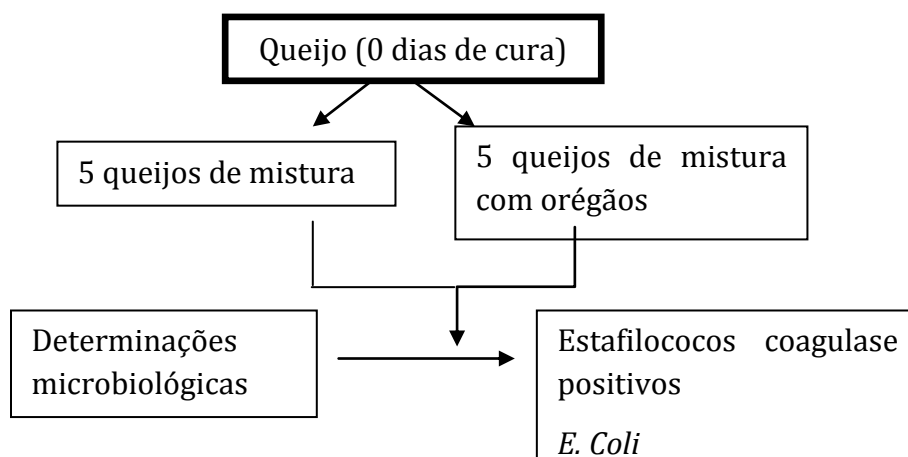


Figura 3 - Parâmetros estudados no queijo antes de entrar na câmara de maturação.

(3)

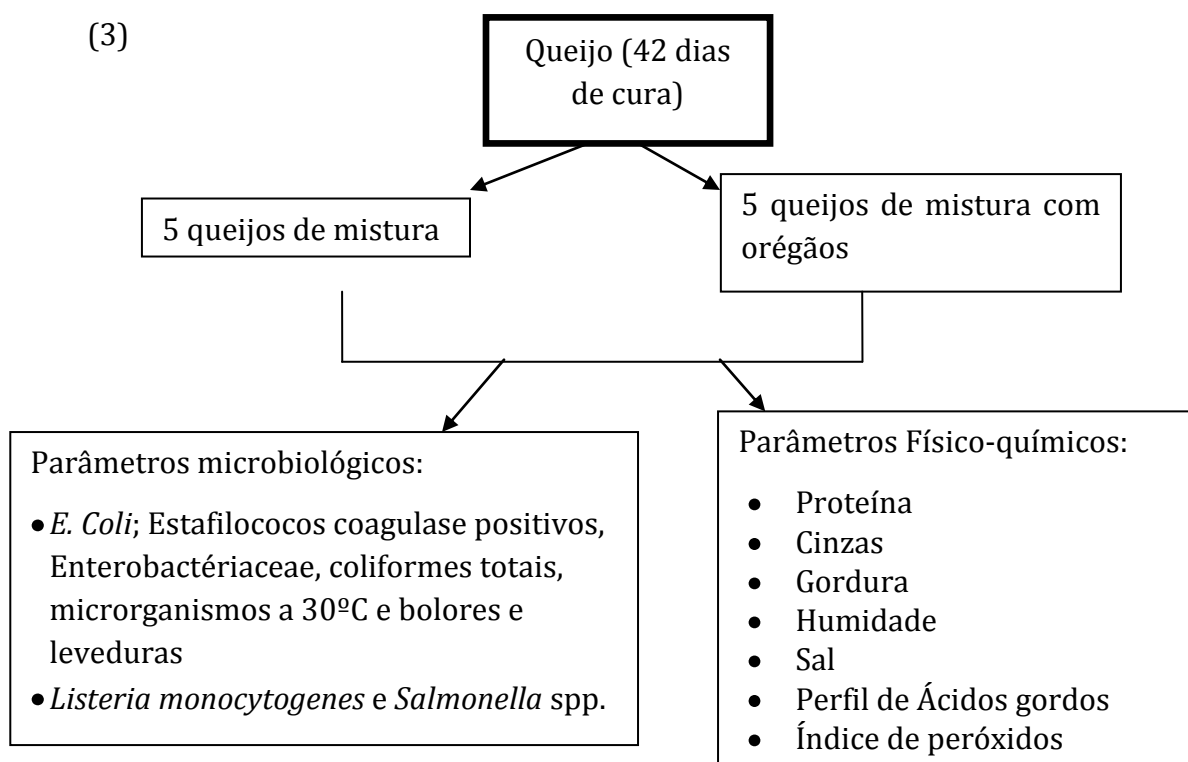


Figura 4 - parâmetros estudados nos queijos em fim de cura.

Nesta 3ª etapa procedeu-se também à realização da prova de consumidores. Para tal foram recolhidos 3 queijos:

- Prova de classificação por pares - O consumidor teve de escolher qual o tipo de queijo que gostou mais;
- Prova de notação com escala descontínua numérica de 10 pontos – O consumidor avalia o nível de prazer ou desprazer relativamente aos vários atributos do queijo em questão.

3.1. Matéria-Prima

O trabalho experimental iniciou-se com a avaliação das características microbiológicas e físico-químicas do leite de ovelha e cabra utilizado para o fabrico do lote de queijos em estudo. Para o efeito, foram recolhidos 2 copos de cada tipo de leite sendo que um copo foi utilizado para as determinações microbiológicas e o outro copo foi utilizado para as determinações físico-químicas. A identificação das amostras de leite bem como as determinações a que foram sujeitas estão esquematizadas na figura 2.

3.2. Esquema de produção de queijinhos de orégãos

Na figura 5 está representado o esquema de produção dos queijos em estudo, nomeadamente do queijo de mistura e do queijo de mistura com orégãos, seguindo-se a descrição de cada etapa do processo do seu fabrico. Pela análise das figuras pode verificar-se que o queijo de mistura com orégãos é produzido a partir do queijo de mistura sendo que a adição dos orégãos ocorre antes da coagulação.

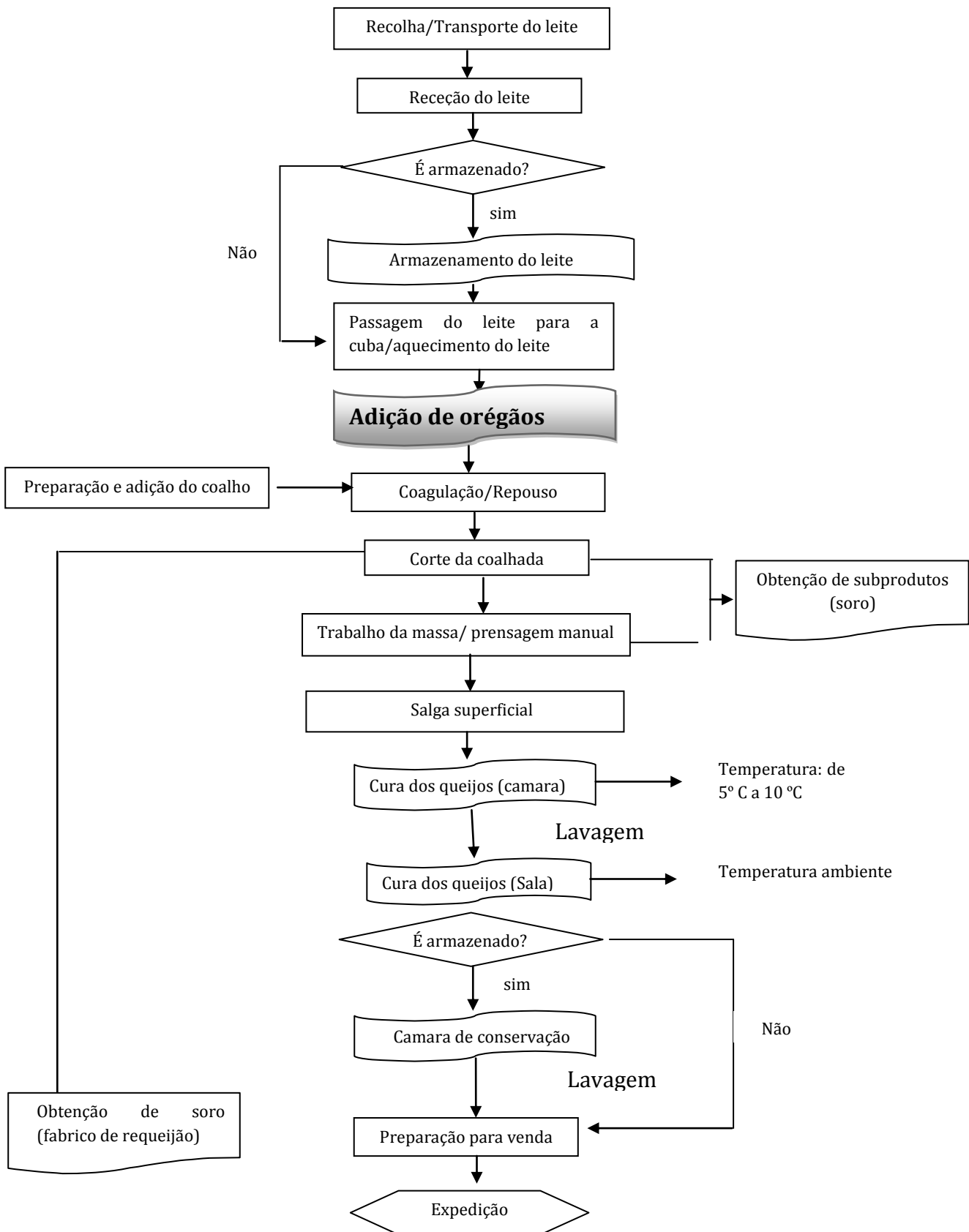


Figura 5 - Diagrama de fabrico dos queijinhos de orégãos.

Receção do leite: A matéria-prima para a laboração do queijo é recolhido para bilhas (inox) e transportado para a queijaria onde é recolhido para uma cuba também ela de inox onde é mantido à temperatura de 28°C-30°C.

