UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
ENGENHARIA AGROINDUSTRIAL – INDÚSTRIAS ALIMENTÍCIAS

Produção e conservação de queijos frescos adicionados de óleos essenciais

Joelmir Grassi Presente

Orientador: Prof. Dr. Cristiano Schmidt

Santo Antônio da Patrulha
2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
ENGENHARIA AGROINDUSTRIAL – INDÚSTRIAS ALIMENTÍCIAS

Produção e conservação de queijos frescos adicionados de óleos essenciais

Joelmir Grassi Presente

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal do Rio Grande, como parte dos requisitos necessários à Graduação em Engenharia Agroindustrial - Indústrias Alimentícias.

Orientador: Prof. Dr. Cristiano Schmidt

Santo Antônio da Patrulha
2015

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus por ter me dado saúde e força para superar todos os obstáculos presentes no meu trajeto.

Aos meus pais Maria e Luiz e meu irmão Joel, pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

À esta universidade, seu corpo docente, direção e administração que oportunizaram a janela que hoje vislumbro um horizonte superior.

Ao meu orientador Prof. Dr. Cristiano Schmidt, pela paciência, suporte e incentivos prestados.

Às Prof.ª Dr. Neuza Fernandes de Moura, Itiara Veiga, Kessiane Moraes, Fernanda Pagnussatt e Francine Antelo por todos os conselhos e ajuda prestada.

À colega Hemilim Fraga pela colaboração nos experimentos realizados.

À toda a equipe de laboratório, em especial à Técnica Márcia Silveira.

Ao grupo PET FURG-SAP.

Às minhas amigas Cristina Dadda Rolim, Maria Francisca Croda de Araújo, Sara Fraga, Greizi Lidiana Gomes, Patricia Moureira, Vanessa Muniz e Fabiane Hood companheiras de todas as horas e irmãs na amizade que fizeram parte da minha formação e que vão continuar com certeza presentes em minha vida.

E aos demais que de alguma forma fizeram parte de minha formação, o meu muito obrigado.

RESUMO

Os queijos frescos, amplamente produzidos e consumidos no Brasil, são oriundos de fabricação simples, comercialização rápida e de menor custo quando comparado com os demais queijos. Este produto apresenta elevado teor de umidade, além de diversos fatores que contribuem para o desenvolvimento de elevada carga microbiana, com maior frequência a espécie *Staphylococus aureus*, possibilitando riscos para a saúde dos consumidores. Porém, para controlar ou até evitar a proliferação são utilizados conservantes químicos, que muitas vezes coagem a intenção de compra dos consumidores que buscam por uma alimentação mais saudável. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a conservação e a aceitação de queijos frescos tipo Minas frescal adicionados de óleos essenciais de orégano e gengibre na sua formulação. Os óleos essenciais de orégano e gengibre foram avaliados quanto a sua capacidade antioxidante e antimicrobiana sobre o micro-organismo *Staphilococcus aureus*. A qualidade do leite utilizado como matéria-prima foi avaliada quanto ao pH, acidez, alizarol, extrato seco total, densidade e carga microbiana total. Os queijos produzidos foram caracterizados quanto a acidez, pH, umidade, lipídios, proteínas e cinzas. Quanto ao aspecto higiênico-sanitário dos queijos foram realizadas análise de coliformes a 45°C, *Staphylococus aureus* e *Salmonella sp.* A cor dos queijos foi avaliada utilizando um colorímetro e levantados os parâmetros CIELab de coordenadas cromáticas. A contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios totais foi utilizada para estimar o período vida de prateleira dos queijos. A textura dos queijos foi acompanhada ao longo do tempo de armazenamento utilizando um texturômetro para a determinação dos parâmetros firmeza, adesividade, coesividade, elasticidade, gomosidade e mastigabilidade. Os queijos também foram avaliados sensorialmente através de testes afetivos utilizando escala hedônica e escala de atitude, visando determinar a aceitação e a intenção de compra pelos julgadores. O óleo essencial de orégano apresentou melhor atividade antioxidante e antimicrobiana comparada com o óleo essencial de gengibre, chegando a apresentar um elevado valor de halo de inibição ao redor de 56 mm. O leite utilizado como matéria-prima se apresentou dentro dos padrões de qualidade exigidos pela legislação. Os queijos produzidos com óleos essenciais apresentaram valores de pH e acidez em torno de 6,9 e 0,87%, respectivamente, 57,6% de umidade, 31,3% de lipídios, 11,4% de proteínas e 0,9% de cinzas. A luminosidade e a cor (h°) não apresentaram diferença significativa ($p \geq 0,05$) com a adição dos óleos aos queijos, somente a intensidade (C*) foi maior para os queijos adicionados de óleo essencial de gengibre. Os queijos recém produzidos praticamente não apresentaram coliformes termotolerantes e não foi verificada a presença de *Staphylococus aureus* e *Salmonella sp.* Com relação a estimativa do tempo de prateleira, os queijos adicionados de óleo essencial de orégano e de gengibre apresentaram menores valores de carga microbiana total comparados com o controle (sem óleo) e o misto (adição dos dois óleos), apresentando valores de contagens acima de 10^6 UFC/g somente a partir do 28º dia de armazenamento, enquanto os queijos controle e queijo com a mistura dos óleos excederam esse valor a partir do 21º dia, indicando que a adição dos óleos separadamente nos queijos foi eficiente para estender a vida de prateleira do produto. Através da análise do perfil de textura foi constatado que somente a firmeza dos queijos apresentou um comportamento característico, aumentando ao longo do tempo de conservação. O queijos adicionado de óleo essencial de orégano e o controle foram os que receberam pelos julgadores os melhores valores para aceitação (7,5 e 7,6, respectivamente) e intenção de compra (4,2 e 4,4 respectivamente), não diferindo estatisticamente ($p \geq 0,05$) entre si, indicando que o óleo de orégano além de contribuir para a conservação do produto também foi bem aceito sensorialmente.

Palavras-chave: queijos, óleos essenciais, vida de prateleira, análise sensorial.

ABSTRACT

Fresh cheeses, widely produced and consumed in Brazil, derived from simple manufacturing, rapid commercialization and lower cost when compared to other cheeses. This product has a high moisture content, and various factors that contribute to the development of high microbial load, most often *Staphylococcus aureus* species, allowing risks to health consumers. However, to control or even prevent the chemical proliferation preservatives are used, they often coerce the purchase intention of consumers looking for a healthier diet. Therefore, the aim of this study was to evaluate the conservation and acceptance of Minas fresh cheese with essential oils added of oregano and ginger in its formulation. The essential oils of oregano and ginger were evaluated for their antioxidant and antimicrobial ability on *Staphylococcus aureu*s microorganism. The quality of the milk used as raw material was evaluated for pH, acidity, alizarol, total solids, density, and total microbial load. The cheeses produced were characterized as acidity, pH, moisture, lipids, proteins and ashes. About that hygienic-sanitary aspect of the cheeses were performed analysis of coliforms at 45°C, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella sp*. Color of the cheeses was evaluated using a colorimeter and the CIELab parameters for chromaticity coordinates were determined. The count of total aerobic mesophilic microorganisms was used to estimate the shelf life of the cheese. The texture of the cheeses was followed over time storage using a texturometer for determining parameters of firmness, adhesiveness, cohesiveness, springiness, gumminess and chewiness. The cheeses were also evaluated by sensorial affective tests using hedonic scale and scale of attitude, in order to determine the acceptance and purchase intention by judges. The essential oil of oregano showed better antioxidant and antimicrobial activity compared with the essential oil of ginger, by having a high inhibition zone value around 56 mm. The milk used as raw material is presented within the quality standards required by legislation. The cheeses made with essential oils showed pH and acidity around 6,9 and 0,87%, respectively, 57,6% moisture, 31,3% lipids, 11,4% protein and 0,9 % ash. The brightness and color (h°) did not differ significantly ($p \geq 0.05$) with the addition of oils on cheeses, only the intensity (C*) was higher for cheese added essential oil of ginger. The freshly cheeses not showed fecal coliform and has not been verified the presence of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella sp*. Regarding the estimated shelf life, the cheeses added essential oil of oregano and ginger had lower overall microbial load values compared to the control (no oil) and mixed (two oils addition), with up counts values 10^6 UFC/g only from the 28 th day of storage, while the control cheeses and cheese with the oils mixture exceeded this value already from 21th days, indicating that the addition of oils separately in cheese was efficient to extend the life shelf product. By texture profile analysis it was found that only the firmness of cheeses presented a characteristic behavior, increasing throughout the shelf-life. The cheese added essential oil of oregano and control cheese were those given by the judges the best values for acceptance (7,5 and 7,6, respectively) and purchase intention (4,2 and 4,4 respectively) did not differ statistically ($p \geq 0.05$) with each other, indicating that oregano oil contribute to the conservation of the product and it's was also well accepted sensory.

Keywords: cheese, essential oils, shelf life, sensorial analysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Processo geral de elaboração de queijo. 14
Figura 2 – Curva característica da avaliação da textura de queijos utilizando o texturômetro. 19
Figura 3 – Fluxograma de obtenção dos queijos. 24
Figura 4 – Halo de inibição formado pelo óleo de orégano. 31
Figura 5 – Halo de inibição formado pelo óleo de gengibre. 31
Figura 6 – Notas atribuídas pelos julgadores para as amostras de queijo no teste de aceitação sensorial. 44
Figura 7 - Notas atribuídas pelos julgadores para as amostras de queijo no teste de intenção de compra. 45

LISTA DE TABELA

Tabela 1 - Composição centesimal média do leite de vaca. 11
Tabela 2 - Padrões microbiológicos sanitários para queijos de muita alta umidade onde se enquadra o queijo Minas frescal, segundo Resolução RDC nº12 de 02 de janeiro de 2001. 16
Tabela 3 – Atividade antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais. 30
Tabela 4 – Análises físico-químicas do leite utilizado na elaboração dos queijos. 33
Tabela 5 - Análise microbiológica do leite. 33
Tabela 6 – Análises físico-químicas dos queijos. 34
Tabela 7 – Resultados de tonalidade, intensidade e luminosidade dos queijos. 35
Tabela 8 – Análises microbiológicas dos queijos. 37
Tabela 9 – Estudo da vida útil do queijo Minas frescal adicionado de óleos essenciais. 38
Tabela 10 - Perfil de textura dos queijos para firmeza, coesividade e adesividade. 41
Tabela 11 - Perfil de textura dos queijos para elasticidade, gomosidade e mastigabilidade. 42
Tabela 12 - Notas dos testes sensoriais atribuídos aos queijos. 44

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 9

2 OBJETIVOS 10

2.1 OBJETIVO GERAL 10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 10

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 11

3.1 LEITE 11
3.2 QUEIJOS 13
3.2.1 Queijos frescos 15
3.3 MÉTODOS DE CONSERVAÇÃO 16
3.4 ÓLEOS ESSENCIAIS 17
3.5 ANÁLISE DE TEXTURA 18
3.5 ANÁLISE SENSORIAL 19

4 METODOLOGIA 21

4.1 MATERIAS-PRIMAS 21
4.1.1 Leite 21
4.1.1.1 pH e acidez 21
4.1.1.2 Extrato seco total 21
4.1.1.3 Alizarol 22
4.1.1.4 Densidade 22
4.1.1.5 Análise microbiológica do leite 22
4.1.2 Óleos essenciais 22
4.1.2.1 Atividade antioxidante 22
4.1.2.2 Inibição microbiana *in vitro* 23
4.2 ELABORAÇÃO DOS QUEIJOS 23
4.3 CARACTERIZAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS 24
4.3.1 pH 25
4.3.2 Acidez 25
4.3.3 Proteínas 25
4.3.4 Umidade 26
4.3.5 Lipídios 26
4.3.6 Cinzas 26
4.4 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS 26
4.4.1 Coliformes termotolerantes 27
4.4.2 Salmonella sp. 27
4.4.3 Staphylococcus aureus 27
4.4.4 Estimativa de vida útil 28
4.5 ANÁLISES DE COR 28
4.6 ANÁLISE DE TEXTURA 28
4.7 ANÁLISE SENSORIAL 28
4.7.1 Teste em escala hedônica 29
4.7.2 Teste em escala de atitude 29
4.7.3 Análise estatística 29

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO 30

5.1 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS 30
5.2 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA 32
5.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DOS QUEIJOS 34
5.4 ANÁLISE DE COR DOS QUEIJOS 35
5.5 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DOS QUEIJOS 36
5.6 ESTUDO DA VIDA ÚTIL DOS QUEIJOS ADICIONADOS DE ÓLEOS ESSENCIAIS 38
5.7 ANÁLISE DE TEXTURA 40
5.8 ANÁLISE SENSORIAL 43

6 CONCLUSÃO 46

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 47
ANEXOS 55
APÊNDICES..... 57

1 INTRODUÇÃO

O queijo é um dos alimentos mais antigos que a história da humanidade registra. A arte da produção do queijo teve o seu início em milhares de anos antes do nascimento de Cristo (VEIGA, 2012). Para se obter a massa do queijo, realiza-se a coagulação do leite, normalmente com coalho, que exerce o papel de precipitar a caseína (proteína presente em maior quantidade no leite), formando um coágulo firme que dará origem ao queijo. Logo, os diferentes tipos de queijos são classificados quanto à obtenção da massa (por coalho ou fermentação ácida), a inoculação (fermento lácteo), ao tratamento da massa (crua, semi-cozida e cozida), ao teor de matéria gorda (gordos, magros, semi-gordo, etc.) e quanto ao teor de umidade (FERREIRA; FERREIRA, 2013).

Os queijos frescos tratam-se de produtos largamente consumidos, de fabricação simples, comercialização rápida e de menor custo quando comparado com os demais. Caracteriza-se como um produto altamente perecível, devido ao processamento mínimo antes da elaboração, além da elevada porcentagem de umidade, acima de 55% e com nutrientes suficientes para o desenvolvimento de qualquer espécie microbiana (SANGATELLI, 2007).

Inúmeras pesquisas evidenciam problemas de contaminação em queijos frescos devido a diversos fatores como matéria-prima oriunda de má qualidade, além de condições precárias de higiene dos manipuladores, dos utensílios e do local de elaboração (SABIONI; HIROOKA; SOUZA, 1988; FILHO; FILHO, 2000; ROSSI et al., 2010). Dentre os principais micro-organismos contaminantes em queijos se destacam os coliformes termotolerantes, *Staphylococcus aureus*, bolores e leveduras, *Salmonella sp*. e *Listeria monocytogenes* (PINTO et al., 2011). Contudo, os micro-organismos da espécie *Staphylococus aureus* são os mais frequentemente relatados em surtos de intoxicações provocados pelo consumo destes tipos de queijos. Isso se deve ao fato deste encontrar-se largamente distribuído no meio ambiente, tendo como principal *habitat* a pele, as glândulas, as membranas mucosas e o trato intestinal do homem e dos animais, sugerindo que sua presença no produto se deve principalmente pela participação de manipuladores portadores desse micro-organismo (KOMATSU et al., 2010).