Adição de orégãos: Na cuba de aquecimento são adicionados os orégãos não ionizados. Adiciona-se cerca de 2,6g/kg de queijo.

Coagulação: É a fase inicial da transformação de leite em queijo, e divide-se em duas fases: fase sólida (coalhada) e fase líquida (soro). Para que ocorra a coagulação adiciona-se o coalho de origem animal à matéria-prima.

Corte: com a finalidade de facilitar a expulsão do soro ainda retido faz-se a divisão da massa coalhada em pedaços que podem ser de diferentes dimensões.

Prensagem/moldagem: Nesta fase ocorre o esgotamento do soro, agregação e textura, para dar forma ao queijo através de uma ou mais viragens do produto. A massa encontra-se a uma temperatura compreendida entre 18°C e 20°C.

Salga: Depois de atribuída a forma do queijo é feita a salga superficial. O sal é adicionado na parte superior do queijo até que esta fique coberta de sal.

Cura: O tempo normal de cura do queijo é de cerca de 40 dias. Durante este período o queijo é mantido numa câmara de maturação à temperatura de 5 °C a 10 °C. Em seguida o queijo passa para uma câmara onde é matado à temperatura ambiente até à expedição.

Lavagem do queijo: cada lote de queijo é sujeito a uma lavagem por semana até ao tempo limite de cura.

3.3. Determinações Microbiológicas

3.3.1. Microrganismos indicadores

A determinação de microrganismos indicadores de higiene foi efetuada através do método automatizado TEMPO® da BIOMERIEUX. Neste teste é utilizado um frasco de meio de cultura e uma carta, específica de cada tipo de teste. O meio de cultura é semeado com a amostra a testar, e o conjunto é transferido para os 48 poços com três volumes diferentes da carta, graças ao TEMPO Filler. A carta é constituída por 3 séries de 16 poços (pequenos, médios e grandes) com uma diferença de volume de um log entre cada série de poços. A carta foi concebida de forma a simular o método de Número Mais Provável (NMP). A carta é, em seguida, hermeticamente selada, para garantir a manipulação posterior sem risco de contaminação.

Esta técnica foi utilizada para a determinação de *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, Enterobacteriaceae, microrganismos aeróbios mesófilos, coliformes totais, bolores e leveduras e bactérias lácticas.

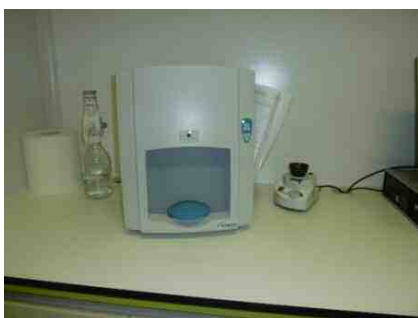


Figura 6 - TEMPO.

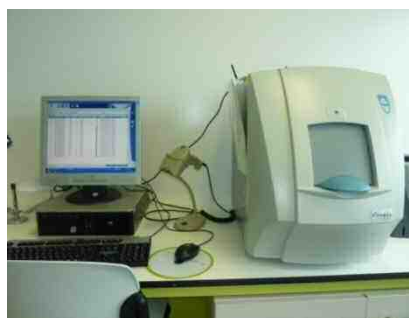


Figura 5 - TEMPO (reader).

3.3.2. Microrganismos Patogénicos

A determinação de microrganismos patogénicos, foi efetuada pelo método automatizado VIDAS. Na realização do presente trabalho fez-se a pesquisa de *Listeria monocytogenes* e de *Salmonella* spp.

Começou por se fazer a calibração do equipamento para a *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. sendo que o procedimento a utilizar é o mesmo para a pesquisa dos dois microrganismos. Utilizaram-se quatro barretes (duas para o calibrador (S1), uma para o controlo positivo (C1) e uma para o controlo negativo (C2)) e quatro cones.

A aplicação deste método automatizado é dividida em 3 fases: Pré-enriquecimento, enriquecimento e a realização do teste.

Listeria monocytogenes

Pré-enriquecimento: adicionou-se assepticamente 25g de amostra e 225ml de FRASER ½ (Biomerrieux) concentrado. Homogeneizou-se, no Stomacher e incubou-se a $30^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 – 26h.

Enriquecimento: Após a incubação, agitou-se e transferiu-se 0,1 ml da suspensão em 10 ml de caldo FRASER e incubou-se a $37^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 – 26h.

Realização do teste: Utilizou-se uma barrete e um cone para cada amostra, uma barrete e um cone para o controlo positivo e uma barrete e um cone para o ensaio em branco (controlo negativo). Pipetou-se, no primeiro poço de cada barrete 500 µl de amostra calibrador ou controlo consoante o caso. Colocaram-se os cones e as barretes no aparelho e iniciou-se a análise. Todas as etapas são geridas automaticamente pelo aparelho. Os resultados foram obtidos em aproximadamente 70 min.

Salmonella spp.

Pré-enriquecimento: adicionou-se assepticamente 25g de amostra e 225ml de água peptonada tamponada (APT) ou um volume de amostra para 9 volumes de caldo de pré-enriquecimento. Homogeneizou-se, no Stomacher e incubou-se a $36^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 16 – 20h.

Enriquecimento: Após a incubação, agitou-se e transferiu-se 0,1 ml da suspensão em 10 ml de caldo SX2 e incubou-se a $41,5^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 22 – 26h.

Realização do teste: Utilizou-se uma barrete e um cone para cada amostra, uma barrete e um cone para o controlo positivo e uma barrete e um cone para o ensaio em branco (controlo negativo). Pipetou-se, no primeiro poço de cada barrete 500 µl de amostra calibrador ou controlo consoante o caso.



Figura 8 - Mini VIDAS para pesquisa de microrganismos patogénicos.

Sempre que a pesquisa de um dos microrganismos patogénicos anteriormente mencionados é positiva, tem que ser feita a sua confirmação pela técnica clássica.

3.4. Determinações Físico-químicas

Para a realização das determinações físico-químicas o queijo foi triturado, sem casca, com a ajuda de uma picadora. Antes da determinação dos parâmetros físico-químicos pela técnica clássica foi feita a análise do queijo em Foodscan (FOSS) (figura 10).



Figura 6 - Foodscan - equipamento automatizada para determinação físico-química de alimentos.

Determinação da Proteína

O teor de proteína do queijo foi determinada de acordo com a norma AOAC 920.123 pelo método de kjeldahl que consiste na mineralização da amostra com ácido sulfúrico, em presença de um catalisador à base de cobre e selénio, para a digestão até que o carbono e o hidrogénio sejam oxidados. O azoto da proteína é reduzido e transformado em sulfato de amónia. Segue-se a alcalinização dos produtos da reação adicionando-se NaOH concentrado, destilação e titulação. O teor de proteína é determinado multiplicando o teor de azoto total pelo fator 6,38. O equipamento utilizado para esta determinação foi o Kjeltec 8400.

Determinação da Humidade

O teor de humidade do queijo foi determinado de acordo co a norma AOAC 926.08. Fez-se a secagem das amostras na estufa a uma temperatura aproximada de 105°C.

Colocou-se uma quantidade suficiente de areia no fundo da cápsula e introduziu-se na estufa, a 103 ± 5 °C durante uma hora. Após esse período a cápsula foi colocada no exsiccador para arrefecer e por fim foi pesada. Pesou-se cerca de 2g de amostra e

misturou-se à quantidade de areia contida na cápsula. Colocou-se na estufa a 65 °C durante 20h e a 105 °C durante 2 horas. Após este período retirou-se a amostra da estufa e colocou-se no exsiccador para arrefecer. Pesou-se a massa final da amostra.

Determinação da Gordura

O teor de matéria gorda livre foi determinado de acordo com a NP – 2105 (1983) pelo método de Van Gulik, consistindo na separação da matéria gorda por centrifugação no butirómetro de Van Gulik após dissolução das proteínas do queijo pelo ácido sulfúrico. A separação da matéria gorda é facilitada pela adição de 1 ml de álcool isoamílico. Os resultados foram expressos em percentagem.

Determinação do teor de Cinzas

O teor de cinzas foi determinado de acordo com a norma AOAC 935.42 pela incineração do queijo. Pesou-se, num cadinho de porcelana, 5g de amostra de queijo triturado e levou-se à chama. Seguidamente colocou-se na mufla a 550 °C “Over night” até ser obtido o peso constante.

Determinação dos Hidratos de Carbono

A determinação dos hidratos de carbono do queijo é feita por dedução através da seguinte fórmula:

$$\text{HC (g/100g)} = 100 - \% \text{proteína} - \% \text{ Gordura} - \% \text{Cinzas} - \% \text{ Perdas por secagem}$$

Determinação dos Cloretos

Os cloretos foram determinados de acordo com a norma AOAC 935.43. Pesou-se 3g de amostra seguida da extração dos cloretos por meio de água quente e precipitação destes por um excesso de nitrato de prata. Posteriormente executou-se a titulação do excesso de nitrato de prata com tiocianato de potássio em presença de alúmen férrico como indicador. Os resultados foram expressos em percentagem de massa de cloreto de sódio (% NaCl).

Determinação do Índice de peróxidos

O índice de peróxidos foi determinado após extração da gordura segundo o método descrito por *Bligh & Dyer* (1959), com as adaptações da NP:904 de 1987. Este é um método iodométrico, ou seja, é medido o iodo produzido a partir da decomposição do iodeto de potássio pelos peróxidos. A quantidade de amostra utilizado para a determinação do perfil de índice de peróxidos foi de 2 g de queijo.

Perfil de Ácidos Gordos

O método para a determinação do perfil de ácidos gordos foi adaptado de Shingfield *et al.* (2006). Fez-se a determinação do teor de ácidos gordos por extração lipídica cujo solvente foi a mistura (1:1) de éter etílico e éter de petróleo, seguida de metilação básica com KOH metanol com concentração de 2M neutralizado com ácido acético e respetiva quantificação por cromatografia gasosa com injeção *Split* e detetor de ionização de chama (GC SSL-FID). A quantidade de amostra utilizada para a determinação do perfil de ácidos gordos foi de 100 mg de queijo.

3.5. Prova de consumidores

A prova de consumidores foi realizada com o objetivo de analisar a preferência do consumidor relativamente ao queijo de mistura (ovelha e cabra) e ao queijo de mistura com orégãos.

As provas acima mencionadas foram realizadas no Laboratório de Análise Sensorial da CATAA, em ambiente controlado.

Para a realização da prova de consumidores foram efetuados alguns procedimentos preliminares como: seleção de consumidores, verificação dos critérios de qualidade da amostra e preparação da mesma bem como a preparação da sala de prova.

Seleção de consumidores

A CATAA dispõe de uma base de dados de consumidores, que inclui consumidores transversais a todos os produtos alimentares. Para caracterizar o seu perfil de consumo, estes preencheram um inquérito por via eletrónica.

Foram selecionados os indivíduos que no questionário indicaram que consumiam queijo frequentemente. Desses Indivíduos foram selecionados os 60 consumidores para a realização da prova, 30 mulheres e 30 homens com idades compreendidas entre os 18 e os 62 anos.

Verificação dos critérios de qualidade da amostra e preparação da mesma

Antes da realização da prova, os queijos foram submetidos à pesquisa de *Listeria monocytogenes* e *Salmonella spp.* pelo método automatizado mini VIDAS, atendendo aos critérios de segurança previstos no Regulamento (CE) N^o 2073/2005 de 15 de novembro alterado pelo Regulamento (CE) N^o 1441/2007 de 5 de dezembro em alguns pontos.

Preparação da amostra e da sala de prova

Para a realização da prova os queijos foram mantidos a uma temperatura de 12°C -14 °C, sendo que cerca de 30 minutos antes do seu início cortaram-se os cubos, de ambos os tipos de queijo, com cerca de 2 cm³ e foram colocados em pratos conservando a temperatura até serem servidos aos consumidores. Dado que a primeira prova era de escolha, colocaram-se as duas amostras dos dois tipos de queijo num prato com a identificação das mesmas na parte superior do prato para que o consumidor as pudesse identificar.

A sala de prova (figura 11) é composta por 10 cabines e antes do começo da prova colocou-se, em cada cabine, um copo com água e um guardanapo, uma esferográfica e a primeira ficha de prova (prova de classificação por pares). No início da prova acendeu-se a luz branca da cabine que permaneceu acesa até ao término da mesma, desta forma conseguiu-se identificar quais as cabines onde os consumidores estavam a realizar a prova.

Prova de consumidores

Numa primeira fase os consumidores provaram os dois tipos de queijo (queijo sem orégãos e queijo com orégãos) e indicaram o queijo que preferiram através da prova de classificação por pares (Anexo II). Na segunda fase da prova, os consumidores avaliam vários atributos, nomeadamente, o aspeto, a cor, a textura o sabor e a apreciação global (entregues ao consumidor um de cada vez) numa escala hedónica de 0 a 10 pontos em que 0 significa extremamente desagradável e 10 extremamente agradável (Anexos III e IV). Nessa mesma ficha de prova os consumidores responderam a duas questões abertas sobre o que mais gostaram e o que menos gostaram em cada um dos queijos em análise (Anexo V).

Para minimizar o efeito da ordem de apresentação das amostras, esta foi alternada de 10 em 10 consumidores.



Figura 10 - Laboratório de análise sensorial: A - sala de preparação de amostras; B - sala de provas.

3.6. Análise Estatística

O tratamento dos dados recolhidos relativos aos parâmetros microbiológicos, físico-químicos e análise sensorial foi efetuado utilizando o software SPSS versão 17. Uma vez que foram utilizadas duas amostras analisaram-se as médias dos parâmetros em estudo, utilizando testes de hipóteses de comparação de médias de duas amostras independentes. Os resultados são expressos com a média \pm desvio padrão e permitem verificar se existem ou não diferenças significativas entre os dois tipos de queijo. Para este estudo foi utilizado um nível de confiança de 95%.

4. Resultados e discussão

4.1. Matéria-prima

Os resultados relativos aos parâmetros microbiológicos dos dois tipos de leite estão representados na tabela 11. Verifica-se que tanto os valores de estafilococos coagulase positiva como os microrganismos aeróbios a 30°C são superiores no leite de cabra relativamente ao leite de ovelha.

Do ponto de vista da segurança alimentar, os microrganismos aeróbios a 30°C fornecem informação sobre a qualidade higiénica da matéria prima. Neste trabalho, os resultados obtidos para este grupo de microrganismos são de $4,9 \times 10^5$ ufc/ml para o leite de ovelha e de $4,9 \times 10^7$ ufc/ml para o leite de cabra. Estes resultados vão de encontro aos resultados obtidos por Ponciano (2010) em que se verifica que a

contagem de microrganismos aeróbios a 30°C é superior no leite de cabra relativamente ao leite de ovelha. Verifica-se ainda que, relativamente a este parâmetro, o leite de ovelha obedece às exigências definidas pelo Regulamento (CE) 1662/2006 que estabelece as regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal, e que indicam que a contagem em placas a 30°C deve ser $\leq 1,5 \times 10^6$ ufc/ml. O mesmo não acontece com o leite de cabra cuja contagem de microrganismos aeróbios a 30°C é superior a este valor.

A contagem de estafilococos coagulase positivos é um parâmetro importante dado que este é um microrganismo capaz de produzir várias enterotoxinas causadoras de sintomas de intoxicação nos humanos de variante intestinal quando contaminados por ingestão alimentar. Relativamente ao leite cru de cabra verifica-se que os resultados obtidos ($7,8 \times 10^3$ UFC/ml) não excedem os valores apresentados por Morgan *et al.* (2003) ($7,58 \times 10^4$ UFC/ml) para o leite de cabra português. No que respeita aos resultados obtidos relativamente ao leite cru de ovelha (10 UFC/ml) estes vão de encontro aos resultados apresentados por Fotou *et al.* (2011). Estes autores elaboraram um estudo cujo objetivo foi a caracterização microbiológica de leite cru de ovelha de algumas espécies. Neste estudo o valor da contagem de *Staphylococcus aureus* varia entre 10 e $3,4 \times 10^2$ ufc/ml.

Pode, também, constatar-se que em ambos os tipos de leite se verifica a ausência de microrganismos patogénicos.

Tabela 9 - Parâmetros microbiológicos relativos ao leite de cabra e de ovelha.

Parâmetros	Tipo de leite	Método automatizado (ufc/ml)
Estafilococos coagulase positiva	Ovelha	10
	Cabra	7,80E+03
Microrganismos a 30 °C	Ovelha	4,90E+05
	Cabra	4,90E+07
<i>Listeria monocytogenes</i>	Ovelha	Ausência em 25g
	Cabra	
<i>Salmonella</i> spp.	Ovelha	Ausência em 25g
	Cabra	

Os valores resultantes das determinações físico-químicas da matéria-prima encontram-se representados na tabela 12. No que respeita ao teor de proteína constata-se que os resultados obtidos (3,15% para o leite de cabra e 5,34% para o

leite de ovelha), apesar de mais baixos, não diferem em muito dos resultados apresentados por Kondyli *et al.* (2012) cujo teor de proteína para o leite de cabra é de 3,71% e para o leite de ovelha varia entre 6,11 e 6,48%, consoante a raça do animal. Relativamente ao teor de gordura, verifica-se que os resultados obtidos se encontram de acordo com os valores obtidos por Veiros (2005), entre 6,0 e 7,5% para o leite de ovelha e 4,1 e 4,5% para o leite de cabra.

Analisando a contagem de células somáticas pode constatar-se que o valor obtido é superior no leite de cabra (1137000 ml^{-1}) face ao leite de ovelha cujo valor é de 759000 ml^{-1} . De acordo com Paape *et al.* (2006), a contagem de células somáticas não é um procedimento aceite para avaliar a qualidade do leite de cabra uma vez que existem diversos fatores que contribuem para um aumento significativo da CCS em cabras nomeadamente, práticas de gestão, fase de lactação, paridade e vírus caprino de artrite-encefalite. No entanto, assumindo o limite legal de CCS estabelecido pela *Food and Drug Administration* (Estados Unidos), que é de $1,0 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$ para o leite de cabra e de ovelha, verifica-se que, neste trabalho experimental, o leite de ovelha obedece a este valor sendo que o mesmo não se verifica relativamente ao leite de cabra.

Tabela 10 - Parâmetros físico-químicos dos tipos de leite para a elaboração do queijo.

Amostra	Proteína (%)	Gordura (%)	Células somáticas x 1000 (ml^{-1})
Leite de cabra	3,15	4,18	1137
Leite de ovelha	5,34	7,44	759

4.2. Queijos com zero dias de tempo de cura

De acordo com o Regulamento (CE) 2073/2005 alterado pelo Regulamento (CE) 1441/2007 de 5 de dezembro em alguns pontos, e que estabelece os critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios, a contagem de estafilococos coagulase positivos deve ser aplicada durante o processo de fabrico, no momento em que se prevê que o número de estafilococos seja mais elevado. Assim, foi feita a contagem destes microrganismos antes de o queijo entrar na câmara de maturação. Pela contagem de estafilococos coagulase positivos nesta fase verifica-se que ambos os tipos de queijo obedecem aos critérios estabelecidos no regulamento, uma vez que todos os valores se encontram abaixo do limite mínimo (m).

Tabela 11 - Contagem de *Staphylococcus aureus* nos dois tipos de queijo e interpretação dos resultados.

Alimento	Plano de amostragem		Limites		Contagem (ufc/g)	Resultado
	n	C	m	M		
Queijo de mistura	5	2	10^4 ufc/g	10^5 ufc/g	7,05E+02	Satisfatório
					4,35E+02	
					2,05E+02	
					2,95E+02	
					3,50E+02	
Queijo de mistura com orégãos	5	2	10^4 ufc/g	10^5 ufc/g	4,90E+02	Satisfatório
					4,00E+02	
					3,55E+02	
					2,90E+03	
					2,05E+02	
n= número de unidades que constituem a amostra; c= número de unidades da amostra com valores entre m e M.						