Com o intuito de minimizar ou até controlar a contaminação nos queijos frescos são utilizados conservantes químicos (GONÇALVES et al., 2011), além dos métodos tradicionais de acidificação, desidratação e refrigeração. Entretanto, o uso destes conservantes pode proporcionar reações tóxicas no metabolismo bem como desencadear alergias, alterações do comportamento e possíveis riscos de desenvolvimento de câncer, esta última observada a longo prazo (POLÔNIO e PERES, 2009), além do fato de induzir o aparecimento de cepas

microbianas cada vez mais resistentes a agentes antimicrobianos clássicos, devido ao uso frequente em alimentos (SOUZA et al., 2005).

Diante destes fatos, os consumidores têm exigido alimentos mais saudáveis, com vida de prateleira mais longa e com ausência de riscos microbiológicos. Esta perspectiva tem levado a indústria de alimentos a reduzir o uso de conservantes químicos e buscar novas alternativas, sobretudo naturais, para obter alimentos microbiologicamente seguros aos consumidores (SOUZA et al., 2005).

Assim, o aumento da demanda por alimentos seguros e naturais, sem conservantes químicos, tem estimulado pesquisadores a investigar a eficácia antimicrobiana de muitos compostos naturais contra alguns micro-organismos patógenos associados à alimentação. Ervas aromáticas e especiarias, vegetais e outros condimentos com propriedades antimicrobianas vêm sendo aplicadas neste tipo de produto, além de serem utilizadas como agentes aromatizantes, diversificando o sabor e a cor dos queijos. Porém, esses condimentos devem ser de excelente qualidade microbiológica (OKURA, 2010), para evitar possíveis contaminações cruzadas. O uso de óleos essenciais purificados, extraídos dessas plantas tem sido uma boa alternativa de aplicação.

O potencial antimicrobiano de óleos essenciais tem sido de grande interesse na academia e na indústria de alimentos desde a sua possível utilização como conservante natural e como uma tendência crescente para substituir aditivos sintéticos (SAMAPUNDO et al., 2007). Além disso, existe a possibilidade de realizar combinações de óleos essências de plantas, conseguindo um efeito sinérgico, permitindo o uso de concentrações mais baixas, para assim, atingir um duplo objetivo de reduzir qualquer ação organoléptica indesejável bem como controlar os patógenos e bactérias de origem alimentar (GUTIERREZ; BARRY-RYAN; BOURKE, 2008).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a conservação e a aceitação de queijos frescos adicionados de óleos essenciais de orégano e gengibre na sua formulação.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar as propriedades físico-químicas dos queijos produzidos,
- Avaliar as características de textura e coloração dos queijos,

- Verificar se a qualidade microbiológica dos queijos produzidos está de acordo com a legislação vigente e estimar a vida útil do produto através da quantificação da carga microbiana total,
- Avaliar o grau de aceitação do produto pelos consumidores através de avaliação sensorial.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 LEITE

De todo o leite produzido no Brasil, 35% é destinado para leite fluido (leite UHT), 33% para elaboração de queijos, 26% para leite em pó e o restante para outros derivados (BANCO DO BRASIL, 2010).

De acordo com o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (BRASIL, 1952), define-se leite como o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite de outros animais deve denominar-se segundo a espécie de que proceda.

Logo, a composição do leite oriundo de diferentes espécies de animais, ou mesmo de animais de mesma espécie, mas de raças diferentes, varia de maneira significativa. A composição centesimal média de leite de vaca é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição centesimal média do leite de vaca.

Componentes	Concentração (%)
Água	87,5
Sólidos totais	13,0
Gordura	3,9
Lactose	4,8
Proteínas	3,4
Minerais	0,8

Fonte: Koblitz (2011).

O leite considerado normal deve manter sua estabilidade durante o teste de alizarol, apresentar pH entre 6,6 e 6,8, a acidez deve se encontrar entre 14 e 18°D, a densidade deve

estar entre 1,028 a 1,034 g/ml e a quantidade de extrato seco deve ser de no mínimo 11,4% (KOBLITZ, 2011).

O teste de alizarol além de verificar a termoestabilidade do leite, fornece indicação da acidez, ou seja, do estado de conservação do leite pela mudança de cor, onde o leite normal deve apresentar coloração rosa claro (rosa salmão) ou tijolo (14>°D >18), o leite ácido (>21°D) deve apresentar coloração amarelo pardo ou vermelho e leite alcalino (<14°D) apresenta coloração violeta ou lilás. O teste de pH indica a possível presença de colostro (6,1 a 6,5) e mastite (7 a 7,5), o teste de acidez determina a concentração de ácido lático presente no leite, o de extrato seco é importante nos cálculos de rendimento industrial de derivados (queijos, leite em pó, etc.), e a densidade é utilizada para verificar a presença de fraudes no leite (KOBLITZ, 2011; BEZERRA et al., 2011).

No entanto, em todos os tipos de leite o teor de nitrogênio é distribuído entre caseínas, proteínas do soro e nitrogênio não proteico (KOBLITZ, 2011). A proteína do leite bovino contém cerca de 80% de caseína e 20% de proteínas do soro, percentual que pode variar em função da raça do gado, da ração fornecida e do país de origem (HARAGUCHI; ABREU; PAULA, 2006).

O leite é um alimento de extremo valor na dieta humana, mas, pela mesma razão, constitui substrato para crescimento de grande variedade de micro-organismos. Entre os que podem ser encontrados no leite, alguns são benéficos (bactérias lácticas), alguns são deteriorantes (bactérias psicrotróficas e esporuladas) e outros são prejudiciais à saúde (patogênicas) (PEREDA et al., 2005a).

Mesmo o leite procedente de animais saudáveis, sempre contém uma série de micro-organismos cuja taxa é muito variável (10^3 a 10^6 UFC/mL). Porém, quando as operações como coleta, armazenamento e transporte do leite são realizadas com a máxima higiene, é possível obter um leite cru de alta qualidade microbiológica (PEREDA et al., 2005a).

O pré-processamento do leite envolve diferentes etapas, desde a recepção do leite na indústria até o início do processamento, que é a aplicação de uma técnica (física, química ou biológica) que irá promover a conservação dessa matéria-prima (KOBLITZ, 2011). Podem ser consideradas as seguintes técnicas como pasteurização, ultrapasteurização, esterilização, estocagem a baixas temperaturas, microfiltração, irradiação, bactofugação, controle de fatores intrínsecos como pH entre outros. Entretanto, a escolha do tipo de técnica deve considerar a natureza do produto a elaborar, o grau de destruição microbiana que se deseja alcançar e também os tipos de alteração que podem ocorrer com os componentes do leite (TRONCO, 2013; KOBLITZ, 2011).

Entre as técnicas, as mais empregadas são a pasteurização e a esterilização, que garantem a inocuidade do produto, sendo que a pasteurização apresenta pouca variação significativa nas características físico-químicas, nutritivas e sensoriais (TRONCO, 2013; KOBLITZ, 2011). A eficiência destas técnicas de tratamento podem ser aferidas pela medida da atividade das enzimas presentes no leite (fosfatase alcalina e peroxidase), onde a fosfatase alcalina é inativada na técnica de pasteurização permanecendo a peroxidase. Na esterilização, deve haver a ausência de ambas após o tratamento (KOBLITZ, 2011).

A legislação brasileira exige que o leite a ser utilizado na fabricação de queijos frescos deve ser submetido à pasteurização ou tratamento térmico equivalente para assegurar a fosfatase residual negativa, combinado ou não com outros processos físicos ou biológicos que garantam a inocuidade do produto (BRASIL, 1996).

Segundo dados da Associação Brasileira das Indústrias de Queijos (ABIQ), as três variedades de queijos mais fabricados no país são: Mussarela (28,4%), Prato (19,9%), Requeijão culinário (18,7%), seguido pelo queijo Minas frescal (5,2%) e *Petit suisse* (4,4%) o restante é destinado a outros tipos de queijos (FILHO, 2010).

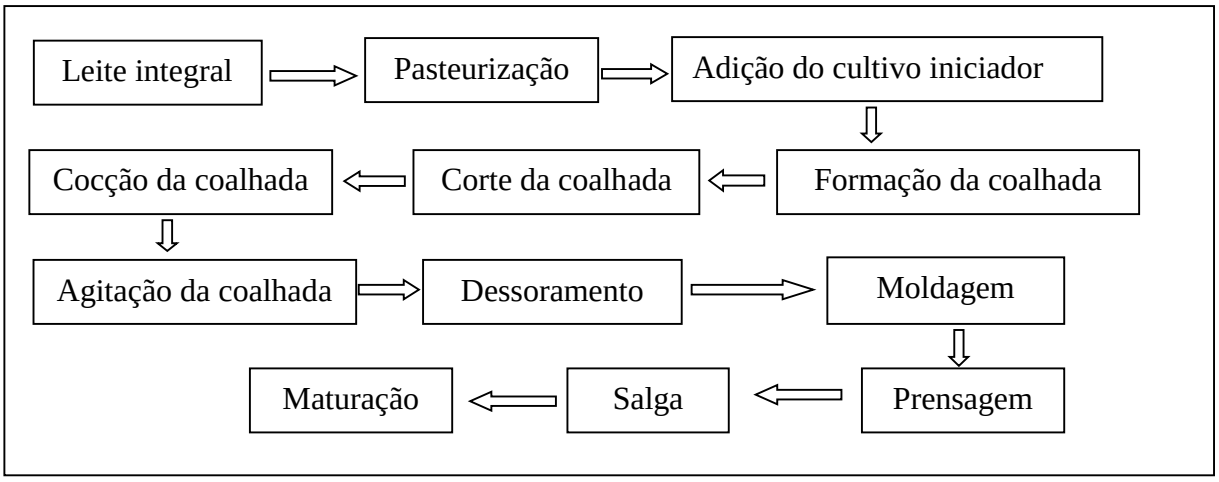
3.2 QUEIJOS

De acordo com a Portaria nº 146/1996 do MAPA o queijo é definido como:

> O produto fresco ou maturado, obtido por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, de enzimas específicas, de bactérias específicas, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos aptos para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, aromatizantes e corantes (BRASIL, 1996).

Sendo assim, existem mais de quatrocentos tipos de queijos produzidos mundialmente, resultantes de diferenças na fermentação, prensagem e condições de maturação (FELLOWS, 2006). O queijo geralmente é classificado em fresco ou maturado, de acordo com o tratamento após a sua obtenção. A Figura 1 apresenta um esquema do processo geral de elaboração de queijos (PEREDA et al., 2005a).

Figura 1 - Processo geral de elaboração de queijo.



Fonte: PEREDA et al. (2005a).

A maioria das variedades de queijos é fabricado com leite integral, podendo em alguns tipos normalizar o conteúdo de gordura (PEREDA et al., 2005a).

A pasteurização do leite é uma operação que visa destruir os micro-organismos patogênicos que causam enfermidades no homem e que podem alterar os alimentos. É obrigatória para produção de queijos com período de maturação inferior a dois meses. Entre os tipos de pasteurização existentes, destacam-se a lenta e a rápida. A pasteurização lenta ou baixa é feita por meio do aquecimento do leite entre 62° e 65° C, mantendo-o nessa temperatura por 30 minutos. Já a pasteurização rápida ou alta equivale ao aquecimento do leite entre 72° e 75°C, por 15 segundos.

A pasteurização, além de eliminar as bactérias patogênicas não-esporuladas, também destrói a maioria da microbiota láctica naturalmente presentes no leite, por isso, é necessário acrescentar um cultivo iniciador composto de bactéria lácticas. O leite pasteurizado também acarreta na perda do cálcio solúvel e com isso implica em atraso no tempo de coagulação, onde para se evitar isso, costuma-se adicionar cloreto de cálcio (Ca_2Cl).

A formação da coalhada é uma operação que consiste na adição de coalho para obter a coagulação das caseínas presentes no leite.

O corte da coalhada consiste em dividir o coágulo formado em partes iguais a fim de liberar a expulsão do soro, sendo este corte realizado cuidadosamente em função da fragilidade do coágulo.

A cocção da coalhada consiste no tratamento térmico que se aplica as proporções de coalhada obtidas durante seu corte. A temperatura afeta profundamente a expulsão do soro, sendo mais intensa quando ela se eleva, pois favorece a formação de ligações intermicelares

com a consequente retração do coágulo. A temperatura utilizada depende do tipo de queijo a produzir, sendo que esta etapa não se aplica na produção do queijo Minas frescal.

Agitação da coalhada é uma operação que consiste em evitar a sedimentação e a aglomeração das partículas de coalhadas, sendo realizada em um movimento contínuo.

O dessoramento consiste em separar as partículas de coalhadas do soro.

A moldagem consiste em introduzir a coalhada em moldes adequados para dar-lhe a forma típica de cada variedade. Esses moldes apresentam pequenos orifícios por onde drena parte do soro ainda retido e, dependendo do tipo de queijo, submete-se a uma prensagem mais ou menos intensa.

A maturação consiste em submeter os queijos, durante determinado tempo, a temperatura e umidade relativamente definidas, onde ocorrem modificações nas características físicas e químicas e geram-se substâncias responsáveis por seu sabor e aroma diferenciados.

3.2.1 Queijos frescos

Entre os queijos, o queijo Minas frescal é o que tem ampla aceitação comercial e que faz parte do hábito alimentar da população, na maioria das regiões do país (LOGUERCIO; ALEIXO, 2001).

Logo, o queijo Minas frescal é o queijo fresco obtido por coagulação enzimática do leite com coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não com ação de bactérias lácticas específicas (BRASIL, 2004). Sendo este tipo de queijo considerado de processamento simples, o que torna esse produto adequado para a exploração na pequena e média indústria (BEZERRA et al., 2011).

De acordo com Silva (2005), o queijo Minas frescal apresenta massa crua, coloração esbranquiçada, consistência mole e textura fechada. Normalmente é vendido na forma cilíndrica, com peso variando em torno de 0,5 a 3 kg. Apresentando em média 55% a 58% de umidade; 17% a 19% de gordura; teor de sal variando entre 1,4% e 1,6%; e pH entre 5,0 e 5,3. E segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Queijos (ABIQ), o queijo Minas frescal apresenta uma validade curta de até 20 dias (ABIQ, 2015).

A Resolução RDC nº12 (BRASIL, 2001) dispõe os padrões microbiológicos sanitários para os alimentos, dentre os quais encontram-se diversos tipos de queijos. Os padrões microbiológicos para o queijo Minas frescal encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2 - Padrões microbiológicos sanitários para queijos de muita alta umidade onde se enquadra o queijo Minas frescal, segundo Resolução RDC nº12 de 02 de janeiro de 2001.

Micro-organismos	**Tolerância para amostra indicativa**
Coliformes a 45 ºC	$5x10^2$ UFC/g
Salmonela sp.	Ausente
Listeria monocytogenes	Ausente
Staphylococcus coagulase positiva	$5x10^2$ UFC/g

Fonte: Adaptado de ANVISA (BRASIL, 2001), valores indicativos em amostras de 25g.

De acordo com a Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, queijos de muito alta umidade, temperados, condimentados ou adicionados de ervas ou outros ingredientes não necessitam da realização de teste para *Listeria monocytogenes* (BRASIL, 2001).

3.3 MÉTODOS DE CONSERVAÇÃO

Os alimentos que o homem consome procedem dos reinos vegetal, animal ou mineral, sendo os alimentos de origem animal altamente perecíveis, devido ao elevado teor de umidade, nutrientes e alto pH, como o leite, tecidos musculares, vísceras e outros subprodutos elaborados a partir dos mesmos (PEREDA et al., 2005b).

Para manter a qualidade dos alimentos, hoje em dia vem sendo aplicado largamente o uso do frio, que baseia-se na inibição parcial ou total dos principais agentes responsáveis pelas alterações dos alimentos através da baixa temperatura em que são mantidos (GAVA; SILVA; FRIAS, 2008). Onde a aplicação do frio em suas duas vertentes (refrigeração e congelamento) permitem conservar os produtos durante períodos de tempos relativamente longos, com repercussão mínima em suas características nutritivas e organolépticas (PEREDA et al., 2005b). Além disso, para a conservação dos alimentos, pode-se em geral associar os fatores intrínsecos e extrínsecos, criando condições desfavoráveis aos micro-organismos, tornando os alimentos mais estáveis. Entre as barreiras mais comuns aplicadas estão a modificação do pH, redução ou elevação da temperatura (na preparação e/ou conservação), redução da atividade de água (pela adição de sal ou açúcar ou pela secagem), atmosfera controlada e adição de conservantes (GAVA; SILVA; FRIAS, 2008).

Os conservantes químicos são utilizados nos alimentos para eliminar, total ou parcialmente os micro-organismos ou para criar condições desfavoráveis ao seu crescimento. Essa conservação química pode ser utilizada de modo individual ou associada com métodos físicos, para um melhor controle dos micro-organismos, garantindo sanidade aos produtos até

a mesa do consumidor (GAVA; SILVA; FRIAS, 2008). Para queijos, os conservantes químicos permitidos e mais usados são o ácido benzóico (INS 210) e seus sais, o ácido propiônico (INS 280) e seus sais, a nisina (INS 234) e a natamicina (INS 235), sendo a natamicina aplicado na forma de película em queijos duros, onde a casca não é ingerida (GAVA; SILVA; FRIAS, 2008).

Novos compostos de origem natural com propriedades conservantes vêm sendo testados e dentre estes têm ganhado destaque os óleos essenciais de algumas plantas (SOUZA et al., 2006), devido que diversos trabalhos mencionam a atividade antibacteriana de diversos óleos essenciais sobre várias bactérias Gram positivas e Gram negativas deteriorantes e/ou patogênicas de interesse em alimentos, bem como a efetividade antimicrobiana quando testado em alguns alimentos.

3.4 ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais são matérias-primas de origem vegetal que, em geral, uma vez extraídos segundo processos físicos específicos, dão origem a um extrato líquido à temperatura ambiente, apresentando de média a elevada viscosidade, de comportamento hidrofóbico e que exalam fragrâncias distintas das espécies de onde foram extraídos (SANTOS, 2011).

Os óleos essenciais podem ser enquadrados como aromatizantes naturais (GAVA; SILVA; FRIAS, 2008). Contudo, para o uso em alimentos, estes devem no mínimo ser aprovados por entidades como: Summary of Evaluations Performed by Joint (JECFA) ou Flavor and Extract Manufacturers Association of America Expert Panel, Washington D.C (FEMA) (BRASIL, 1999).

Entre as plantas capazes de extrair óleo essencial estão o orégano e o gengibre, sendo extraídos das folhas e dos rizomas respectivamente (PINHEIRO; LOPES, 2003).

O O*riganum vulgare* Lamiaceae, conhecido popularmente como orégano é um dos condimentos mais utilizados na culinária brasileira no preparo de carnes, ovos, peixes, panificação e frutos do mar. Seu óleo essencial também é utilizado na perfumaria, bem como na indústria de alimentos visando controlar micro-organismos causadores de deterioração e/ou causadores de doenças veiculadas por alimentos (CORRÊA et al., 2010).

O *Zingiber officinale* Roscoe, conhecido popularmente como gengibre é uma planta aromática utilizada como condimento e como erva medicinal desde a antiguidade pelos povos asiáticos. Atualmente é comercializado *in natura*, em conserva, cristalizado, seco, em pó e como óleo essencial. O óleo essencial dos rizomas, por sua vez, possui aplicação na indústria

de alimentos como aromatizante e condimento, na indústria cosmética como fragrância e antioxidante e na indústria farmacêutica devido às propriedades anti-inflamatória, antibacteriana e antitumoral (DABAGUE et al., 2011).

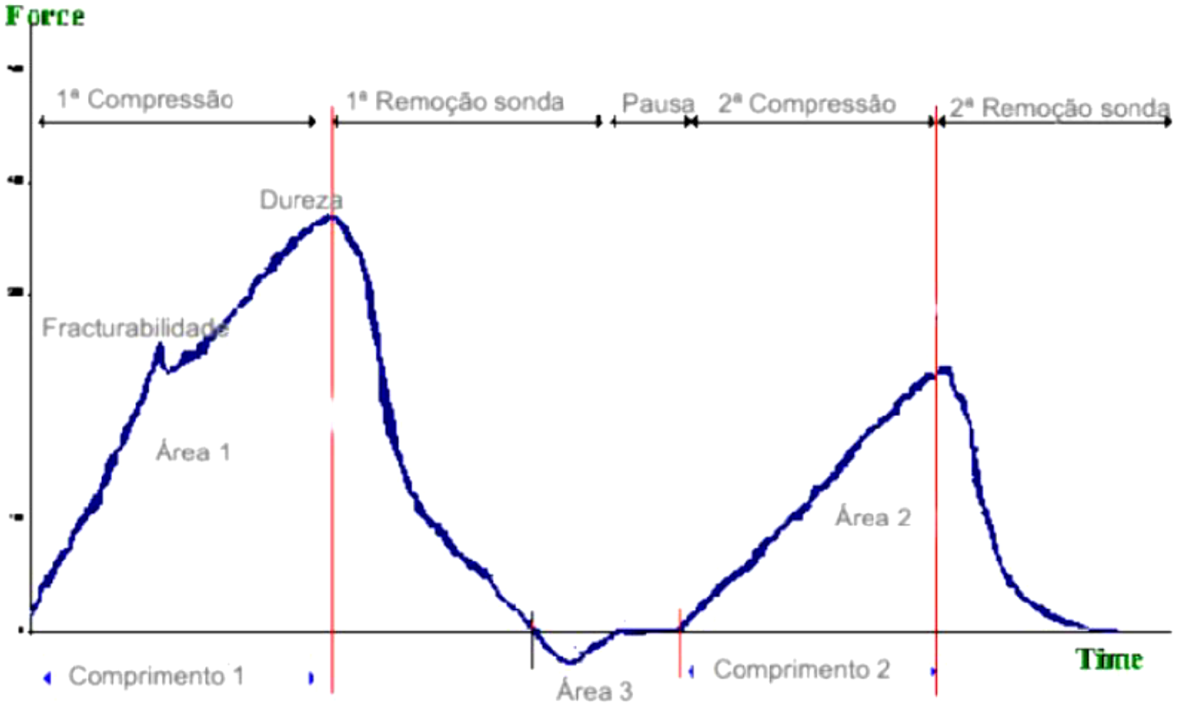
A utilização de óleos essenciais de ervas e especiarias em testes *in vitro* e em alimentos tem se mostrando eficaz na eliminação de micro-organismos patogênicos como a *Listeria monocytogene, Salmonella typhimurium, Escherichia coli, Bacillus cereus e Staphylococcus aureus* (TAJKARIMI; IBRAHIM; CLIVER, 2010). Os óleos essenciais vêm sendo aplicados em alimentos como em queijos de coalho, onde foi observado uma menor taxa de crescimento (efeito microstático) de bactérias mesófilas ao longo dos intervalos avaliados para o queijo de coalho embalados a vácuo e adicionadas de 5, 10 e 20 $\mu g.g^{-1}$ de óleo essencial. Também, o óleo essencial em concentrações variando entre 2,5 e 10 $\mu g.g^{-1}$ causou considerável redução da contagem de fungos nas amostras de queijo ao longo do tempo de armazenamento (TRAJANO et al., 2010). Em carne moída bovina armazenada sob refrigeração, foram utilizados valores de concentração mínima inibitória (CIM) de 20-40 $\mu L.mL^{-1}$ o que causou uma diminuição significativa ($p \leq 0,05$) na contagem da flora bacteriana autóctone (SOUZA; STAMFORD; LIMA, 2006) sendo confirmados resultados similares por Oliveira et al. (2013b), que observou em testes *in vitro* o efeito antimicrobiano do óleo essencial de cravo (*S. aromaticum*) e capim-limão (*C. citratus*) contra a *Listeria monocytogenes* em carne moída bovina armazenadas sob refrigeração durante três dias.

3.5 ANÁLISE DE TEXTURA

A textura do queijo depende da composição química e da força das interações entre os elementos estruturais que compõem a sua micro e macroestrutura. As propriedades estruturais dos alimentos são a firmeza, adesividade, coesividade, elasticidade, gomosidade e mastigabilidade, onde a firmeza é a força necessária para obter uma dada deformação, a adesividade é o trabalho necessário para vencer as forças de atração entre a superfície do alimento e as superfícies com as quais este entra em contato, a coesividade é a força das ligações internas que definem a estrutura do alimento, a elasticidade é a capacidade que uma amostra, após deformação, recuperar a sua condição inicial quando retirada a força aplicada, a gomosidade é um parâmetro secundário obtido a partir dos parâmetros primários de firmeza x coesividade e a mastigabilidade é um parâmetro secundário obtido a partir dos parâmetros gomosidade x elasticidade (FERNANDES, 2013). Abaixo, consta o exemplo de uma curva característica (Figura 2), onde:

- A firmeza (dureza) é dada pelo valor do pico na área 1, ou seja, o pico mais alto da primeira curva;
- A adesividade é dada pela área 3;
- A coesividade é calculada dividindo a área 2 pela área 1;
- A elasticidade do alimento obtém-se dividindo a distância percorrida na área 2 pela distância percorrida na área 1;
- A gomosividade é dada pelo produto entre a firmeza e a coesividade.
- A mastigabilidade é obtida efetuando o produto entre a gomosividade e a elasticidade.

Figura 2 – Curva característica da avaliação da textura de queijos utilizando o texturômetro.



Fonte: FERNANDES (2013).

3.5 ANÁLISE SENSORIAL

A aceitabilidade de uma substância como alimento depende muito da pessoa que a examina, pois certos alimentos podem ser considerados comestíveis por algumas pessoas e rejeitados por outras (GAVA; SILVA; FRIAS, 2008). Neste contexto, a análise sensorial é um método científico utilizado para medir, analisar e interpretar reações às características dos

alimentos e materiais percebidos pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição (GUTERRES, 2013).

Para se realizar uma análise sensorial de um produto, existem vários métodos com objetivos específicos, que são selecionados conforme o objetivo da análise (TEIXEIRA, 2009).

Os testes de aceitação são usados quando o objetivo é avaliar se os consumidores gostam ou desgostam do produto. As escalas utilizadas nestes testes podem ser balanceadas ou não balanceadas, onde as primeiras são as mais empregadas, devido a serem consideradas mais discriminativas e questionadoras por apresentarem igual número de categorias positivas e negativas e termos igualmente espaçados. A contrário, as não balanceadas, mostram mais termos do lado positivo do que do negativo e os termos são mais espaçados (MINIM, 2013). Para definir uma preferência ou aceitação de um produto, são necessários no mínimo 50 indivíduos (QUEIROZ; TREPTOW, 2006).

Existem várias escalas para medir a aceitação, sendo as mais utilizadas a escala hedônica, a de atitude (FACT) e a ideal (MINIM, 2013).

A escala hedônica é muito utilizada para interpretar a aceitação de um determinado produto ou não pelo consumidor. Existem diferentes tipos de escala hedônica, como as verbais, as faciais e a não estruturada. A escala hedônica verbal normalmente é uma ficha composta por uma escala com pontos ou categorias e afirmações, onde a escala composta por nove pontos é a mais utilizada para estudos de preferências com adultos. A escala hedônica facial, com menor graduação e com auxílio de figuras são utilizadas para estudos de preferências com crianças e, ou pessoas com dificuldade de compreender ou ler as palavras enquanto que a não estruturada é composta por uma linha demarcada em seus extremos (da direita para a esquerda) com termos "gostei muitíssimo" e desgostei muitíssimo" onde minimiza as possíveis tendências do consumidor em preferir determinados números ou expressões (MINIM, 2013).

A escala de atitude mede o grau de aceitação de um produto na qual os consumidores não estão familiarizados, com base em suas atitudes em relação à frequência em que estariam dispostos a consumir o produto em determinado período. Neste teste as amostras são apresentadas individualmente e inteiramente ao acaso aos consumidores, sendo feitas perguntas sobre a sua intenção, segunda uma escala previamente estabelecida, com base em atitudes de consumo (MINIM, 2013).

A escala ideal, são escalas por meio das quais se obtêm informações sobre qual seria a intensidade de determinado atributo sensorial considerado ideal pelo consumidor, podendo não

ser balanceadas ou não regularmente espaçadas nem os dados obtidos ser analisados pela média (MINIM, 2013).

Assim, após o preenchimento das fichas de resposta pelos julgadores na análise sensorial, cada tipo de escala hedônica é transformada em valores numéricos e analisadas estatisticamente.

4 METODOLOGIA

4.1 MATERIAS-PRIMAS

4.1.1 Leite

O leite utilizado para realização deste trabalho foi o leite de vaca, fornecido por produtores locais da cidade de Caraá/RS. O leite foi filtrado utilizando tecido comercial para retirar possíveis impurezas presentes, sendo em seguida pasteurizado usando banho termostatizado à temperatura de 65 °C com agitação lenta. O monitoramento da temperatura foi realizado com auxílio de um termômetro. No momento em que a temperatura uniforme de 65°C foi atingida, o leite permaneceu por mais 30 minutos exposto ao calor (KOBLITZ, 2011). Após o tratamento térmico o leite foi resfriado até a temperatura homogênea de 35°C em banho de gelo.

O leite utilizado como matéria-prima para elaboração do queijo foi submetido às análises de pH, acidez titulável, extrato seco total e densidade segundo metodologia recomendada pelo Instituto Adolfo Lutz (1985), alizarol segundo metodologia Koblitz (2011) e carga microbiana total segundo Silva et al. (2007), para verificar a eficiência da pasteurização.

4.1.1.1 pH e acidez

O potencial hidrogeniônico (pH) foi medido diretamente em um amostra de leite utilizando um pHmetro eletrônico de bancada (Quimis, Brasil). A acidez foi determinada através de uma titulação da amostra com solução Dornic (solução de NaOH 0,111 M) até coloração levemente rósea. O resultado foi expresso em ºDornic.

4.1.1.2 Extrato seco total

O extrato seco total foi determinado por método gravimétrico com secagem em estufa com circulação de ar (SL102 Solab, Brasil) à 105°C. Amostras de leite foram colocadas em

cápsulas de alumínio contendo areia grossa purificada e submetidas à secagem até peso constante. A massa de leite remanescente nas cápsulas foi expressa como a porcentagem (%) de extrato seco total.

4.1.1.3 Alizarol

Para o teste de alizarol foram transferidos para um tubo de ensaio proporções iguais de leite e solução de alizarol 70 °GL e misturados cuidadosamente para observar a coloração formada. Esse teste, além de fornecer a termoestabilidade do leite, fornece uma indicação da acidez.

4.1.1.4 Densidade

A densidade do leite foi determinada diretamente em uma amostra de leite com o auxílio de um termolactodensímetro (Alla, Brasil).