Apesar de não se verificarem diferenças significativas entre os dois tipos de queijo, relativamente à *Escherichia coli* e aos *Staphylococcus aureus*, verifica-se que os valores destes microrganismos são superiores nos queijos de mistura com orégãos relativamente ao queijo de mistura como se pode verificar pela análise da figura 11. Esta situação pode dever-se ao facto das ervas aromáticas terem uma carga microbiana elevada, de acordo com McKee (1994).

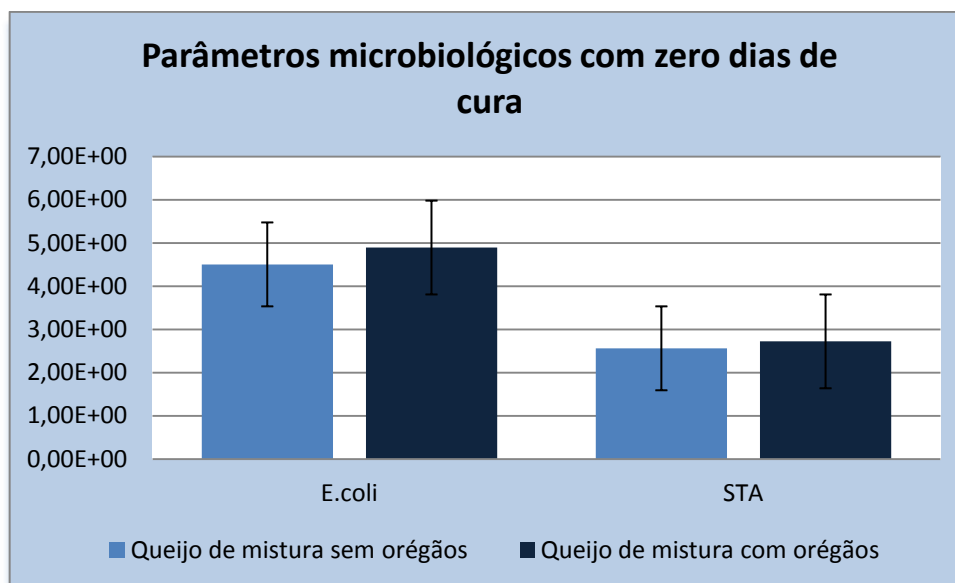


Figura 11 - Parâmetros microbiológicos do queijo antes de entrar na câmara de maturação.

4.3. Queijo em fim de cura

Parâmetros microbiológicos

Os valores dos parâmetros microbiológicos do queijo de mistura sem orégãos e do queijo de mistura com orégãos com 42 dias de cura estão representados na tabela 14.

Tabela 12 - Parâmetros microbiológicos do queijo com 42 dias de cura (\log_{10} UFC/g).

Parâmetro	STA	EB	TVC	TC	LAB	YM	E. coli
Queijo sem orégãos	3,16 ± 0,45 ^a	6,83 ± 0,83 ^a	8,41 ± 0,34 ^a	5,89 ± 0,38 ^a	8,47 ± 0,24 ^a	6,04 ± 0,59 ^a	4,41 ± 0,36 ^a
Queijo com orégãos	4,09 ± 0,33 ^b	6,31 ± 0,49 ^a	8,30 ± 0,13 ^a	8,06 ± 1,13 ^b	8,58 ± 0,18 ^a	6,00 ± 1,38 ^a	5,97 ± 0,31 ^b

(a,b) Média dos valores que na mesma coluna apresentam letras diferentes apresentam diferenças significativas

Iniciando a análise com o queijo de mistura sem a adição das ervas aromáticas verifica-se que os grupos de microrganismos presentes em maior número são as LAB cujo valor é de 8,47 \log_{10} UFC/g. Estes resultados vão de encontro aos resultados obtidos por Tzanetakis & Tzanetakis (2011) e Reis e Malcata (2011), que evidenciaram, nos seus trabalhos, que no queijo feito com leite cru de ovelha, no queijo feito com leite cru de cabra e o queijo de mistura, as LAB foram o grupo de microrganismos que mais se destacaram embora, neste trabalho, as contagens sejam mais elevadas do que os valores apresentados pelo autores. Segundo Awad *et al.* (2007), as LAB são bastante importantes na produção de queijo uma vez que

promovem a produção do ácido láctico que acelera a coagulação do leite auxiliando a sinérese do soro, contribuindo ainda para o sabor, corpo e textura do queijo. Neste trabalho experimental verifica-se, também, a presença bastante acentuada de microrganismos aeróbios a 30°C em que o valor é de 8,41 log₁₀ UFC/g.

Nestes queijos, o grupo de microrganismos presentes em menor número são os *Staphylococcus aureus*, cujo valor médio é de 3,16 log₁₀ UFC/g. Este valor é, em muito, inferior ao valor da contagem de *Staphylococcus aureus* dos queijos em estudo por Reis & Malcata (2011), como é o caso, por exemplo, do Queijo Picante da Beira Baixa cujo valor da contagem deste grupo de microrganismos, para 40 dias de cura, foi de 7 log₁₀ UFC/g. Relativamente ao Queijo da Serra da Estrela a contagem de *Staphylococcus aureus* varia entre 5,56 e 8,40 log₁₀ UFC/g. De acordo com Normanno *et al.* (2004), este grupo de microrganismos é indicador de segurança dos géneros alimentícios uma vez que é capaz de produzir várias enterotoxinas causadoras de sintomas de intoxicação nos humanos de variante intestinal quando contaminados por ingestão alimentar. Nesse sentido, o valor reduzido de log₁₀ UFC/g de *Staphylococcus aureus* é um indicador de segurança do queijo em estudo.

Estabelecendo, agora, a comparação entre as características microbiológicas dos nossos dois tipos de queijo verifica-se que, contrariamente ao que acontece no início da maturação, nos queijos em fim de cura há diferenças significativas no que se refere à contagem de *Staphylococcus aureus*, *E. coli* e coliformes totais. Para estes parâmetros a média dos valores é superior no queijo de mistura com orégãos.

Por sua vez, não se verifica a existência de diferenças significativas, entre os dois tipos de queijo, no que se refere a *Enterobacteriaceae*, Microrganismos aeróbios a 30°C, bolores e leveduras e bactérias lácticas apesar de, com exceção das bactérias do ácido láctico, a média dos valores ser superior no queijo de mistura com orégãos relativamente ao queijo de mistura.

Um dos fundamentos para estes resultados é a carga microbiana das ervas aromáticas. Segundo McKee (1994), têm sido feitos vários estudos que revelam a presença de elevadas cargas microbianas nas especiarias e ervas aromáticas que podem ser transmitidos aos alimentos. Esta situação pode ocorrer devido ao cultivo e armazenamento das especiarias em condições precárias de higiene.

Os estudos acima referidos foram feitos a vários tipos de ervas e especiarias, em vários países diferentes. Os tipos de microrganismos presentes dependem do tipo de ervas estudado.

De acordo com os dados revelados pelo mesmo autor verificou-se que, a utilização de micro-ondas para a esterilização das especiarias reduz a carga microbiana das mesmas. Esta pode ser uma das alternativas a adotar pela empresa para a diminuição da carga microbiana dos queijos de mistura com orégãos.

Uma outra alternativa que poderia ser adotada é a utilização de óleos essenciais de especiarias e plantas. Estes possuem atividade antimicrobiana contra *Listeria*

monocytogenes, *Salmonella* spp., *E. coli*, *Staphylococcus aureus* para níveis que podem variar de 0,2 a 10 µl/ml (Tajkarimi *et. al.* 2010).

Para além dos parâmetros apresentados na tabela 13 fez-se, também, a pesquisa de microrganismos de segurança nomeadamente *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. aos 10 queijos em que os resultados obtidos demonstram a ausência de microrganismos em 25g de amostra. Estes resultados são satisfatórios uma vez que satisfazem as exigências impostas pelo regulamento 1441/2007 que estabelece os critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios.

Parâmetros físico-químicos

Os valores dos parâmetros físico-químicos do queijo de mistura sem orégãos e do queijo de mistura com orégãos com 42 dias de cura estão representados na tabela 15.

Tabela 13 - parâmetros físico-químicos do queijo de mistura e do queijo de mistura com orégãos.

Parâmetros		Queijo de mistura sem orégãos	Queijo de mistura com orégãos
Proteína %	Média	20,87	21,83
	dp	1,72 (a)	0,42 (a)
Proteína (ES) %	Média	35,77	39,49
	dp	1,64 (a)	2,79 (b)
Gordura %	Média	27,05	23,65
	dp	1,02 (a)	2,66 (b)
Gordura (ES) %	Média	46,46	42,53
	dp	2,34 (a)	2,09 (b)
Humidade %	Média	41,66	44,51
	dp	3,83(a)	3,97(a)
Humidade IMG %	Média	57,08	58,21
	dp	4,74(a)	3,30(a)
Cinzas %	Média	4,96	4,60
	dp	0,37(a)	0,54(a)
Cinzas (ES) %	Média	8,54	8,28
	dp	0,95(a)	0,54(a)
NaCl %	Média	3,23	3,25
	dp	0,36 (a)	0,41(a)
NaCl (ES) %	Média	5,58	4,36
	dp	0,83(a)	1,24 (a)
HC %	Média	5,00	4,80
	dp	2,12(a)	1,30(a)
IP	Média	0,00	6,00
	dp	0,00(a)	1,00(b)

(a,b) Média dos valores que na mesma coluna apresentam letras diferentes apresentam diferenças significativas

O Despacho 10518/2007 estabelece os parâmetros a que deve obedecer o Queijo Amarelo da Beira Baixa (queijo de mistura feito a partir de leite cru de ovelha e cabra e adição de coalho animal). Este documento estipula que o teor de humidade do queijo isento de matéria gorda se encontre entre 54 e 69%, e o teor de gordura no extrato seco se encontre entre 45 e 60%. Os valores constantes neste documento corroboram os resultados obtidos neste trabalho experimental relativamente ao queijo de mistura sem orégãos uma vez que, neste produto, o teor de humidade isento de matéria gorda é de 57,08% e o teor de gordura no extrato seco é de 46,46%.