4.1.1.5 Análise microbiológica do leite

Foram avaliadas a carga microbiana do leite cru e do pasteurizado pela determinação dos micro-organismos aeróbios mesófilos totais presentes na matéria-prima. Amostras de leite foram inoculadas em ágar padrão de contagem (PCA) pela técnica de espalhamento em superfície e incubadas a 35°C por 48 horas, sendo os resultados das contagens expressos em UFC/mL de leite.

4.1.2 Óleos essenciais

Os óleos essenciais, tanto de orégano como de gengibre, foram adquiridos em comércio especializado. A concentração utilizada nos queijos foi determinada através de dados da literatura (TRAJANO et al., 2010; SOUZA; STAMFORD; LIMA, 2006), onde foi testado a concentrações de 20 µg de cada óleo essencial e 20µg da mistura dos óleos essenciais para determinar a atividade antioxidante pelo método de DPPH (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995; RUFINO et al., 2007) e 5 µL dos óleos essenciais de forma individual e da mistura para o teste de inibição microbiana *in vitro* (FELÍCIO et al., 2013).

4.1.2.1 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi determinado pelo método que baseia-se na utilização do reagente radical 2,2-difenil-1-picril hidrazil (DPPH) que quando em contato com a amostras,

pode ser reduzido formando difenil-picril-hidrazina. O monitoramento foi realizado pela leitura da absorvância em espectrofotômetro (Spectrophotometer SP1105, Bel Photonics, Brasil) com comprimento de onda de 517 nm e os resultados das absorvâncias foram convertidos e expressos em relação à capacidade de capturar o radical DPPH (% de atividade antioxidante).

4.1.2.2 Inibição microbiana *in vitro*

A inibição microbiana pelos óleos essenciais foi avaliada utilizando o micro-organismo *Staphylococcus aureus*, que a partir de um crescimento microbiano de 24 horas em tubos inclinados contendo ágar nutriente, foi obtida uma suspensão microbiana pela adição de 2 mL de solução salina 0,85%. Esta suspensão teve a turvação ajustada por comparação visual a menor concentração padrão 0,5 da escala de McFarland (Anexo I), que corresponde a $1,5x10^8$ bactérias/mL (PASTERÁN; GALAS, 2008). Em seguida, foram inoculados 0,1 mL da suspensão em placas contendo ágar nutriente, sendo realizado um espalhamento com alça de Drigalski. Após a secagem do inóculo, foram aplicados os discos de papel filtro esterilizados, de 6 mm de diâmetro, impregnados com 5 µL de cada óleo essencial e uma mistura contendo 2,5 µL de cada óleo. As placas foram incubadas a 35°C por 24 horas, sendo então tomadas as medidas dos halos de inibição formados utilizando um paquímetro (SANTOS et al, 2011).

4.2 ELABORAÇÃO DOS QUEIJOS

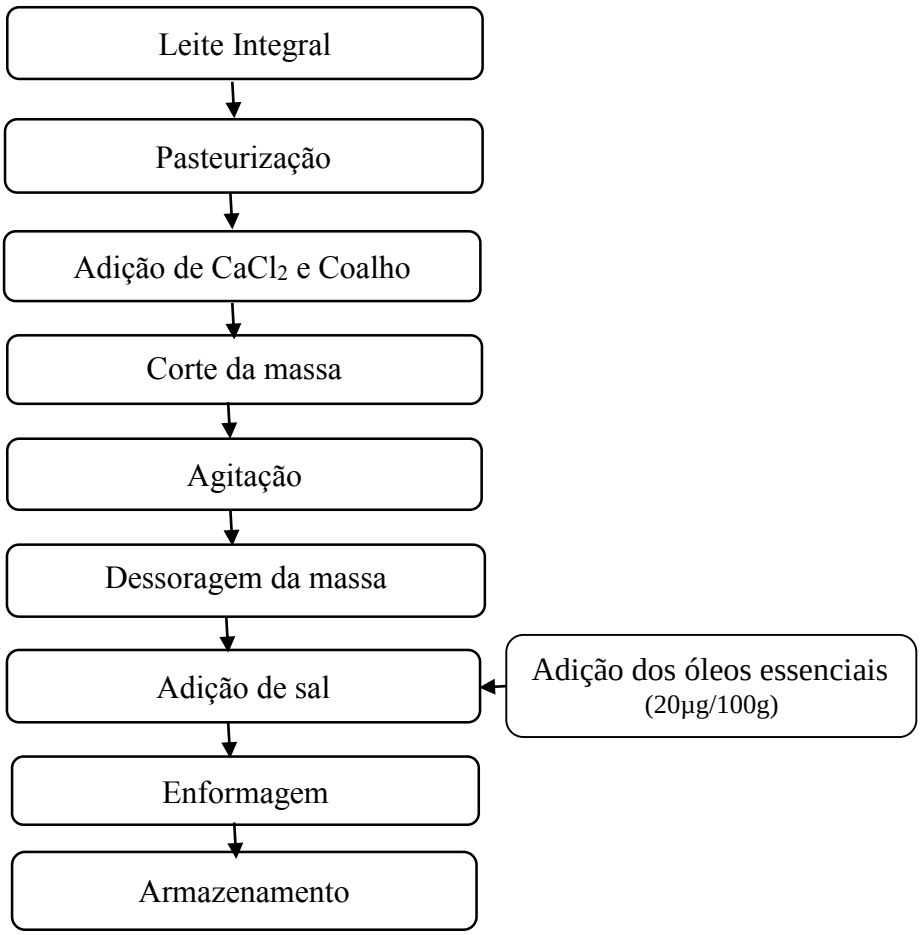
O leite pasteurizado foi adicionado a um tacho de capacidade de 18 L e conduzido a um banho termostatizado para manter a temperatura de 32 °C, sendo em seguida adicionado 4 $mL.L^{-1}$ de uma solução de $CaCl_2$, homogeneizado e deixado 20 minutos em repouso. Decorrido esse tempo foi acrescentado o coalho (coagulante líquido, Ha-La) de acordo com as recomendações do fabricante, misturado e deixado em repouso por mais 40 minutos. Sendo após verificado o ponto de corte da massa com o auxílio de uma faca, deixado em repouso por 5 minutos para efetuar dessora da massa e efetuada uma agitação lenta e descontínua de 5 em 5 minutos por 30 minutos. Após a última agitação foi deixado em repouso por mais 20 minutos e em seguida removida uma fração de soro da massa e adicionados 1,5 % de sal e o óleo essencial (orégano, gengibre e a mistura dos óleos, todos na concentração de 20 µg/100g de massa), sendo a massa agitada com auxílio de uma colher. A fração restante do soro foi removida e a massa foi colocada em uma forma própria para queijo. Depois, a cada 30 minutos, o queijo foi virado por 4 vezes e em seguida foi deixado descansando até o dia seguinte sobre

refrigeração a temperatura de 5 ± 1 °C, onde foi retirado da forma com cuidado posterior a refrigeração. Foi feito um queijo sem a adição de óleo essencial (controle) seguindo este mesmo procedimento.

Os queijos foram armazenados em refrigerador à temperatura de 5 ± 1°C, onde foram caracterizados através de análises físicas, químicas e microbiológicas, e o período de conservação dos queijos foi determinado através de análises microbiológicas de mesófilos aeróbios totais ao longo do período de estocagem.

Para simplificar, o processamento dos queijos foi realizado conforme mostra a Figura 3.

Figura 3 – Fluxograma de obtenção dos queijos.



4.3 CARACTERIZAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS

O queijo sem adição de óleo essencial (controle) e os queijos com óleos essenciais foram avaliados mediante as seguintes análises físico-químicas: pH, acidez titulável, proteínas,

umidade, lipídios e cinzas. As análises citadas foram realizadas segundo metodologias recomendadas pelo Instituto Adolfo Lutz (1985) e AOAC (2000).

4.3.1 pH

Foram tomadas 10 g de cada amostra e diluídas com 100 mL de água destilada, agitadas e medido o pH utilizando pHmetro eletrônico de bancada (Quimis, Brasil) previamente calibrado em solução tampão de pH 4 e 7.

4.3.2 Acidez

Foram tomadas 10 g de cada amostra e homogeneizadas com 50 mL de água destilada morna. Em seguida foi transferida uma alíquota de 50 mL para um erlenmeyer e acrescidas 10 gotas de solução de fenolftaleína, para então prosseguir com titulação de hidróxido de sódio 0,1 M, até coloração levemente rósea. O resultado foi expresso em acidez por cento de ácido láctico (%), conforme a Equação 1.

$$\frac{v \times f \times 0{,}9}{m} = \text{acidez por cento em ácido láctico (\%)} \qquad \textit{Eq. (1)}$$

Onde:
v = volume da solução de hidróxido de sódio gasto na titulação (mL);
f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio gasta na titulação;
0,9 = fator de conversão do ácido láctico;
m = massa da amostra utilizada (g).

4.3.3 Proteínas

O teor de proteínas foi determinado utilizando o método de micro-kjeldahl, onde 0,2 g de cada amostra foram digeridas com 3 mL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e 7 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) durante 2 horas e meia a 300 ºC. Para então as amostras serem adicionados 50 mL de uma solução de NaOH 40% (v/v), submetidas a destilação. O nitrogênio foi coletado em uma solução de ácido bórico 4%. Após recolher 125 mL de destilado, as amostras foram tituladas com uma solução de HCl 0,1 M e o teor de proteína foi determinado segundo a Equação 2, utilizando fator de correção de 6,38 para queijos.

$$\frac{V \times 0{,}014 \times N \times 100 \times f}{P} = \text{proteínas \%} \qquad \textit{Eq. (2)}$$

Onde:

V = volume gasto de HCl (mL);

N = normalidade do ácido;

P = peso da amostra (g);

f = fator de conversão para queijos.

4.3.4 Umidade

Foram tomadas 5 g de cada amostra, colocadas em cápsula de porcelana e submetidas a aquecimento a 105ºC em estufa, até peso constante. A quantidade de água evaporada foi expressa em porcentagem (%) de umidade.

4.3.5 Lipídios

Foram tomadas 5 g de cada amostra e colocadas em um extrator tipo Soxhlet (Nova Ética, Brasil). As amostras foram desengorduradas com éter de petróleo, mantidas sob refluxo durante 6 horas, sendo o teor de lipídios da amostra determinado gravimetricamente e expresso em porcentagem (%).

4.3.6 Cinzas

Foram tomadas 1,5 g de cada amostra, colocadas em cadinhos e calcinadas em chama até completa carbonização, sendo após conduzidas para mufla (Fornos Magnus, Brasil) a 560 °C por 4 horas, resfriadas e pesadas. O teor de cinzas foi expresso em porcentagem (%).

4.4 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Foram realizadas as seguintes análises microbiológicas nos queijos no tempo zero: coliformes termotolerantes, *Staphylococcus aureus* e a presença de *Salmonella sp*. de acordo com metodologia de Silva et al., (2007). Para a estimativa de vida útil dos queijos foi realizada

contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios totais a cada 7 dias ao longo de 35 dias de refrigeração (5ºC).

4.4.1 Coliformes termotolerantes

Para quantificação dos coliformes termotolerantes foi utilizada a técnica do número mais provável (NMP), onde amostras de queijos foram diluídas e inoculadas em caldo lauril sulfato triptose (LST) contendo tubos de Durham invertidos. A produção de gás no interior dos tubos após incubação a 35 °C por 24 horas indica a possível presença de coliformes, sendo necessária a tomada de alíquotas para a confirmação em caldo EC (também contendo tubos de Durham invertidos) que foram incubados a 45 °C por 24-48 horas, sendo considerados como positivos os tubos com produção de gás neste meio.

4.4.2 *Salmonella sp.*

Para determinação da presença de *Salmonella sp*., amostras dos queijos foram submetidas ao pré-enriquecimento em caldo lactosado a 35 °C, por 16-18 horas, sendo então transferidas alíquotas para tubos com caldos Rappport-Vassiliadis e Tetrationato que foram incubados a 35 °C, por 24 horas. A partir de cada caldo seletivo de enriquecimento, foi transferida uma alçada da amostra para placas de ágar Enterico Hektoen (HE) e ágar Xilose-Lisina-Desoxicolato (XLD), onde foram realizados estriamentos de forma a se obter colônias isoladas. As placas foram incubadas a 35 °C, por 24 horas, sendo as colônias suspeitas transferidas para tubos inclinados de ágar ferro tríplice açúcar (TSI) e ágar ferro lisina (LIA), para confirmação preliminar. Após confirmação foram realizados testes bioquímicos adicionais (VM-VP, urease, meio SIM e citrato) para real confirmação.

4.4.3 *Staphylococcus aureus*

A quantidade de *Staphylococcus aureus* presente nos queijos foi determinada pela técnica de espalhamento em superfície utilizando ágar Baird-Parker (BP) acrescido de uma solução de emulsão de gema de ovo em telurito de potássio (0,01%). As amostras foram incubadas 35 °C por 48 horas e as colônias típicas de *S. aureus* contadas, sendo o resultado expresso em UFC/g de amostra.

4.4.4 Estimativa de vida útil

A avaliação da carga microbiana dos queijos foi feita pela determinação dos micro-organismos mesófilos aeróbios totais durante um período de 35 dias. Foram preparadas as diluições das amostras, em seguida inoculadas em ágar padrão de contagem (PCA) pela técnica de espalhamento em superfície e incubadas a 35 °C por 48 horas, sendo os resultados das contagens expressos em UFC/g.

4.5 ANÁLISES DE COR

A cor das amostras foi analisada com o auxílio de um colorímetro (Chroma Meter Minolta, Japão), para a medição dos parâmetros L*, a* e b*, onde o parâmetro L* indica a luminosidade, variando numa escala de zero a 100 onde representa respectivamente o preto e o branco, o parâmetro a* refere-se à contribuição das cores verde(-)/vermelho(+) e o parâmetro b*, as cores azul(-)/amarelo(+). Foram realizadas leituras referentes à superfície (casca) e ao centro dos queijos com óleos essenciais e do controle. Para representar a tonalidade e a intensidade da cor dos queijos, foram calculados os Ângulo de hue (hº) e Chroma (C) que de acordo com o sistema CIELab o ângulo hue define a tonalidade da cor, como 0º para vermelho, 90º para amarelo, 180º para verde e 270º para azul.

4.6 ANÁLISE DE TEXTURA

A textura dos queijos foi efetuada em um texturômetro (TA.XT plus, Stable Micro System, Inglaterra). O teste foi realizado com compressão por uma sonda cilíndrica de alumínio de 20 mm de diâmetro em amostras de queijo de 2 cm quadrados, à temperatura de 21 ± 1ºC, sendo as condições de teste programadas como: velocidade de pré teste de 2 mm/s; velocidade de teste de 1 mm/s; velocidade de pós teste de 2 mm/s; deformação de 60% da amostra; e célula de carga de 50 Kg. A partir da curva fornecida pelo equipamento foi possível obter a firmeza, a adesividade, a coesividade, a elasticidade, a mastigabilidade e a gomosidade das amostras.