Passando a uma análise pormenorizada do queijo de mistura sem orégãos, verifica-se que os valores dos parâmetros físico-químicos obtidos neste trabalho se assemelham aos resultados apresentados por Freitas & Malcata (2000) embora com algumas diferenças. No que respeita ao teor de proteína no extrato seco constata-se que o valor obtido (35,77%) é semelhante ao teor de proteína obtido pelos autores relativamente ao Queijo Amarelo da Beira Baixa com 50 dias de cura (35,63%). O mesmo se verifica relativamente ao teor de NaCl em que o valor obtido neste trabalho (5,58%) é semelhante ao valor apresentado pelos autores (6,23%).

O mesmo não se verifica relativamente ao teor de gordura, em que o valor obtido neste trabalho (46,46%) é inferior, em cerca de 7%, ao teor de gordura apresentado pelo autor (53,94%). Também o teor de humidade isento de gordura é diferente dado que neste trabalho o valor é de 57,08% que é superior ao valor apresentado pelo autor (47,54%) (Freitas & Malcata, 2000).

Como se pode observar pelos resultados da tabela 13 relativos aos parâmetros físico-químicos da matéria-prima, verifica-se que o teor de gordura é inferior no leite de cabra (4,18%) relativamente ao leite de ovelha (7,44%) influenciando, assim, o teor de gordura do produto final, como se pode observar pelos resultados apresentados por Freitas & Malcata (2000), cujo teor de gordura no queijo de cabra (35-50%) é inferior ao teor de gordura do queijo de ovelha (45-60%). Dessa forma, podemos considerar que, na laboração de um queijo de mistura, a quantidade de leite de cabra e ovelha utilizados podem influenciar determinados parâmetros físico-químicos do produto final. Outro fator que justifica as alterações constatadas entre os resultados obtidos e os resultados apresentados por Freitas & Malcata (2000), é o facto de o Queijo da Beira Baixa ser produzido em pequenas explorações e de forma quase sempre artesanal tendo, dessa forma, uma grande variabilidade sazonal e entre produtores.

Estabelecendo, agora, uma análise paralela entre as características físico-químicas dos dois tipos de queijo, verifica-se que existem diferenças significativas em vários parâmetros nomeadamente no teor de proteína no extrato seco, no teor de Gordura no extrato seco e no índice de peróxidos.

No que respeita ao teor de gordura e de proteína no extrato seco verifica-se, pelos resultados apresentados por Freitas & Malcata (2000), que estes parâmetros não se alteram com o tempo de cura do queijo. Assim, a interação das ervas aromáticas com

o queijo não provocam alterações no teor de gordura. Nesse sentido, as diferenças apresentadas podem ser explicadas pela variabilidade que ocorre dentro do lote de queijos.

Relativamente ao índice de peróxidos verifica-se que, no queijo de mistura sem orégãos o valor é inferior a 0,2 mEq. O₂ activo/kg óleo o que significa que neste produto a oxidação lipídica é menor, não sendo detetada por este método. Por outro lado, o teor do índice de peróxidos no queijo de mistura com orégãos é de 6,00 ±1,00 mEq.O₂ activo/kg óleo o que significa que as ervas aromáticas contribuem para a oxidação lipídica do queijo, ocorrendo, desta forma a rancificação mais rápida do mesmo.

Segundo Miller (s.d.), o índice de peróxidos mede a oxidação primária dos lípidos sendo que o ranço é formado na oxidação secundária (que não foi medida).

Dado que os produtos analisados são queijos novos, com 42 dias de cura, estes estarão na fase de oxidação primária não tendo ainda sido formado o ranço uma vez que, na prova de análise sensorial, tratada a seguir, nenhum consumidor detetou o aroma a ranço em nenhum dos tipos de queijo.

Passando à análise do teor de ácidos gordos, na tabela 16 estão representados os ácidos gordos detetados nos dois tipos de queijo e as respetivas quantidades.

Tabela 14 - Média dos ácidos gordos (%) presentes em cada tipo de queijo.

Tipo de ácido	Queijo de mistura	Queijo de mistura com orégãos
Ácido tetradecenóico	0,21 ± 0,01 ^a	0,10 ± 0,04 ^a
Ácido butírico	1,08 ± 0,08 ^a	1,12 ± 0,13 ^a
Ácido capróico	1,39 ± 0,07 ^a	1,38 ± 0,14 ^a
Ácido caprílico	1,75 ± 0,14 ^a	1,66 ± 0,13 ^a
Ácido decenóico	0,19 ± 0,00 ^a	0,20 ± 0,00 ^a
Ácido Cáprico	6,16 ± 0,43 ^a	5,74 ± 0,66 ^a
Ácido laurico	3,72 ± 0,26 ^a	3,54 ± 0,38 ^a
Ácido mirístico	9,92 ± 0,21 ^a	9,28 ± 0,51 ^b
Ácido pentadecanóico	0,99 ± 0,19 ^a	0,98 ± 0,13 ^a
Ácido iso-hexadecanóico	0,91 ± 0,04 ^a	0,91 ± 0,05 ^a
Ácido palmitoleico	0,79 ± 0,00 ^a	0,74 ± 0,05 ^a
Ácido Palmítico	25,59 ± 1,40 ^a	25,24 ± 2,11 ^a
Ácido heptadecenóico	0,46 ± 0,04 ^a	0,52 ± 0,08 ^a
Ácido margárico	0,61 ± 0,02 ^a	0,68 ± 0,04 ^b
Ácido linoleico	2,22 ± 0,10 ^a	2,20 ± 0,19 ^a
Ácido oleico (C18:1 cis9 + C18:3)	4,67 ± 0,35 ^a	5,14 ± 0,93 ^a
Ácido oleico (18:17)	4,67 ± 0,35 ^a	5,14 ± 0,93 ^a
Ácido esteárico	11,74 ± 0,21 ^a	12,52 ± 1,49 ^a
Ácido linoleico conjugado	1,44 ± 0,19 ^a	1,64 ± 0,40 ^a
Ácido araquidónico	0,06 ± 0,13 ^a	0,06 ± 0,13 ^a
Ácido araquídico	0,48 ± 0,13 ^a	0,48 ± 0,08 ^a
Ácido heneicosanóico	0,05 ± 0,050 ^a	0,00 ± 0,000 ^a
Ácido docosahexanóico	0,15 ± 0,04 ^a	0,20 ± 0,00 ^a
Ácido Beénico	0,16 ± 0,08 ^a	0,20 ± 0,00 ^a

(a,b) Média dos valores que na mesma coluna apresentam letras diferentes apresentam diferenças significativas

Relativamente ao queijo de mistura sem orégãos verifica-se, pela análise da tabela, que os ácidos gordos presentes em maior quantidade são o ácido palmítico (C16:0) com uma percentagem de 25,99% seguindo-se o ácido esteárico com uma percentagem de 11,74%.

Os resultados obtidos por Mallatou *et al.* (2003) corroboram estes resultados uma vez que, também no trabalho desenvolvido pelos autores, o ácido gordo presente em maior quantidade, no queijo de mistura Teleme, é o ácido palmítico com uma percentagem de 17,45%. Relativamente ao ácido esteárico, este apresenta uma percentagem de 8,55%.

Estabelecendo, agora a comparação entre o perfil de ácidos gordos dos dois tipos de queijo verifica-se que existem diferenças significativas relativamente ao ácido mirístico e ao ácido margárico. No que respeita ao primeiro, este encontra-se em maior quantidade no queijo de mistura sem orégãos com uma percentagem de 9,92% relativamente ao queijo de mistura com orégãos cuja percentagem é de 9,28%. O contrário acontece com o ácido margárico que se apresenta em maior quantidade no queijo de mistura com orégãos (0,68%) relativamente ao queijo de mistura sem orégãos (0,61%).

De acordo com os resultados apresentados por André (2013), verifica-se que o teor de ácidos gordos no leite de ovelha é muito semelhante ao teor de ácidos gordos no queijo em fim de cura analisados neste trabalho experimental o que significa que estes não se alteram com o processo de cura do queijo. Dado tratarem-se de dois ácidos gordos saturados, estes são menos afetados pela oxidação lipídica o que significa que as diferenças verificadas não são justificadas por este facto. Nesse sentido, as diferenças que ocorrem entre os dois tipos de queijo são justificadas pela variabilidade que ocorre no lote de queijo.

Análise sensorial

Na tabela 15 está representada a média da pontuação atribuída, na prova de consumidores, aos diferentes atributos avaliados em cada tipo de queijo.

Tabela 15 - pontuação atribuída (média \pm DP) aos diferentes atributos do queijo.

Parâmetro	Preferência (%)	Apreciação global	Aspetto	cor	Sabor	Textura
Queijo sem orégãos	58	7,37 1,63 ^b	7,63 1,54 ^b	7,57 1,48 ^b	7,13 1,85 ^a	7,03 1,51 ^a
Queijo com orégãos	42	6,72 1,29 ^a	6,72 1,10 ^a	6,50 1,21 ^a	6,70 1,58 ^a	6,75 \pm 1,62 ^a

(a,b) Média dos valores que na mesma coluna apresentam letras diferentes apresentam diferenças significativas

Pela análise da tabela verifica-se, em primeiro lugar, que mais de metade dos consumidores que participaram na prova de análise sensorial (58%) preferem queijo de mistura sem orégãos relativamente ao queijo de mistura com orégãos.

Em seguida fez-se a avaliação dos atributos do queijo em que se verifica a existência de diferenças significativas, entre os dois tipos de queijo, relativamente à apreciação global, cor e aspeto. Relativamente ao sabor e textura não existem diferenças significativas entre os dois tipos de queijo.

A cor é um aspeto muito importante uma vez que pode influenciar a perceção do consumidor na aceitação do queijo Valente, (2012). Verifica-se que o queijo de mistura sem orégãos apresenta uma média de pontuação superior (7,57) ao queijo de mistura com orégãos (6,50). Alguns consumidores que participaram na prova consideram que, relativamente à cor, o queijo é demasiado escuro e que o verde dos orégãos não se destaca.

A textura é um atributo com bastante importância nos alimentos sólidos, uma vez que traduz várias propriedades mecânicas, geométricas e de superfície que resultam da interação molecular entre os diferentes constituintes do alimento e que são percecionáveis principalmente pelo tato, mas também pela visão e pela audição (Valente, 2012). Apesar de não se verificar a existência de diferenças significativas entre os dois tipos de queijo, relativamente a este atributo, a média das pontuações obtidas é superior no queijo de mistura sem orégãos (7,03) relativamente ao queijo de mistura com orégãos (6,75).

Pelas apreciações dadas nas perguntas de resposta aberta, alguns consumidores consideraram a cor como o atributo que menos apreciaram no queijo de mistura com orégãos apesar de não especificarem que características da cor rejeitaram. A textura foi também um dos atributos considerado menos apreciado pelos consumidores relativamente ao queijo de mistura com orégãos. Estes consideraram que é pouco consistente e que apresenta grumos tornando-a, assim, desagradável.

Valente (2012) avaliou os dois atributos mencionados anteriormente em conjunto e verifica-se uma boa aceitação pelo consumidor com uma média de pontuação de 4,3 numa escala hedónica de 5 pontos o que vai de encontro aos resultados obtidos neste trabalho experimental.

Outro atributo avaliado na prova de consumidores foi o sabor. Este depende basicamente das características das matérias-primas utilizadas na sua formulação, e na forma como interagem entre si no produto. As alterações no sabor podem alertar o consumidor para um pior estado de salubridade de um determinado alimento (Valente, 2012). Relativamente a este atributo, as pontuações atribuídas aos dois tipos de queijo não apresentam diferenças significativas entre elas apesar de a média da pontuação atribuída ao primeiro queijo (7,13) ser superior à média da pontuação atribuída ao segundo (6,70). Estes dados podem ser justificados pelas apreciações

dadas nas perguntas de resposta aberta sendo que alguns consumidores consideraram o sabor do queijo de mistura com orégãos muito intenso podendo tornar-se enjoativo.

O aspeto de qualquer produto alimentar constitui um atributo fundamental para o seu sucesso comercial, já que é a primeira impressão causada no consumidor e influencia a sua tomada de decisão no momento da escolha e compra de um produto para a satisfação das suas necessidades (Hansen *et al.*, 1995). Pela análise dos resultados relativos a este atributo verifica-se que existem diferenças significativas entre a pontuação atribuída ao queijo de mistura sem orégãos (7,63) e ao queijo de mistura com orégãos (6,72). No que respeita às questões colocadas ao consumidor verifica-se que, apesar de haver consumidores que consideraram o aspeto do queijo de mistura com orégãos agradável, parte dos consumidores consideraram que o atributo que menos gostaram foi o aspeto não discriminando as características do aspeto que rejeitam.

Apesar destas considerações, o facto do aspeto apresentar pontuação positiva no teste hedónico vai de encontro aos resultados obtidos por Valente (2012), que elaborou uma prova de consumidores relativamente ao queijo de ovelha com orégãos em que se verificou que este atributo foi bem aceite pelo consumidor, também com uma pontuação positiva de 4,3 numa escala hedónica de 10 pontos.

A apreciação global do produto resulta na avaliação final da combinação de todos os atributos descritos anteriormente. Neste estudo verifica-se que a média do valor da apreciação global é superior no queijo de mistura sem orégãos relativamente ao queijo de mistura com orégãos apesar de estes últimos terem, também eles, obtido uma pontuação positiva na escala hedónica do teste (6,72).

Apesar de os consumidores preferirem o queijo de mistura sem orégãos relativamente ao queijo de mistura com orégãos, este último obteve pontuações positivas em todos os atributos do queijo pelo que não é rejeitado pelo consumidor. Esta informação vai de encontro aos resultados obtidos por Valente (2012), que constatou que, dentro dos 3 novos queijos analisados, o queijo de ovelha com orégãos foi o que obteve melhor pontuação nos atributos analisados na prova de consumidores.

5. Considerações finais

Pela realização do presente trabalho, e indo de encontro aos objetivos do mesmo pode concluir-se que:

- Relativamente aos parâmetros microbiológicos a contagem de *Staphylococcus aureus* antes da entrada do queijo na camara de maturação encontram-se dentro dos limites impostos pela legislação em vigor. Este facto verifica-se para os dois tipos de

queijo. Constatou-se, também, que na sua generalidade, a carga microbiana contida no queijo de mistura com orégãos é superior ao queijo de mistura sem orégãos pelo que devem ser adotadas medidas tais como o tratamento das ervas aromáticas por micro-ondas ou a utilização de óleos essenciais de ervas aromáticas, de forma a que esta carga microbiana seja reduzida e assim aumentar a qualidade microbiológica do produto.

- Dado que as características físico-químicas do queijo não se alteram com a maturação do mesmo, a adição de ervas aromáticas não interfere na alteração destas características. Desta forma as alterações verificadas relativamente ao teor de proteína e de gordura no extrato seco são justificadas pela variabilidade que ocorre dentro do lote. Verifica-se também que a presença de ervas aromáticas contribui para a rancificação do queijo.
- Relativamente à prova de consumidores verificou-se que 58% dos consumidores inquiridos preferem o queijo de mistura sem orégãos relativamente ao queijo de mistura com orégãos. Para corroborar este facto verificou-se, também, que todos os atributos avaliados obtiveram, na escala hedónica de 10 pontos, pontuação superior no queijo de mistura sem orégãos relativamente ao queijo de mistura com orégãos apesar de as pontuações serem positivas neste último.

Dado que as ervas aromáticas conferem ao queijo elevadas cargas microbianas, julga-se oportuno referir que, numa perspetiva futura, as ervas aromáticas, no queijo, devem ser substituídas pelos seus óleos essenciais de forma a serem mantidas as características sensoriais desejadas e sejam garantidos os critérios microbiológicos estipulados na legislação em vigor. Por outro lado, no caso de se pretender manter o uso das ervas aromáticas, estas devem ser submetidas a tratamentos de esterilização (ionização) de forma a reduzir a sua carga microbiana.

Referencias Bibliográficas

- Adams, M. R. & Moss, M. O. 2008. Food microbiology. (3th ed.): The royal Society of Chemistry. Cambridge, UK, pp. 184-270.
- Alfa-Laval. 1990. Manual de Industrias Lacteas. Ed Alfa – Laval.
- Almli, V. L., Næs, T., Enderli, G., Sulmont-Rossé, C., Issanchou, S., Hersleth, M. 2011. Consumers' acceptance of innovations in traditional cheese. A comparative study in France and Norway. *Appetite*. 57: 110-120.
- Alvarenga, N. B. M. G. 2008. Introdução da Tecnologia de Congelação na Produção de Queijo de Ovelha. Tese de doutoramento. Universidade Técnica de Lisboa.
- André, G. S., 2013. Caracterização dos parâmetros qualitativos do leite produzido pelo efetivo Ovino da Escola Superior Agrária de Castelo Branco. Relatório de estágio. Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco.
- AOAC (2005). Method nº 920.123. Determination of the total nitrogen content of hard, semihard, and processed cheese by kjeldahl analysis. Association of official Analytical chemists, Washington.
- AOAC (1990). Method nº 926.08. In official Methods of Analysis, 15ª Edição. . Association of official Analytical chemists, Washington.
- AOAC (1990). Method nº 935.42. Ash of Cheese. Gravimetric method. Association of official Analytical chemists, Washington.
- AOAC (2002). Method nº 935.43. Chloride (Total) in cheese. Association of official Analytical chemists, Washington.
- Apostolidis, E., Kwon, Y. I., Shetty, K. 2008. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by oregano, cranberry and sodium lactate combination in broth and cooked ground beef systems and likely mode of action through proline metabolism. *International Journal of Food Microbiology*. 128: 317 - 324
- Awad, S., Ahmed, N., Soda, M. E. 2007. Evaluation of isolated starter lactic acid bacteria in Ras cheese ripening and flavour development. *Food Chemistry*. 104: 1192-1199.
- Bárcenas, P., Pérez Elortondo, F.J., Albisu, M. 2003. Comparison of free choice profiling, direct similarity measurements and hedonic data for ewes' milk cheeses sensory evaluation. *International Dairy Journal*. 13: 67-77.
- Barros, C. M. V., Cunha, C. R., Gallina, D. A., Viotto, L. A., Viotto W. H. 2006. Efeito do uso de cultura adjunta (*Lactobacillus helveticus*) na proteólise, propriedades viscoelásticas aceitação sensorial de queijo prato *LIGHT*. *Ciências e tecnologias alimentares*. 26:11-18.
- Bilgh, E. G., Dyer, W. J. 1959. A Rapid Method of Total Lipid Extration and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and physiology*. 37: 911-917.
- Bishop, R. 2006. Cheese innovation. Market driven vs. regulatory standards. *Australian Journal of Dairy Technology*, 61(2), 196-197.
- Cavaco, C. 1995. Famílias agrícolas: diversidade de ocupações e rendimentos. In: 20 valores do mundo rural.: Ministério da Agricultura. Lisboa, pp. 74-78.
- Chamorro, M. C., Losada, M. M., 2002. El análisis sensorial de los quesos. Colección: Tecnología de alimentos. Madrid. 1ª edición.