4.7 ANÁLISE SENSORIAL

Os queijos recém produzidos foram avaliados sensorialmente através de testes afetivos utilizando escala hedônica e escala de atitude (QUEIROZ; TREPTOW, 2006). Os testes sensoriais foram conduzidos em cabines individuais com 54 julgadores não treinados de ambos

os sexos. Para realização dos testes sensoriais foram excluídas pessoas intolerantes à lactose ou a proteína do leite. As avaliações sensoriais foram realizadas somente a partir da aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da universidade e o parecer do Comitê de Ética em Pesquisa na Área da Saúde (CEPAS) da FURG autorizando a pesquisa de análise sensorial se encontra no Anexo II.

4.7.1 Teste em escala hedônica

Foi entregue antes do momento da degustação das amostras uma ficha de avaliação (Anexo III) dividida em nove pontos, contendo expressões que variam desde "desgostei muitíssimo" correspondente ao menor valor (1), indiferença (5) e "gostei muitíssimo" correspondendo ao maior valor (9). Posteriormente, foram apresentadas de forma individual amostras de queijos, servidas em copos plásticos codificados com algarismos de três dígitos e em ordem aleatória, juntamente com um copo com água e bolacha para proceder à avaliação. Os dados foram convertidos e analisados estatisticamente.

4.7.2 Teste em escala de atitude

A escala foi composta por cinco afirmativas, sendo seus extremos ancorados em "Certamente compraria" e "Certamente não compraria". Através das respostas foi possível prever a intenção de consumo do queijo com adição de óleos essenciais. Os dados foram convertidos e analisados estatisticamente.

4.7.3 Análise estatística

As fichas de respostas preenchidas pelos julgadores foram organizadas e a escala nominal foi transformada em valores numéricos para análise dos resultados. No Quadro 1, estão as escalas utilizadas na avaliação de aceitação e a intenção de compra e os respectivos valores atribuídos a cada terminologia.

Quadro 1 - Escalas de aceitação e intenção de compra e os respectivos valores dos termos utilizados.

Aceitação	Intenção de compra
1 - Desgostei muitíssimo 2 - Desgostei muito 3 - Desgostei regularmente 4 - Desgostei ligeiramente 5 - Indiferente 6 - Gostei ligeiramente 7 - Gostei regularmente 8 - Gostei muito 9 – Gostei muitíssimo	1 - Certamente não compraria 2 - Provavelmente não compraria 3 - Talvez comprasse, talvez não comprasse 4 - Provavelmente compraria 5 - Certamente compraria

Os dados obtidos foram avaliados por ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) (MINIM, 2013) utilizando o *Software Statistica 7.0*.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais

No teste de atividade antioxidante foram utilizados 20 µg de cada óleo essencial (sendo o misto uma mistura de 10 µg de cada óleo), onde os valores encontrados estão dispostos na Tabela 3. Nota-se que o óleo essencial de orégano apresentou maior atividade antioxidante, pois de acordo com Souza et al. (2007) quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor foi a sua concentração eficiente (quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50%) e maior a sua atividade antioxidante.

Tabela 3 – Atividade antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais.

Testes	Óleos Essenciais		
	Orégano	Gengibre	Misto
Concentração eficiente (EC_{50})	22,83 µg/mL	1733,9 µg/mL	186,1 µg/ml
Halo de inibição (mm)	$55,9 \pm 2,9^{a}$	$29,1 \pm 8,1^{b}$	$39,6 \pm 9,0^{b}$

Resultados expressos como média ± desvio padrão. Letras iguais na mesma linha não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$)

O óleo essencial de orégano apresentou uma boa atividade antioxidante, com valores de EC_{50} aproximados aos de compostos considerados como de excelente capacidade, como o ácido ascórbico que possui atividade relatada na literatura de 12,66 µg/mL (WEILER et al., 2010).

O óleo essencial de gengibre apresentou baixa atividade antioxidante, fato este também relatado por Andrade et al. (2012), que constatou que o óleo essencial de gengibre não apresentou atividade antioxidante significativa pelo teste de captura de radicais livres (DPPH). E a mistura dos dois óleos apresentou capacidade antioxidante intermediária, devido principalmente a atividade do óleo essencial de orégano.

Ambos os óleos essenciais, tanto de orégano, como de gengibre, além da mistura destes, apresentaram efeito antimicrobiano sobre o micro-organismo *Staphylococcus aureus*. A literatura (TRAJANO et al., 2009) considera como possuidor de atividade antimicrobiana aquele composto que apresenta a formação de um halo de inibição igual ou superior a 10 mm de diâmetro. A Figura 4 ilustra o halo de inibição apresentado pelo óleo essencial de orégano e a Figura 5 o halo de inibição pelo óleo essencial de gengibre.

Figura 4 – Halo de inibição formado pelo óleo de orégano.

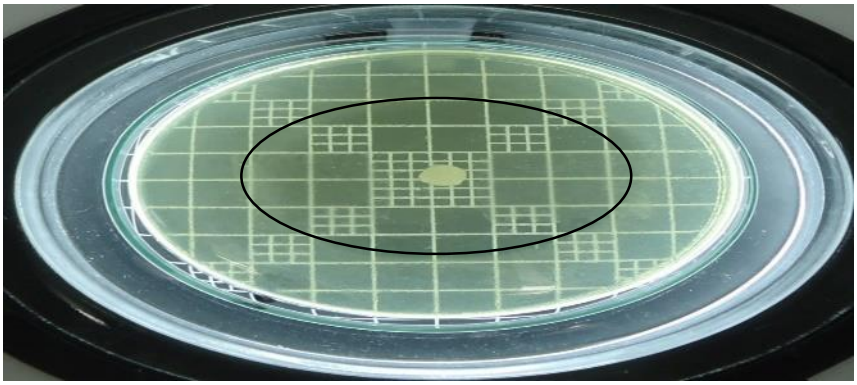
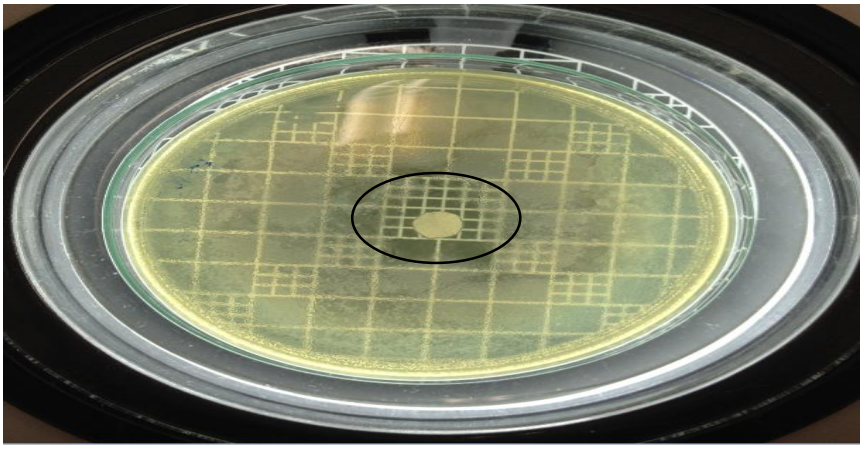


Figura 5 – Halo de inibição formado pelo óleo de gengibre.



O óleo essencial de orégano apresentou um efeito antimicrobiano significativamente ($p \leq 0,05$) maior do que o óleo de gengibre e misto. Resultado semelhante ao encontrado por

Santurio et al. (2011), onde o óleo essencial de orégano apresentou atividade antimicrobiana superior aos óleos essenciais de orégano mexicano, tomilho e canela, quando testado como bactericida frente a *E. coli* isolados de aves e bovinos. E de acordo com Pereira et al. (2008), em testes com óleos essenciais, o óleo essencial de orégano apresentou efeito inibitório sobre as bactérias *S. aureus* e *E. coli*. Comportamento também observado por Santos et al. (2011), onde o óleo essencial de orégano apresentou maiores halos de inibição bacteriana quando comparados com os óleos de cravo, alho e limão, apresentando halos de 26,7 mm e 29,3 mm para as cepas de *E. coli* e *S. aureus*. Bozin et al. (2006) também relataram que a atividade antibacteriana mais eficaz em seu experimento foi expressa pelo óleo essencial de orégano, mesmo em cepas multirresistentes de *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*.

A mistura dos óleos essenciais de orégano e gengibre não apresentaram efeito antimicrobiano superior ao observado nos óleos essenciais individuais (efeito sinergético) contra os micro-organismos da espécie *S. aureus*, e a mistura não apresentou diferença significativa quando comparada com o óleo essencial de gengibre. Esse comportamento também foi verificado por Pereira et al. (2008), que observou que não houve significativa variação entre a combinação e o comportamento individual dos óleos, constatando que não ocorreu sinergismo entre os mesmos, na proporção estudada.

Dessa forma, o óleo essencial de orégano apresentou melhores propriedades antioxidantes e antimicrobianas do que o óleo de gengibre. Os resultados *in vitro* confirmam que este óleo pode ser um bom conservante natural para aplicação nos queijos. Mesmo o óleo de gengibre não apresentando bons resultados, este também foi adicionado aos queijos, devido principalmente as suas propriedades aromatizantes que poderiam contribuir para a avaliação sensorial dos produtos.

5.2 Caracterização da matéria-prima

De acordo com a Instrução Normativa 51/2002 do MAPA (BRASIL, 2002) o leite considerado normal deve manter sua estabilidade durante o teste de alizarol, a acidez deve se encontrar entre 14 e 18°D, a densidade deve estar entre 1,028 a 1,034 g/mL e a quantidade de extrato seco deve ser de no mínimo 11,4%. Ainda, a coloração rosa claro ou tijolo, sem presença de precipitado deve ser alcançada no teste de alizarol e pH entre 6,6 e 6,8 (KOBLITZ, 2011; BEZERRA et al., 2011).

Tabela 4 – Análises físico-químicas do leite utilizado na elaboração dos queijos.

Análises	Leite
pH	6,65 ± 0,1
Acidez (ºD)	16,6 ± 0,1
Extrato seco total (%)	12,72 ± 0,1
Densidade (g/mL)	1,028 ± 0,001
Alizarol	Estável

Resultados expressos como média ± desvio padrão.

Verificando-se Tabela 4, pode-se observar que os parâmetros analisados na matéria-prima estão de acordo com a legislação e a literatura, evidenciando um leite de boa qualidade. A Tabela 5 apresenta a carga microbiana total presente no leite antes e após a pasteurização.

Tabela 5 - Análise microbiológica do leite.

Matéria-prima	Contagem global de micro-organismos
Leite cru	$6,6x10^3$ UFC/mL
Leite pasteurizado	*nd

*nd= não detectado.

O leite apresentou inicialmente uma contagem total de micro-organismos mesófilos de $6,6x10^3$ UFC/mL. De acordo com Tronco (2013) o leite deve ter no máximo $1x10^5$ UFC/mL e o leite proveniente de animais sadios apresenta contagens bacterianas baixas (máximo de $1x10^4$ UFC/mL), sendo assim o leite usado como matéria-prima, além de apresentar uma boa qualidade físico-química, apresenta também uma boa qualidade microbiológica. Essa qualidade (baixa contagem global) pode estar ligada a sanidade do animal, limpeza do úbere, higienização dos utensílios de ordenhas e qualidade da água utilizada (operação de limpeza e higiene pessoal), indicando que a implantação e uso dos princípios das boas práticas são necessários para obtenção de um leite de qualidade.

Não foi observado crescimento microbiano após a pasteurização, demostrando a eficiência do processo. A pasteurização visa destruir os micro-organismos patogênicos não-esporulados e reduzir significativamente a microbiota banal (PEREDA et al., 2005b), sem apresentar modificações na natureza físico-química, nutritiva e sensorial do leite (PEREDA et al., 2005a), sendo a mesma é obrigatória quando se pretende produzir queijos com período de maturação inferior a 2 meses (PEREDA et al., 2005b).

5.3 Análises físico-químicas dos queijos

Considerando que os óleos essenciais eram adicionados aos queijos em quantidades muito pequenas (20 µg/100g de massa de queijo), já era esperado não haver diferença significativa entre as amostras para análises físico-químicas. Por isso, optou-se por avaliar somente duas amostras, uma com a mistura dos dois óleos e uma outra controle (sem adição de óleos), evitando assim o desperdício de reagentes.

Tabela 6 – Análises físico-químicas dos queijos.

Análises/Amostras	Queijo com óleo essencial (misto)	Queijo controle (branco)
pH	6,9 ± 0,1[a]	6,9 ± 0,1[a]
Acidez (%)	0,87 ± 0,1[a]	0,87 ± 0,1[a]
Umidade (%)	57,6 ± 0,5[a]	56,0 ± 0,5[b]
Lipídios (%)	31,3 ± 0,1[a]	31,9 ± 0,2[a]
Proteínas (%)	11,4 ± 0,3[a]	12,0 ± 0,6[a]
Cinzas (%)	0,9 ± 0,1[a]	1,0 ± 0,1[a]

Resultados expressos como média ± desvio padrão. Letras iguais na mesma linha não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$).

Os queijos produzidos não diferiram no nível de confiança de 95% em relação ao pH e a acidez. Em relação ao pH foi verificado que o mesmo se encontra próximo da neutralidade, resultado próximo ao verificado por Sangaletti et al. (2009) e Rosa (2004) que foi de 6,71. O aumento da acidez está diretamente relacionado com o aumento da população dos micro-organismos mesófilos, psicrotróficos e principalmente as bactérias lácticas, as quais são os principais agentes na transformação da lactose em ácido láctico (SANGALETTI et al., 2009). Já o valor encontrado para acidez está próximo do encontrado por Spadoti, Dornellas e Roig (2005) que foi de 0,85% de ácido láctico.

Os queijos apresentaram umidade acima de 55%, sendo considerados queijos de muita alta umidade (FERREIRA e FERREIRA, 2013) e segundo Cunha et al. (2002) o queijo Minas frescal deve apresentar uma umidade de 55 a 58%, resultado este verificado para ambos os queijos. Entretanto, diferem entre si com nível de confiança de 95%. Silva (2005), considera a textura do queijo Minas frescal mole devido ao alto conteúdo de umidade.

De acordo com Brasil (1996), o queijo Minas frescal apresenta um teor de lipídios no extrato seco entre 25,0% e 44,9% e em relação ao teor de gordura os queijos são classificados em desnatados (<10,0%), magros (10,0 a 24,9%), semigordos (25,0 a 44,9%), gordos (45,0 a 59,9%) e extragordos ou duplo creme (≥60,0%). Considerando essa legislação, os queijos

produzidos se enquadram no teor de lipídios encontrado e se classificam em semigordos, apresentando um teor em torno de 31%. O teor de gordura em queijos tipo Minas frescal geralmente apresenta uma grande variação. Essa variação nos percentuais de gorduras pode ser explicada, segundo Fonseca e Santos (2000), pelo fato desta ser o componente mais variável no leite, tendo em vista que é influenciada por diversos fatores: genéticos, ambientais, de manejo e especialmente pela nutrição do animal, implicando em variações no teor de lipídios do queijo. Entretanto o teor de lipídios encontrados está próximo do encontrado por Machado et al. (2004) que foi de 29,2% em queijo Minas frescal.