- Codex Standard 283. 1978. *Codex general standard for cheese*. Codex Alimentarius, FAO/WHO. Rome.
- Cruz, A. L., Simões, J., Vaz, T. N. 2010. A inovação das agroindústrias da região do Algarve. XII colóquio Ibérico. Faculdade de letras. Porto.
- Diretiva 92/46/CEE do Conselho de 16 de junho de 1992 que adota as normas sanitárias relativas à produção de Leite cru, leite tratado termicamente e de produtos à base de leite e à sua colocação no mercado.
- Downes, F. P. & Ito, K. 2001. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. (4th ed.). Washington: American Public Health Association.
- Ercan, D., Korel, F., Yüceer, Y. K., Kınık, Ö. 2011. Physicochemical, textural, volatile, and sensory profiles of traditional Sepet cheese. *J. Dairy Sci.* 94 :4300–4312.
- Feitosa, T., Borges, M. F., Nassau, R. T., Azevedo, E. H. F., Muniz, C. R. 2003. pesquisa de *Salmonella* spp., *Listeria* spp. e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijos produzidos no estado do rio grande do norte. *Ciência Tecnológica Alimentar*. 23: 162-165.
- Fotou, K., Tzora, A., Voidarou, Ch., Alexopoulos, A., Plessas S., Avgeris, I., Bezirtzoglou, E., Akrida-Demertzi, K., Demertzis, P.G. 2011. Isolation of microbial pathogens of subclinical mastitis from raw sheep's milk of Epirus (Greece) and their role in its hygiene. *Anaerobe*. 17: 315-319.
- Fox, P. F., 2000. *Dairy Processing improving quality*. Edited by Gerrit Smit, CRC Press LLC, Boca Raton, USA.
- Freitas, C., Malcata, F. X. 2000. *Microbiology and Biochemistry of Cheeses With Appellation d'Origine Protégée and Manufactured in the Iberian Peninsula from Ovine and Caprine Milk*. Escola Superior de Biotecnologia. Universidade Católica Portuguesa.
- Gomes, P. A. C. 2011. *Evolução das características físico-químicas e da maturação em Queijo Amarelo e Queijo Picante da Beira Baixa DOP: - Composição, frações azotadas e ácidos gordos livres*. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Alimentar. Instituto Superior de Agronomia Universidade Técnica de Lisboa.
- Grygorczyk, A., Lesschaeve, I., Corredig, M., Duizer, L. 2013. Extraction of consumer texture preferences for yogurt: Comparison of the preferred attribute elicitation method to conventional profiling. *Food quality and preference*. 27:215-222.
- Guterres P., Pinto de Andrade L. P., Miguel Pintado, C. (2013). Microbiological profile of artisanal cheese prepared from raw milk with oregano herbs. *MicroBiotec'13*. Portuguese Congress of Microbiology and Biotechnology. Aveiro, 6-8 dezembro. Poster 371.
- Hayaloglu, A. A., Farkye N. Y. 2011. Cheese with Added Herbs Spices and Condiments. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. 783–789.
- Hansen, T.; Knochel, S., Juncher, D. & Bertelsen, G. 1995. Storage characteristics of sous vide cooked roast beef. *International Journal of Food Science and Technology*. 30: 365-378.
- Hersleth, M., Ueland, O., Allain, H., Naes, T. 2005. Consumer acceptance of cheese, influence of different testing conditions. *Food Quality and Preference*. 16:103-110.
- Ismail, B., Haffar, I., Baalbaki, R., Henry, J. 2001. Development of a total quality scoring system based on consumer preference weightings and sensory profiles: application to fruit dates (Tamr). *Food Quality and Preference*. 12:499-506.
- Justus, A., Ferrari, L.M.B., Rodrigues, L.R., Ferreira, M.L., Pinto S. M., Abreu, L. R. 2011. Caracterização física e química de queijos parmesão ralado comercializados na região sul de Minas Gerais. *Rev. Inst. Latic*. "Cândido Tostes. 66: 16-24.

- Kemp, S. E., Hollowood, T., Hort, J. 2009. *Sensory Evaluation: A practical Handbook*. USA. 1st. edition.
- Kondyli, E., Svarnas, C., Samelis, J., Katsiari, M.C. 2012. Chemical composition and microbiological quality of ewe and goat milk of native Greek breeds. *Small Ruminant Research*. 103: 194-199.
- Lahtinen, S., Ouwehand, A. C., Salminen, S., Wright, A. V., 2012. *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*. 4^a edição. Taylor & Francis Group, LLB. USA.
- Lecuit, M. 2007. Human listeriosis and animal models. *Microbes and Infection*. 9: 1216 – 1225.
- Little, C.L., Rhoades, J. R., Sagoo, S. K., Harris, J., Greenwood, M., Mithani, V., Grant, K., McLauchlin, J. 2007. Microbiological quality of retail cheeses made from raw, thermized or pasteurized milk in the UK. *Food Microbiology*. 25: 304–312.
- Mallatou, H., Pappa, E., Massouras, T. 2003. Changes in free fatty acids during ripening of Teleme cheese made with ewes', goats', cows' or a mixture of ewes' and goats' milk. *International Dairy Journal*. 13: 211-219.
- Martins, A. P. L.; Vasconcelos, M. M. 2003. A qualidade do queijo fabricado com leite cru. Efeito dos principais fatores tecnológicos. *Pastagens e Forragens*, vol 24/25, 15-33.
- Martins, S. C. S. G., Júnior, V. R. R., Caldeira, L. A., Reis, S. T., Barros, I. C., J. A. Oliveira, Santos, J. F., Silva G. W. V. 2012. Rendimento, composição e análise sensorial do queijo minas frescal fabricado com leite de vacas mestiças alimentadas com diferentes volumosos. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 41: 993-1003.
- McKee, L. H. 1994. *Microbial Contamination of Spices and Herbs: A Review*. Department of Home Economics. 28: 1-11.
- Menrad, K. 2004. Innovations in the food industry in Germany. *Research policy*. 33: 845-878.
- Miller, M. s.d. *Oxidation of Food Grade Oils*. Plant & Food Research.
- Morgan, F., Massouras, T., Barbosa, M., Roseiro, L., Ravasco, F., Kandarakis, I., Bonnin, V., Fistakoris, M., Anifantakis, E., Jaubert, G., Raynal-Ljutovac, K. 2003. Characteristics of goat milk collected from small and médium enterprises in Greece, Portugal and France. *Small Ruminant Research*. 47: 39-49.
- Moussa, O. B., Mankai, M., Barbana, C., Hassouna, M., Alvarenga, N. B. e Canada, J. (2008). Influence of culture conditions on esterase activity of five psychrotrophic Gram negative strains selected from raw Tunisian milk. *Annals of Microbiology*. 58: 53-59.
- Nájera, A. L., R. Barrón, L. J. e Barcina, Y. (1993). Revisión: comparación de la fracción lipídica del queso de vaca, oveja y cabra, y la influencia sobre su calidad. *Revista Española de Ciencia y Tecnología de los Alimentos* 334, 345-363.
- Normanno, G., A. Firinu, S. Virgilo, G. Mula, A. Dambrosio, A. Poggiu, L. Decastelli, R. Mioni, S. Scuota, G. Bolzoni, E. D. Giannatale, A. P. Salinetti, M. Bartoli, F. Zuccon, T. Pirino, S. Sias, A. Parisi, N. C. Quaglia, G. V. Celano. 2004. Coagulase-positive Staphylococci and *Staphylococcus aureus* in food products marketed in Italy. *International Journal of Food Microbiology*. 98: 73– 79.
- Noronha, J. F.; Santos, C.; Malta, M. C.; Azevedo, H. P.; Henriques, C. S.; Madanelo, J. P.; Cabral, A. C.; Almeida, J. L.; Oliveira, M. J.; Amaral, M. S.; Rodrigues, R. M.; Sampaio, F. F.; Branco, J. F.; Melo, A. A. & Guerra, J. (2005). *Boas práticas de fabrico em queijarias tradicionais*. Escola Superior Agrária de Coimbra. Coimbra, Portugal, pp. 27-32.
- Paape, M. J., Wiggans, G.R., Bannerman, D. D., Thomas, D.L., Sanders, A.H., Contreras, A., Moroni, P., Miller, R.H. 2006. Monitoring goat and sheep milk somatic cell counts. *Small Ruminant Research*. 68: 114–125.

- Pereira, C. I., Graça, J. A., Ogando, N. S., Gomes, A. M. P., Malcata, F. X. 2010. Influence of bacterial dynamics upon the final characteristics of model Portuguese traditional cheeses. *Food Microbiology*. 27: 339-346.
- Pereira, C. L., Franco, M. I., Gomes, A. M. P., Malcata, F. X. 2011. Microbiological, rheological and sensory characterization of Portuguese model cheeses manufactured from several milk sources. *LWT – Food Science and Technology*. 44: 2244-2252.
- Ponciano, R. J. F. 2010. Avaliação da qualidade higiénica da produção de leite de pequenos ruminantes e de queijo fresco da região do Rabaçal. Dissertação de Mestrado em Segurança Alimentar. Faculdade de Medicina Veterinária. Lisboa.
- Ramirez, E. P. G., 2010. Caracterización de la composición físico química del queso fresco elaborado artesanalmente em sehuálca, município de Minatitlán, Veracruz. Facultad Medicina Veterinaria y zootecnia.
- Ray, B. (2004). *Fundamental food microbiology*. (3th ed.). Boca Raton: CRC Press.
- Reis, P. M., Domingos, T. D., Freitas, A. C., Macedo, A. C., Trigueiros, J. J. B. L., Malcata, F. X. s.d. PROdução, por Tecnologias Optimizadas, de LACTicínios Tradicionais certificados. Prolactis.
- Reis, P. J. M., Malcata, F. X. 2011. Current state of Portuguese dairy products from ovine and caprine milks. *Small Ruminant Research*. 101: 122 – 133.
- Ryffel, S., Piccinali, P., Butikofer, U. 2008. Sensory descriptive analysis and consumer acceptability of selected Swiss Goat and Sheep Cheeses. *Small Ruminant Research*. 79: 80-86.
- Shingfield, K.; Reynolds, C.; Hervás, G.; Griinari, J.; Grandison, A. & Beever, D. (2006). Examination of the Persistency of milk fatty acid composition responses to fish oil and sunflower oil in the diet of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 89, 714-732.
- Silva, E. R., Boechat, J. U. D., Martins, J. C. D., Ferreira, W. P. B., Amanda Pimenta Siqueira, A. P. S., Silva, N. 2004. Hemolysin production by *Staphylococcus aureus* species isolated from mastitic goat milk in Brazilian dairy herds. *Small Ruminant Research*. 56: 271-275.
- Soncini, G., L. Valnegri. 2004. Analysis of bulk goats' milk and milk – filters from Valtellina and valchiavenna (Lambardy prealps) for the presence of *Listeria* species. *Small Ruminant Research*. 58: 143-147.
- Torkar, K. G., Vengust, A. 2008. The presence of yeasts moulds and aflotoxin M₁ in raw milk and cheese in Slovenia. *Food Control*. 19: 570-577.
- Tajkarimi, M.M., Ibrahim, S.A., Cliver, D.O. 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*. 21: 1199-1218.
- Tornadijo, M. E., García, M. C., Fresno, J. M., Carballo J. 2001. Study of Enterobacteriaceae during the manufacture and ripening of San Simoñ cheese. *FoodMicrobiology*. 18: 499-509.
- Tzanetaki, E. L., Tzanetakis, N. 2011. Microbiological characteristics of Greek traditional cheeses. *Small Ruminant Research*. 101: 17-32.
- Valente, R. L. 2012. Desenvolvimento de novos produtos tendo por base o queijo de ovelha curado: avaliação da sua estabilidade e aceitação pelo consumidor. Mestrado em segurança alimentar. Universidade técnica de lisboa Faculdade de Medicina Veterinária.
- Vaz, T. N. 2009. Innovation for Development; Universidade do Algarve.