Na quantificação do teor de proteína, pode-se observar que o teor está de acordo o obtido por Rosa (2004), em torno de 12,4 % em queijo Minas frescal e Oliveira et al. (2013a), de 14 a 18 % para queijo Minas artesanal. Mas Machado et al. (2004) encontraram 17,06 e 18,02% de proteína em queijo Minas frescal. As diferenças no percentual de proteínas podem ser decorrentes das etapas de fabricação do queijo, devido não haver padronização das técnicas utilizadas, entre elas: o tipo de salga, o tempo de maturação, bem como a quantidade de coalho adicionada à massa, pois em excesso, pode ocasionar maior proteólise, implicando na redução do teor de proteínas (OLIVEIRA et al., 2013a). O teor de cinzas encontrado para ambos os queijos se encontrou ao redor de 1%, não diferindo estatisticamente.

5.4 Análise de cor dos queijos

A partir dos parâmetros CIELab foi possível determinar a luminosidade das amostras, bem como determinar os ângulos de hue (h°) e croma (C*) com a intenção de representar a cor dos queijos como um todo, onde os resultados estão dispostos na Tabela 7.

Tabela 7 – Resultados de tonalidade, intensidade e luminosidade dos queijos.

Parâmetros	Amostras de Queijos			
	Orégano	Gengibre	Misto	Controle
L	$93,7 \pm 0,3^{a}$	$92,6 \pm 0,9^{a}$	$92,8 \pm 1,3^{a}$	$92,8 \pm 0,7^{a}$
a*	$-2,4 \pm 0,1^{a}$	$-2,6 \pm 0,1^{a}$	$-2,4 \pm 0,3^{a}$	$-2,5 \pm 0,1^{a}$
b*	$18,8 \pm 0,2^{b}$	$19,9 \pm 1,1^{a}$	$18,6 \pm 0,5^{b}$	$19,7 \pm 0,7^{ab}$
h°	$97,5 \pm 0,2^{a}$	$97,5 \pm 0,3^{a}$	$97,5 \pm 0,1^{a}$	$97,1 \pm 0,2^{a}$
C*	$18,6 \pm 0,6^{b}$	$20,1 \pm 1,1^{a}$	$18,81 \pm 0,5^{ab}$	$19,9 \pm 0,8^{ab}$

Resultados expressos como média ± desvio padrão. Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$).

As amostras produzidas não diferiram a um nível de confiança de 95% em relação a luminosidade (L*), que apresentou valores em torno de 93 representando a tendência para a cor branca. Já o parâmetro a* apresentou valores negativos para todos tipos de queijos, indicando a tendência das amostras à cor verde. Por fim, para o parâmetro b* os valores encontrados para os quatro tipos de queijos foram positivos aproximando-se da coloração amarela apresentando diferença significativa a um nível de confiança de 95%, entretanto os queijos produzidos com a adição dos óleos essenciais não diferem do queijo controle. Resultados estes próximos dos encontrados por Piazzon-Gomes, Prudêncio e Silva (2010), onde o queijo Minas frescal obtido por coagulante microbiano obteve os parâmetros L* de 99,97, a* -5,39 e b* 5,93. E de acordo com Silva (2005) o queijo Minas frescal apresenta coloração esbranquiçada.

Analisando o ângulo de hue, todos os queijos produzidos não diferiram com nível de confiança de 95% e indicam uma tonalidade de cor amarela, pois de acordo com o sistema CIELab o ângulo hue de 90º define esta tonalidade (cor amarela). Entretanto a intensidade da cor (valor C*) dos queijos difere, onde a intensidade da cor do queijo com óleo essencial de orégano difere da intensidade da cor do queijo com óleo essencial de gengibre, podendo ser justificado pela tonalidade da cor do óleo essencial de gengibre que é mais escura (amarelo) do que o óleo essencial de orégano (amarelo claro). Porém, a intensidade da cor de cada um deles não diferiu da intensidade da cor do queijo misto e do controle, devido a mistura dos óleos apresentar uma tonalidade intermediária, não diferindo entre eles e em relação ao controle. Logo, todos os queijos produzidos com adição dos óleos essenciais apresentam a mesma intensidade encontrada no queijo controle.

5.5 Análise microbiológica dos queijos

Os queijos recém produzidos foram submetidos a análises microbiológicas de coliformes termotolerantes, *Staphylococcus aureus* e a presença de *Salmonella sp*. Os resultados encontrados estão dispostos na Tabela 8.

Segundo os padrões vigentes da Resolução RDC nº12/2001 da ANVISA, que estabelece o limite máximo de 10^2 UFC/g para coliformes termotolerantes, de 10^2 UFC/g para *Staphylococcus* coagulase positiva e ausência de *Salmonela* em 25 g de produto, pode-se constatar que todas as amostras se mantiveram dentro dos padrões. As amostras de queijos que foram elaboradas apresentaram o mesmo comportamento, de baixa contaminação microbiana.

Tabela 8 – Análises microbiológicas dos queijos.

Análises	Amostras de queijos			
	Orégano	Gengibre	Misto	Controle
Coliformes termotolerantes (NMP/g)	< 3	< 3	< 3	< 3
Staphylococcus aureus (UFC/g)	*nd	*nd	*nd	*nd
Salmonella sp. (em 25g)	ausente	ausente	ausente	ausente

*nd = não detectado.

O resultado encontrado para coliformes termotolerantes diferiu de vários autores (LOGUERCIO; ALEIXO, 2001; PASSOS et al., 2009; PINTO et al., 2011), onde na maioria das amostras analisadas foi verificada a presença de coliformes termotolerantes acima dos padrões legais exigidos, demostrando que o tratamento térmico do leite não foi eficiente, ou ocorrendo contaminação após este tratamento, devido à manipulação ou contato com superfícies não sanitizadas, ou utilização de leite cru, não pasteurizado para a produção de queijos. Segundo Furtado (2005), a presença em grande número de bactérias do grupo coliformes em queijos como *Enterobacter aerogenes* e *Escherichia coli* ocasiona o chamado estufamento precoce, que ocorre quando há uma forte produção de gás no interior do queijo e normalmente ocorre entre a prensagem e saída da salmoura.

Para as bactérias do grupo *Staphylococcus aureus,* todos os queijos produzidos não apresentaram contagens. Lembrando que a legislação estipula para esse tipo de queijo a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, levando a confirmação das cepas utilizando plasma de coelho para verificar a coagulação, etapa esta desnecessária uma vez que não houve crescimento de colônias típicas. A baixa contagem pode ser provavelmente consequência da pasteurização eficiente, que é capaz de eliminar o *Staphylococcus aureus* e as condições adequadas de higienização dos equipamentos e cuidados por parte do manipulador. Mas para Pereira e Pereira (2005), deve-se tomar cuidado também com os estafilococos não produtores de coagulase, pois também podem ser produtores de enterotoxinas, e deste modo, oferecer risco ao consumidor.

Foi verificado a ausência de *Salmonella sp.* em todos as amostras de queijo analisadas. Resultado este também observado em trabalhos de avaliação microbiológica de queijo Minas frescal de outros pesquisadores (ÁVILA; GALLO, 1996; PEREIRA et al., 1999; BARROS et al., 2013). A ausência de *Salmonella sp*. pode ser em razão da sua discreta incidência no leite, pois é necessário que o rebanho esteja doente ou que o manipulador do leite na fábrica seja portador, ou ainda que utilize água não potável no processamento para a sua detecção

(PEREIRA et al., 1999). A ausência de *Salmonella sp*. também pode estar relacionada à presença de bactérias lácticas, que tornam o queijo um meio adverso à sobrevivência de micro-organismos patogênicos ou em decorrência da condição estressante oriunda do processamento e estocagem à qual o alimento é submetido (MELO; ALVES; COSTA, 2009).

De acordo com Furtado (2005), se as condições de elaboração não forem mantidas sob rígido controle higiênico, o que nem sempre ocorre, o queijo desenvolve facilmente elevados índices de contaminação. O ataque mais comum vem do grupo coliforme (totais ou termotolerantes) e de estafilococos patogênicos (*S. aureus*).

5.6 Estudo da vida útil dos queijos adicionados de óleos essenciais

A contagem dos micro-organismos mesófilos tem sido usada como indicador da qualidade higiênica dos alimentos, fornecendo ideia sobre seu tempo de conservação (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 2001). A maioria das bactérias patogênicas são mesófilas, assim quando se analisar um alimento e encontrar um elevado número de bactérias deste grupo, é sinal de que podem existir bactérias patogênicas no produto (ROSA, 2004).

Após a produção dos queijos, durante 5 semanas, todos foram submetidos a análises de contagem global de micro-organismos mesófilos aeróbios. Os resultados da contagem global de micro-organismos mesófilos aeróbios estão dispostos na Tabela 9.

Tabela 9 – Estudo da vida útil do queijo Minas frescal adicionado de óleos essenciais.

Queijos	Dias de armazenamento					
	0	7	14	21	28	35
Orégano	*nd	$1,0 \times 10^3$	$2,0 \times 10^4$	$1,5 \times 10^4$	$7,2 \times 10^6$	$3,3 \times 10^8$
Gengibre	*nd	$2,4 \times 10^3$	$6,0 \times 10^5$	$8,8 \times 10^5$	$3,2 \times 10^6$	$1,5 \times 10^8$
Misto	*nd	$3,9 \times 10^3$	$1,0 \times 10^5$	$2,3 \times 10^7$	$3,9 \times 10^6$	$1,5 \times 10^8$
Controle	*nd	$5,8 \times 10^2$	$3,4 \times 10^5$	$9,8 \times 10^6$	$1,5 \times 10^7$	$8,4 \times 10^9$

*nd= não detectado.

Com os resultados encontrados na Tabela 9 notou-se que no tempo zero todos os quatro tipos de queijos não apresentaram crescimento de micro-organismos mesófilos aeróbios, mostrando excelente qualidade higiênico sanitária durante todo o processamento dos queijos. Entretanto Sangatelli et al. (2007), em seu estudo da vida útil de queijo Minas verificou que o queijo no dia seguinte a produção apresentou contagem entre 2,75 log UFC/g a 4,91 log UFC/g

($5,6x10^2$ UFC/g a $8,13x10^4$ UFC/g). Resultado este próximo do encontrado com 7 dias de armazenamento, onde se verificou um crescimento de 10^2 a 10^3, sendo que o queijo controle apresentou o menor crescimento seguindo dos queijos com óleo essencial de orégano, gengibre e misto. Em 14 dias de armazenamento se verificou que o queijo com óleo essencial de orégano se mostrou mais eficiente no controle dos micro-organismos mesófilos aeróbios com contagens de 10^4, os demais queijos apresentaram contagens de 10^5. Com tempo de 21 dias de armazenamento também foi observado que o queijo com óleo essencial de orégano foi mais eficiente no controle de micro-organismos mesofilos aeróbios, sendo seguido pelos queijos com óleo essencial de gengibre, controle e com a mistura dos óleos essenciais. Mallet (2011) verificou em seu estudo de conservação de queijos tipo Quark que o óleo essencial de orégano apresentou efeito inibitório satisfatório nas concentrações de 15,62 µg/mL e 31,25 µg/mL tanto em bactérias Gram-positivas como para as Gram-negativas, com valores de concentração mínima inibitória semelhantes.

Após 28 dias de armazenamento os queijos apresentaram crescimento de 10^6 a 10^7, sendo que os queijos com os óleos essenciais se mostraram mais eficientes no controle dos micro-organismos mesófilos aeróbios do que no queijo controle. Resultado este também observado com 35 dias de armazenamento, onde todos os queijos produzidos com adição dos óleos essenciais apresentaram crescimento de 10^8 e o controle de 10^9, induzindo que o uso dos óleos essenciais contribui por um maior tempo de armazenamento. Sangaletti et al. (2009), que avaliaram as alterações de queijos Minas frescal durante o armazenamento por 30 dias a 4 °C, por meio de análises microbiológicas e físico-químicas, verificaram um crescimento contínuo de micro-organismos mesófilos aeróbios durante todo o período de estudo (30 dias), onde atingiu contagens média muita mais elevadas de 11,47 log UFC/g ($2,95x10^{11}$ UFC/g).

Rosa (2004), que avaliou queijos tipos Minas frescal submetidos à atmosfera modificada e vácuo, verificou no controle a presença progressiva de micro-organismos mesófilos aeróbios totais de 7,2 log de UFC/g até 9,5 log de UFC/g ($1,6x10^7$ até $3,2x10^9$ UFC/g) num período de armazenamento de 17 dias e este queijo apresentou índice de aceitabilidade progressiva sendo rejeitado no 17º dia de armazenamento. Já os queijos com atmosfera alterada apresentaram contagem estabilizada de 8,9 log de UFC/g ($7,9x10^8$ UFC/g) ao final de 40 dias de armazenamento e foram aceitos sensorialmente. Se compararmos com o valor de índice de rejeição destes queijos, de $3,2x10^9$ UFC/g, todos os queijos produzidos com adição dos óleos essenciais nesse estudo por um período de 35 dias poderiam ser aceitos sensorialmente, devido uma contagem não superior a 10^9. Contudo, o queijo controle seria rejeitado devido a contagem de $8,4x10^9$ UFC/g.

A legislação brasileira federal não estabelece limite para o total de micro-organismos mesófilos aeróbios em alimentos. No entanto, segundo Wolupeck et al. (2012) a legislação sanitária do Estado de São Paulo considera o valor de $1x10^6$ UFC/g como limite para a contagem de aeróbios mesófilos em produtos alimentícios manipulados. Franco e Landgraf (1996) também relatam que quando ocorrem alterações detectáveis a maioria dos alimentos apresentam números superiores a 10^6 UFC/g do alimento. Portanto, os queijos adicionados de óleos essenciais de orégano e gengibre apresentaram um período de vida de prateleira de até 21 dias, o queijo controle e o queijo misto de aproximadamente 14 dias, indicando que a adição dos óleos essenciais de forma individual se mostraram mais eficiente no controle dos micro-organismos. A adição dos óleos essenciais de orégano e gengibre contribuíram para que os queijos tivessem uma semana a mais de vida de prateleira. ABIQ (2015) menciona que este tipo de queijo geralmente tem validade curta, em torno de 20 dias, mas sendo utilizada embalagem à vácuo. Em nosso estudo foram obtidos resultados semelhante para os queijos adicionados de óleos essenciais de orégano e gengibre sem utilizar embalagem à vácuo.

Foi realizado em paralelo ao estudo de vida de prateleira dos queijos, o acompanhamento do pH e a determinação do parâmetro L* de todos os queijos e foi constatado que houve pouca variação durante todo o período estudado e os resultados estão em anexos (Apêndice II e Apêndice III respectivamente).

5.7 Análise de textura

A determinação da textura foi efetuada por um texturômetro. A partir da curva fornecido pelo equipamento, foi possível obter os valores para firmeza, adesividade, coesividade, elasticidade, mastigabilidade e gomosidade dos queijos. Os resultados obtidos se encontram na Tabela 10 e Tabela 11, onde o Queijo 1 é o queijo elaborado com a adição de óleos essencial de orégano, o Queijo 2 é o queijo elaborado com a adição de óleo essencial de gengibre, o Queijo 3 é o queijo elaborado a partir da mistura dos óleos essenciais e Queijo 4 representa o queijo controle.

Tabela 10 - Perfil de textura dos queijos para firmeza, coesividade e adesividade.