Veiga, S. N.T. 2012. Qualidade microbiológica e físico-química de queijos comercializados em Portugal. Dissertação de mestrado em segurança alimentar. Universidade técnica de lisboa Faculdade de Medicina Veterinária. Lisboa.

Veiros, C. B. R. 2005. Contributo para a Caraterização do Queijo Terrincho: Estudo da proteólise e Avaliação da autenticidade por HPLC/UV. Dissertação de Mestrado. Porto.

Yucel, N., Ulusoy, H. 2006. A Turkey survey of hygiene indicator bacteria and *Yersinia enterocolitica* in raw milk and cheese samples. *Food Control*. 17: 383-388.

Walker, R. L., Kinde, H., Anderson R. J., Brown A. E. 2000. Comparison of VIDAS enzyme-linked fluorescent immunoassay using Moore swab sampling and conventional culture method for *Salmonella* detection in bulk tank milk and in-line milk filters in California dairies. *International Journal of Food Microbiology*. 67: 123-129.

Despacho 10518/2007 que estabelece os parâmetros a que deve obedecer o Queijo Amarelo da Beira Baixa.

Regulamento de execução (CE) nº 562/2013 de 14 de junho que aprova uma alteração menor ao caderno de especificações relativo a uma denominação inscrita no registo nas denominações de origem protegidas e das inscrições geográficas protegidas (Queijo Serra da Estrela DOP).

Regulamento (CE) nº 1662/2006, de 06.11. que altera o Regulamento nº 853/2004, que estabelece as regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal.

Regulamento (CE) nº 2073/2005 de 15.11. relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios.

Regulamento (CE) nº 1441/2007, de 05.12. que altera o regulamento 2073/2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios.

Regulamento (CE) nº 509/2006 de 20.03. relativo às especialidades tradicionais garantidas dos produtos agrícolas e dos géneros alimentícios.

Regulamento (CE) nº 510/2006 de 20.03. relativo à proteção das indicações geográficas e denominações de origem de produtos agrícolas dos géneros alimentícios.

Portaria 73/90 de 1 de fevereiro que estabelece as características, Classificação, acondicionamento, rotulagem e condições de conservação do queijo.

NF XP V 09-500. Avril 2009. Analyse sensorielle. Directives générales pour la réalisation d'épreuves hédoniques effectuées avec des consommateurs dans un espace contrôlé.

NP 2105 (1983). Queijos. Determinação do teor de matéria gorda. Técnica de Van Gulic. Instituto dos mercados Agrícolas e da Indústria Agroalimentar. Lisboa.

WHO. (2008). Foodborne disease outbreaks: guidelines for investigation and control. Geneva: World Health Organization.

www.biomerieux.pt consultado em 27-07-2013

Anexos

**Anexo I - Poster, Microbiological Profile of Artesanal Cheese Prepared
From Raw Milk With Oregano Herbs**

INTRODUCTION

For commercial purposes, herbs, spices, vegetables, fruits, and other condiments are being added to cheese to diversify flavor or presentation.

In line with this, the effect of oregano (*Origanum vulgare*) herbs addition on the microflora of cheese prepared from raw milk (mixture of sheep and goat milks) was assessed.

MATERIAL AND METHODS

Cheeses

- Traditional cheese
- Cheese with oregano herbs



Raw milk mixture: sheep and goat milks

Cheesemaking: artisanal practices of Beira Baixa

Ripening period: 42 days



Microbiological analysis

TEMPO (bioMérieux France),

an automated most-probable-number method, was used to assess the microbiological profile, based on the following parameters:

- LAB: Lactic acid bacteria
- TVC: Total viable counts (mesophilic aerobic)
- TC: Total coliforms
- EB: Enterobacteria
- YM: Yeasts and moulds
- EC: *Escherichia coli*
- STA: Staphylococci



MICROBIOLOGICAL PROFILE OF ARTISANAL CHEESE PREPARED FROM RAW MILK WITH OREGANO HERBS

R. Guterres¹, L. Pinto de Andrade^{1,2,3}, Miguel Pintado, C.²

¹Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Castelo Branco

²Centro de Estudos de Recursos Naturais, Ambiente e Sociedade

³Associação Centro de Apoio Tecnológico Agro-Alimentar de Castelo Branco (cmiguel@cataa.pt)

RESULTS AND DISCUSSION

The microbial loads of Portuguese traditional cheeses are high, since they are manufactured from raw milk and are not inoculated with standardized starter cultures.



Figure 1. Microbiological profile of traditional cheese and cheese with oregano herbs.

(Mean and standard deviation of five replicates, * = means are significantly different, p < 0.05)

Lactic acid bacteria and mesophilic microorganisms were the predominant groups in both artisanal cheeses.

Similar loads of lactic acid bacteria, mesophilic microorganisms, enterobacteria, and yeasts and moulds were found in traditional cheese and cheese with oregano.

The addition of *Origanum vulgare* increased total coliforms, *Escherichia coli*, and staphylococci counts, probably due to the microbiological quality of the herbs.



Anexo II - Ficha Utilizada na Prova de Classificação Por Pares



Nome: _____ Sexo: ____ Idade: _____

E_mail: _____ Data: _____

Prove as amostras da esquerda para a direita

Qual prefere? _____ (escreva o código se faz favor)

Obrigada pela sua colaboração.

Anexo III - Ficha de Avaliação dos Atributos do Queijo Sem Orégãos



Código da amostra: 467

Cabina: _____ Data: ____/____/____

Nome: _____ Sexo: _____ Idade: _____

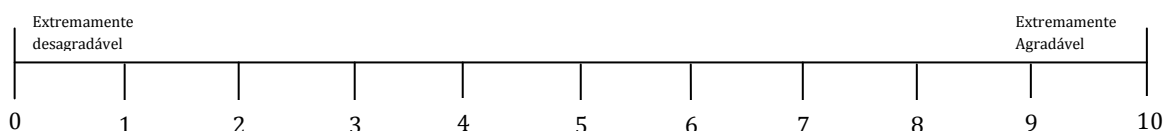
E_mail: _____

Após provar o produto, circunde nas seguintes escalas o número que melhor representa a sua sensação.

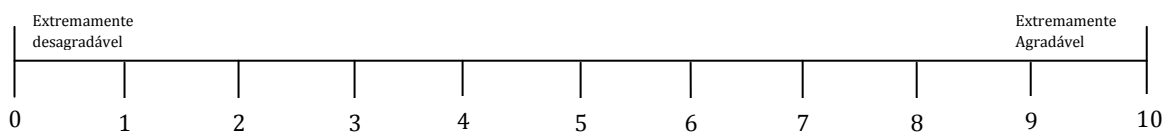
Aspeto



Cor



Textura (sensação Global na boca)



Sabor



Apreciação Global



Anexo IV - Ficha de Avaliação dos Atributos do Queijo Com Orégãos



CATAA
CENTRO DE APOIO TECNOLÓGICO
AGRO ALIMENTAR

Código da amostra: 433

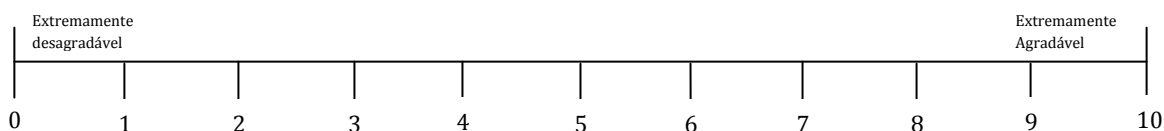
Cabina: _____ Data: ____/____/____

Nome: _____ Sexo: _____ Idade: _____

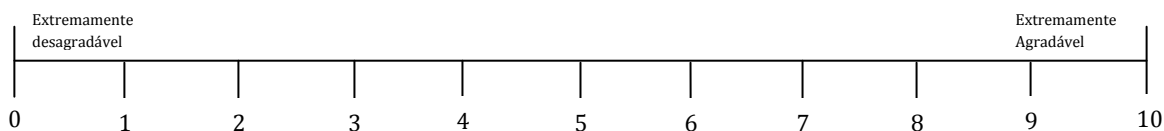
E_mail: _____

Após provar o produto, circunde nas seguintes escalas o número que melhor representa a sua sensação.

Aspeto



Cor



Textura (sensação Global na boca)



Sabor



Apreciação Global



Anexo V - Questões Abertas Relativas aos Atributos do Queijo



CATAA
CENTRO DE APOIO TECNOLÓGICO
AGRO ALIMENTAR

O que gostou mais?

_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____

O que gostou menos?

_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____

Gratos pela atenção!