Firmeza (kgf)				
Tempo (dias)	Queijo 1	Queijo 2	Queijo 3	Queijo 4
0	$0,862 \pm 0,121^{cAB}$	$0,804 \pm 0,030^{dAB}$	$0,732 \pm 0,057^{dB}$	$0,975 \pm 0,097^{cA}$
7	$0,920 \pm 0,103^{cC}$	$1,386 \pm 0,194^{bA}$	$1,182 \pm 0,152^{abB}$	$1,613 \pm 0,213^{bA}$
14	$0,689 \pm 0,020^{cB}$	$0,957 \pm 0,071^{cdA}$	$1,079 \pm 0,101^{cA}$	$1,014 \pm 0,111^{cA}$
21	$1,586 \pm 0,140^{abB}$	$2,355 \pm 0,115^{aA}$	$2,268 \pm 0,196^{aA}$	$2,239 \pm 0,075^{aA}$
28	$1,379 \pm 0,056^{bAB}$	$1,283 \pm 0,114^{bB}$	$1,304 \pm 0, 123^{cAB}$	$1,533 \pm 0,047^{bA}$
35	$1,676 \pm 0,070^{aA}$	$1,182 \pm 0,033^{bcB}$	$1,623 \pm 0,046^{bA}$	$1,779 \pm 0,127^{bA}$
Coesividade				
Tempo (dias)	Queijo 1	Queijo 2	Queijo 3	Queijo 4
0	$0,387 \pm 0,066^{aA}$	$0,352 \pm 0,073^{aAB}$	$0,307 \pm 0,031^{aAB}$	$0,481 \pm 0,080^{aA}$
7	$0,400 \pm 0,098^{aA}$	$0,401 \pm 0,103^{aA}$	$0,290 \pm 0,011^{aA}$	$0,409 \pm 0,066^{abA}$
14	$0,427 \pm 0,056^{aA}$	$0,366 \pm 0,038^{aA}$	$0,329 \pm 0,062^{aA}$	$0,324 \pm 0,036^{abA}$
21	$0,377 \pm 0,072^{aA}$	$0,446 \pm 0,082^{aA}$	$0,422 \pm 0,210^{aA}$	$0,428 \pm 0,073^{aA}$
28	$0,153 \pm 0,003^{bB}$	$0,309 \pm 0,057^{aA}$	$0,165 \pm 0,030^{aB}$	$0,256 \pm 0,47^{bAB}$
35	$0,266 \pm 0,048^{abA}$	$0,282 \pm 0,066^{aA}$	$0,346 \pm 0,016^{aA}$	$0,375 \pm 0,039^{abA}$
Adesividade (kgf.s)				
Tempo (dias)	Queijo 1	Queijo 2	Queijo 3	Queijo 4
0	$0,013 \pm 0,004^{aBC}$	$0,030 \pm 0,005^{aAB}$	$0,035 \pm 0,013^{abA}$	$0,007 \pm 0,001^{aC}$
7	$0,020 \pm 0,010^{aA}$	$0,012 \pm 0,015^{aA}$	$0,011 \pm 0,004^{cA}$	$0,007 \pm 0,004^{aA}$
14	$0,012 \pm 0,001^{aA}$	$0,012 \pm 0,001^{aA}$	$0,009 \pm 0,002^{cA}$	$0,058 \pm 0,056^{aA}$
21	$0,027 \pm 0,011^{aA}$	$0,018 \pm 0,005^{aA}$	$0,049 \pm 0,012^{aA}$	$0,056 \pm 0,035^{aA}$
28	$0,028 \pm 0,005^{aA}$	$0,019 \pm 0,010^{aA}$	$0,019 \pm 0,003^{bcA}$	$0,014 \pm 0,003^{aA}$
35	$0,028 \pm 0,075^{aA}$	$0,022 \pm 0,008^{aA}$	$0,015 \pm 0,009^{abcA}$	$0,027 \pm 0,032^{aA}$

Resultados expressos como média ± desvio padrão. Valores apresentando letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$) e valores apresentando letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$).
Legenda: Queijo 1 – Queijo adicionado de óleo essencial de Orégano; Queijo 2 – Queijo adicionado de óleo essencial de Gengibre; Queijo 3 – Queijo adicionado da mistura dos óleos essenciais de Orégano e Gengibre; Queijo 4 – Queijo controle.

A firmeza dos queijos praticamente aumentou ao longo do tempo de armazenamento. As amostras do dia 21 foram as que apresentaram maiores valores de firmeza. Outros trabalhos também verificaram um aumento de firmeza de queijos ao longo do armazenamento (BERTOLINO et al., 2011; BURITTI; CARDARELLI; SAAD, 2008). A adição dos óleos diminuíram a firmeza dos queijos na maioria das amostras analisadas no mesmo dia de armazenamento, indicando que mesmo uma pequena quantidade adicionada de óleo foi suficiente para influenciar a firmeza dos queijos. Isso se deve principalmente ao fato dos óleos diminuir a interação proteína-proteína entre as caseínas, deixando a massa dos queijos mais

macia. Segundo Fernandes (2013), a firmeza dos queijos depende das forças das interações entre os elementos estruturais que compõem a sua micro e macroestrutura.

Tabela 11 - Perfil de textura dos queijos para elasticidade, gomosidade e mastigabilidade.

Elasticidade				
Tempo (dias)	Queijo 1	Queijo 2	Queijo 3	Queijo 4
0	0,884 ± 0,020^{aA}	0,889 ± 0,016^{aA}	0,896 ± 0,022^{aA}	0,861 ± 0,008^{aA}
7	0,880 ± 0,023^{aA}	0,870 ± 0,008^{aA}	0,838 ± 0,019^{abA}	0,887 ± 0,024^{aA}
14	0,871 ± 0,009^{aA}	0,873 ± 0,016^{aA}	0,855 ± 0,025^{aA}	0,876 ± 0,018^{aA}
21	0,876 ± 0,043^{aA}	0,833 ± 0,014^{aA}	0,857 ± 0,037^{aA}	0,831 ± 0,038^{aA}
28	0,718 ± 0,021^{aA}	0,857 ± 0,020^{aA}	0,751 ± 0,062^{bA}	0,835 ± 0,037^{aA}
35	0,844 ± 0,009^{aA}	0,844 ± 0,033^{aA}	0,864 ± 0,005^{aA}	0,852 ± 0,033^{aA}
Gomosidade (kgf)				
Tempo (dias)	Queijo 1	Queijo 2	Queijo 3	Queijo 4
0	0,366 ± 0,095^{bcA}	0,247 ± 0,034^{cA}	0,260 ± 0,074^{bA}	0,774 ± 0,120^{bcA}
7	0,366 ± 0,088^{bcB}	0,542 ± 0,067^{bAB}	0,344 ± 0,058^{bB}	0,668 ± 0,177^{abA}
14	0,295 ± 0,047^{bcA}	0,349 ± 0,033^{bcA}	0,351 ± 0,048^{bA}	0,331 ± 0,071^{cA}
21	0,592 ± 0,078^{aA}	1,049 ± 0,198^{aA}	0,982 ± 0,534^{aA}	0,956 ± 0,149^{aA}
28	0,212 ± 0,012^{cB}	0,400 ± 0,107^{bcA}	0,214 ± 0,020^{bB}	0,392 ± 0,068^{bcA}
35	0,445 ± 0,071^{abB}	0,334 ± 0,084^{bcB}	0,562 ± 0,031^{abB}	0,665 ± 0,061^{abA}
Mastigabilidade (kgf)				
Tempo (dias)	Queijo 1	Queijo 2	Queijo 3	Queijo 4
0	0,296 ± 0,078^{bcA}	0,220 ± 0,029^{cA}	0,232 ± 0,060^{bA}	0,408 ± 0,107^{bA}
7	0,321 ± 0,071^{bcB}	0,471 ± 0,059^{bAB}	0,288 ± 0,055^{bB}	0,587 ± 0,160^{abA}
14	0,257 ± 0,041^{bcA}	0,305 ± 0,023^{bcA}	0,301 ± 0,045^{bA}	0,290 ± 0,066^{bA}
21	0,520 ± 0,086^{aA}	0,875 ± 0,176^{aA}	0,852 ± 0,475^{aA}	0,798 ± 0,158^{aA}
28	0,152 ± 0,009^{cB}	0,342 ± 0,091^{bcA}	0,161 ± 0,028^{bB}	0,328 ± 0,066^{bA}
35	0,376 ± 0,058^{abB}	0,281 ± 0,065^{bcB}	0,485 ± 0,029^{abB}	0,566 ± 0,034^{abA}

Resultados expressos como média ± desvio padrão. Valores apresentando letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$) e valores apresentando letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$).
Legenda: Queijo 1 – Queijo adicionado de óleo essencial de Orégano; Queijo 2 – Queijo adicionado de óleo essencial de Gengibre; Queijo 3 – Queijo adicionado da mistura dos óleos essenciais de Orégano e Gengibre; Queijo 4 – Queijo controle.

Com relação à coesividade, esta não apresentou um comportamento característico em relação ao tempo de armazenamento, oscilando o longo do tempo, e quase não apresentando diferença significativa ($p \geq 0,05$) entre as diferentes amostras. A adesividade não apresentou variação significativa ($p \geq 0,05$) ao longo do tempo para as amostras de queijos 1, 2 e 4, somente

a amostra 3 (queijo misto) apresentou uma variação aleatória durante o período de armazenamento.

A elasticidade também foi outra propriedade de textura que praticamente não apresentou variação significativa ao longo do tempo e entre as amostras. Somente a amostra de queijo 3 do dia 28 apresentou uma certa perda de elasticidade. A gomosidade e a mastigabilidade também não apresentaram um comportamento característico, sendo que as amostras do dia 21 foram as que apresentaram os maiores valores de ambos. A gomosidade e a mastigabilidade são parâmetros secundários (uma vez que derivam de outros parâmetros já analisados), apresentam também resultados semelhantes.

Os resultados do perfil de textura estão próximos dos resultados encontrados por Piazzon-Gomes, Prudêncio e Silva (2010), onde obtiveram para o queijo tipo Minas frescal tradicional uma firmeza de 1,593 kgf (15,626 N), fraturabilidade de 0,021 Kgf.s (0,19987 N), adesividade de 0,0168 Kgf.s (0,1649 N.s), elasticidade de 0,9175, coesividade 0,6272 e mastigabilidade de 0,9138 Kgf (8,962 N).

A tendência dos parâmetros de textura analisados geralmente é de aumentar com o tempo de armazenamento, uma vez que durante o armazenamento os queijos tipo Minas frescal continuam a perder água de sua massa. Esse dessoramento contribuiu principalmente para o aumento da firmeza como foi verificado neste trabalho. O emprego de métodos instrumentais para a avaliação da textura vem sendo amplamente estudado, principalmente devido à facilidade e simplicidade de padronização em relação à utilização de painéis sensoriais treinados. Entretanto, é importante ressaltar que a impressão sensorial do consumidor é fundamental para a escolha de um produto alimentício, pois há outros parâmetros sensoriais, como o sabor, o aroma e a aparência, que também podem contribuir para essa escolha (BURITI et al., 2008).

5.8 Análise Sensorial

Participaram da análise sensorial 54 julgadores com faixa etária de 17 a 58 anos de idade, com média de 23 anos, onde a maioria constatou o hábito de consumir queijo. Na Tabela 12 estão apresentadas as médias e os respectivos desvios-padrão do teste de aceitação (escala hedônica) e teste de intenção de compra.

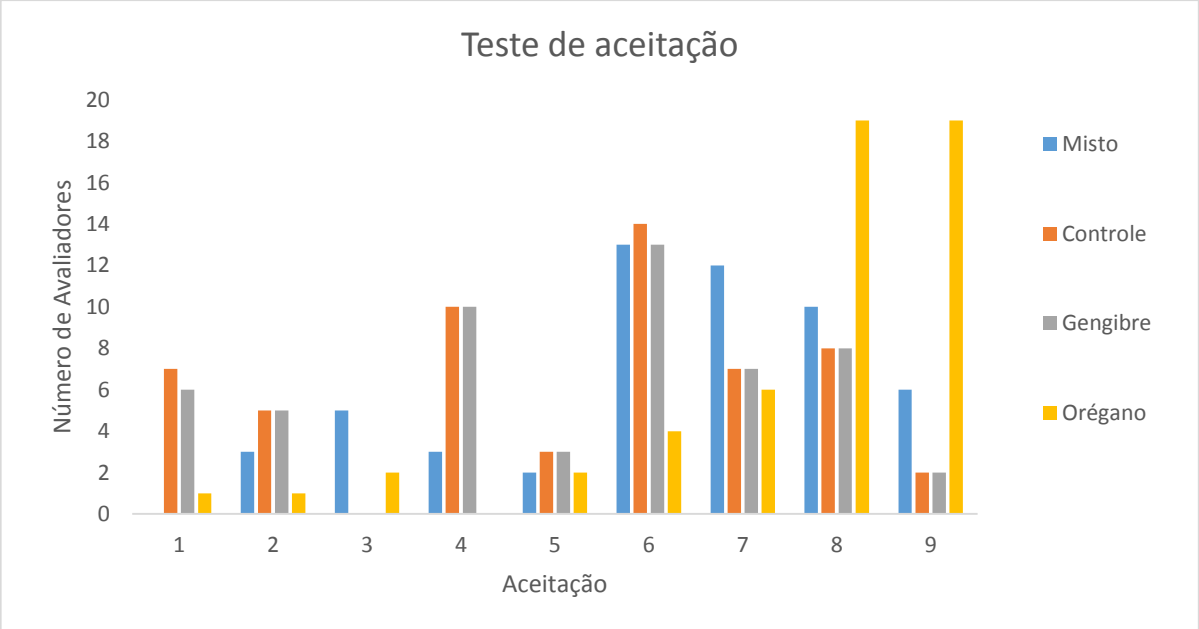
Tabela 12 - Notas dos testes sensoriais atribuídos aos queijos.

	Valor mín. e máx. da escala	Amostras de queijos			
		Orégano	Gengibre	Misto	Controle
Aceitação	1 a 9	$7,5 \pm 1,86^{a}$	$5,2 \pm 2,35^{c}$	$6,3 \pm 1,98^{b}$	$7,6 \pm 1,12^{a}$
Intenção de compra	1 a 5	$4,2 \pm 0,94^{a}$	$2,9 \pm 1,27^{c}$	$3,5 \pm 1,13^{b}$	$4,4 \pm 0,71^{a}$

Resultados expressos como média ± desvio padrão. Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$).

Perante os avaliadores, em relação a aceitação, os queijos com óleo essencial de orégano e o controle não apresentaram diferenças no nível de confiança de 95% e ambos se enquadraram entre os conceitos “gostei regularmente” e “gostei muito”. Os queijos com óleo essencial de gengibre e a mistura dos óleos (misto) apresentaram diferenças no nível de confiança de 95% entre si e aos demais queijos. O queijo com o óleo essencial de gengibre se enquadrou entre os conceitos de “indiferente” e “gostei ligeiramente” já o queijo misto se enquadrou nos conceitos “gostei ligeiramente” e “gostei regularmente”. Ficou claro que a adição do óleo essencial de gengibre aos queijos na concentração testada, afetou negativamente a qualidade sensorial dos queijos, principalmente com relação ao sabor. A Figura 6 expressa os resultados correspondentes ao teste de aceitação.

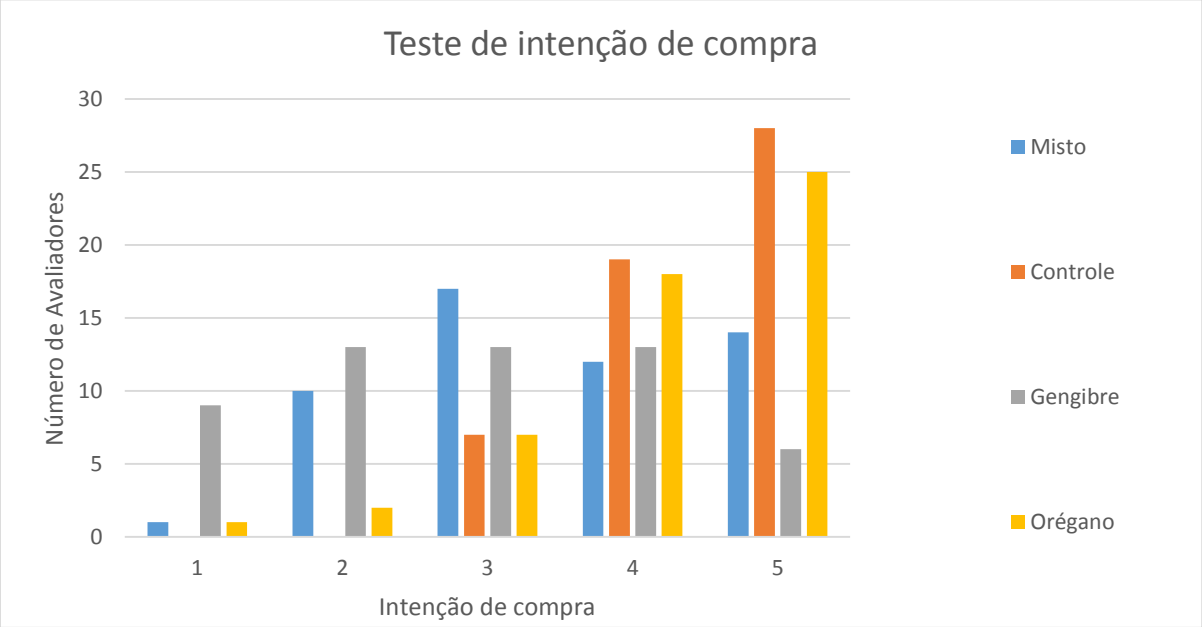
Figura 6 – Notas atribuídas pelos julgadores para as amostras de queijo no teste de aceitação sensorial.



De acordo com Machado et al. (2004), após seiscentas observações (30 julgadores analisando 20 amostras) do queijo Minas artesanal do Serro, constatou-se uma média geral, na pontuação definida na escala hedônica, de 6, o que atribui ao queijo uma classificação: "gostei ligeiramente". Esse valor foi considerado baixo, uma vez que o queijo Minas do Serro é conhecido pela sua boa aceitação pelo mercado consumidor.

Em relação a intenção de compra foi constatado diante dos avaliadores que o queijo com adição do óleo essencial de orégano e o queijo sem adição de óleo essencial (controle) não diferem no nível de confiança de 95% e ambos se enquadraram entre os conceitos “provavelmente compraria” e “certamente compraria”. O queijo com a mistura dos óleos essenciais se enquadrou entre os conceitos “talvez comprasse, talvez não comprasse” e “provavelmente compraria”. Já o queijo com o óleo essencial de gengibre se enquadrando entre os conceitos “provavelmente não compraria” e “talvez comprasse, talvez não comprasse”. Os queijos com o óleo essencial de gengibre e a mistura dos óleos diferem entre si e aos demais com nível de confiança de 95%. A Figura 7 expressa os resultados correspondentes ao teste de intenção de compra dos queijos.

Figura 7 - Notas atribuídas pelos julgadores para as amostras de queijo no teste de intenção de compra.



Os resultados obtidos foram semelhantes ao encontrado por Mallet (2011), que observou que amostras de queijo Quark condimentadas com óleo essencial de orégano, nas concentrações de 0%, 0,015% e 0,1%, obtiveram melhor aceitação com 6,8, 6,8 e 7,0 para a aspecto de

aceitação global, indicando preferência por parte dos extremos pelos provadores e no teste de intenção, 50%, 54% e 67% dos provadores responderam que certamente comprariam (nota 5) ou possivelmente comprariam (nota 4) as amostras de concentração 0%, 0,015% e 0,1% respectivamente.

Os resultados deste trabalho indicaram que o adição de óleo essencial de orégano ao queijo tipo Minas frescal, além de apresentar bons resultados na avaliação sensorial, também foi eficiente para reduzir a carga microbiana total nos queijos ao longo do período de armazenamento. Já o óleo de gengibre apresentou muito baixa capacidade antioxidante e pouca atividade antimicrobiana frente ao micro-organismo *Staphylococcus aureus*, mesmo assim foi selecionado para ser utilizado na elaboração dos queijos, principalmente devido as suas características sensoriais diferenciadas. No entanto, o resultado da avaliação sensorial destes queijos não foi boa, principalmente devido ao forte sabor e aroma que foram conferidos aos queijos na concentração de 20 µg/100g que foi testada deste óleo.

Outro aspecto importante a acrescentar, é que a utilização de óleos essenciais de plantas além e conferir aroma, sabor e estender a vida de prateleira dos queijos tipo Minas frescal, também podem conferir ao produto um caráter funcional, devido as suas propriedades medicinais já comprovadas (CORRÊA et al., 2010; DABAGUE et al., 2011).

6 CONCLUSÃO

O óleo essencial de orégano apresentou melhor atividade antioxidante do que o óleo essencial de gengibre e do que a mistura dos dois óleos. Os óleos também apresentaram efeito antimicrobiano, sendo que o óleo essencial de orégano apresentou um efeito antimicrobiano significativamente ($p \leq 0,05$) maior do que os óleos de gengibre e misto. Não foi observado um efeito sinergético entre os óleos quando testados com *S. aureus*.

O leite utilizado na elaboração dos queijos se mostrou de boa qualidade físico-química, além de microbiológica, possibilitando obter produtos de qualidade a partir do mesmo. Os queijos produzidos com este leite, adicionados de óleos essenciais não diferiram significativamente ($p \geq 0,05$) em relação as suas características físico-químicas de pH, acidez, lipídios, proteínas e cinzas, com exceção do teor de umidade, entretanto este estava dentro dos intervalos estipulados para esse tipo de queijo, mostrando que o uso dos óleos essenciais na concentração de 20 µg/100g não diferiu do queijo controle.

Os queijos produzidos também apresentaram pouca variação em relação a coloração, não diferindo significativamente para os parâmetros analisados de luminosidade (L*), croma

a*, e ângulo de hue (h°). Os valores de croma b* e de intensidade (C*) foram maiores para o queijo adicionado de óleos de gengibre por este possuir uma coloração amarela mais forte, mas estatisticamente igual ao queijo controle.

Todos os queijos produzidos apresentaram excelente qualidade microbiológica em relação as análises de coliformes termotolerantes, *Staphylococcus aureus, Salmonella sp.* mostrando que tomando os devidos cuidados com a obtenção da matéria-prima e aplicado os princípios das boas práticas de fabricação, é possível obter um produto de boa qualidade higiênico-sanitária.

O uso de óleos essenciais de orégano e gengibre, utilizados separadamente na elaboração dos queijos tipo Minas frescal, mostrou-se promissor no controle de micro-organismos mesófilos aeróbios totais até 21 dias de armazenamento.

A textura dos queijos medida instrumentalmente ao longo do período de armazenamento não apresentou um comportamento característico para os parâmetros avaliados de coesividade, adesividade, elasticidade, gomosidade e mastigabilidade. Somente a firmeza aumentou ao longo do tempo de armazenamento, apresentando maiores valores em 21 dias.

O queijo com adição de óleo essencial de orégano e o controle tiveram a mesma aceitação e intenção de compra, demostrando que a adição do óleo essencial de orégano na massa de queijo além de conferir propriedade conservantes se mostra bem aceito pelos consumidores. Já o queijo com a mistura dos óleos essenciais de orégano e gengibre foi aceito ligeiramente e o queijo com o óleo essencial de gengibre se mostrou pouco aceito, indicando que a concentração testada, afetou negativamente a qualidade sensorial do queijo adicionado deste óleo.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, M. A.; CARDOSO, M. G.; BATISTA, R. L.; MALLET, A. C. T.; MACHADO, S. M. F. Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus, Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana1. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 2, p. 399-408, abr. /jun., 2012.

ABIQ - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIA DE QUEIJOS. **Tipos de queijo: Queijos de leite de vaca.** São Paulo, 2015.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of the Association of the Agricultural Chemists**. 17. ed. Washington, DC, 2000. v. 2, 1175.

ÁVILA, C. R.; GALLO, C. R. Pesquisa de *Salmonella sp*. em leite cru, leite pasteurizado tipo C e queijo "Minas Frescal" comercializados no município de Piracicaba- SP. **Scientia Agricola**. v.53, n. 1, p. 159-163, jan/abr. 1996.

BANCO DO BRASIL. **Bovinocultura de leite**: Desenvolvimento regional sustentável, Série cadernos de propostas para atuação em cadeias produtivas, v. 1, Brasília, 2010.

BARROS, P. C. O. G.; NOGUEIRA, L. C.; RODRIGUEZ, E. M.; CHIAPPINI, C. C. J. BEZERRA, J. R. M. V.; RIGO, M.; RAYMUNDO, M. S.; BASTOS, R. G. **Introdução à tecnologia de leite e derivados**. Guarapuava: Unicentro, 2011. 192 p., 2013.

BERTOLINO, M.; DOLCI,P.; GIORDANO, M.; ROLLE, L.; ZEPPA, G. Evolution of chemico-physical characteristics during manufacture and ripening of Castelmagno PDO cheese in wintertime. **Food Chemistry**, v.1 n. 129, p. 1001–1011, 2011.

BEZERRA, J.R.M.V.; RIGO, M.; RAYMUNDO, M.S.; BASTOS, R.G. Introdução á tecnologia de leite e derivados. Guarapuava: Unicentro, 2011.

BOZIN, B.; MIMICA-DUKIC, N.; SIMIN, N.; ANACKOV, G. Characterization of the volatile composition of essential oils of some Lamiaceae spices and the animicrobial and antioxidant activities of the entire oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 5, p. 1822-1828, 2006.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C.Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm. Wiss. U. Technol**., London, v. 28, n. 1, p. 22:25-30. 1995.

BRASIL. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA. Instrução Normativa nº 1.283, de 29 de março de 1952. Aprova o Decreto nº 30.691 sobre Inspeção Industrial e Sanitária do Leite e Derivados. **Diário Oficial da União,** Brasília, DF, 18 de dezembro de 1952.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Portaria n°146, de 07 de março de 1996. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Queijos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 11 março 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Instrução Normativa n° 104, de 14 de maio de 1999. Aprova o Regulamento Técnico sobre Aditivos Aromatizantes / Aromas. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 26 de abril de 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 de janeiro de 2001.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico sobre de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite tipo B, do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel, em conformidade com os Anexos a esta Instrução Normativa. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 de setembro de 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Instrução Normativa n° 04, de 01 de março de 2004. Altera a Portaria nº 352 de 04, de setembro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Queijo Minas Frescal. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 1 de março de 2004.

BURITI, F. C. A.; CARDARELLI, H. R.; SAAD, S. M. I. Textura instrumental e avaliação sensorial de queijo fresco cremoso simbiótico: implicações da adição de *Lactobacillus paracasei*e inulina**. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 1, jan./mar., 2008.

CASTANHEIRA, A. C. G. **Controle de qualidade de leite e derivados**. 2º Edição, Editora Cap-Lab, 2012.

CORRÊA, R. M.; PINTO, J. E. B. P.; REIS, E. S.; COSTA, L. C. B.; ALVES, P. B.; NICULAN, E. S. ; BRANT, R. S. Adubação orgânica na produção de biomassa de plantas, teor e qualidade de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) em cultivo protegido. **Revista brasileira de plantas medicinais**. Botucatu, v. 12, n. 1, p. 80-89, jan./mar. 2010.

CUNHA, C. R.; SPADOTI, L. M.; ZACARCHENCO, P. B.; VIOTTO, W. H. Efeito do fator de concentração do retentado na composição e proteólise de queijo minas frescal de baixo teor de gordura fabricado por ultrafiltração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 1, p. 82-87, jan.-abr. 2002.

DABAGUE, I. C. M.; DESCHAMPS, C.; MÓGOR, A. F.; SCHEER, A. P. CÔCCO, L. Teor e composição de óleo essencial de rizomas de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) após diferentes períodos de secagem. **Revista brasileira de plantas medicinais**. Botucatu, v. 13, n. 1, p. 79-84, jul. 2011.

FELÍCIO, B. A.; LEMPK, M. W.; PINTO, M. S.; BRANDI. I.V.; REZENDE, V P. Efeito in-vitro de nisina sobre pool de staphylococcus aureus isolados de queijos Minas artesanal da região do campo das Vertentes-MG. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 68, n. 391, p. 19-23, mar./abr., 2013.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos**: princípios e práticas. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 602p.

FERNANDES, J. M. P. L. **Estudo de desenvolvimento de um sistema de embalagem ativa para queijo marinhas**. Tese apresentada à Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica Portuguesa, 2013.

FERREIRA, C. L. L. F.; FERREIRA, D. G. S. **Produção de iogurte, bebida láctea, doce de leite e requeijão cremoso**. Viçosa, MG, CPT, p. 71-109, 2013.

FILHO, E. S. A.; FILHO, A. N. Ocorrência de Staphylococcus aureus em queijo tipo frescal, **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 34, n. 6, p. 578-80, 2000.

FILHO, R. R. L. **Aumenta o consumo de queijo no Brasil**, 2010. Disponível em: <www.scotconsultoria.com.br>. Acesso em: 14 maio 2015.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**.1.ed. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 94p.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996.

FURTADO, M. M. **Principais problemas dos queijos**: Causas e prevenção. São Paulo, Brasil, 2005.

GAVA, A. J.; SILVA, C. A. B.; FRIAS, J. R. G. **Tecnologia de Alimentos**: princípios e aplicações. São Paulo: Nobel, 2008.

GONÇALVES, J. F.; OLIVEIRA, W. C.; SILVA, C. A. O.; CUNHA, M. R. R.; PEREIRA, F. R. Ocorrência de nitratos e nitritos em queijos Minas Frescal, Mussarela, Parmesão e Prato. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 70, n. 2, p. 193-198, abr./jun. 2011.

GUTERRES, P. C. M. **Caracterização do Queijo de Mistura com Adição de Orégãos**. 2013. 75p. Dissertação (Mestrado em Inovação e Qualidade na Produção Alimentar) - Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo.

GUTIERREZ, J.; BARRY-RYAN, C.; BOURKE, P. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. **International Journal of Food Microbiology**, Irlanda, v. 124, n. 1, p. 91-97, fev. 2008.

HARAGUCHI, F. K.; ABREU, W. C.; PAULA, H. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 19, n. 4, p. 479-488, jul/ag. 2006**.**

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3. ed. São Paulo: IMESP, p. 25-26, 1985.

KOBLITZ, M. G. B, **Matérias-primas alimentícias**: composição e controle de qualidade, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. 3001p.

KOMATSU, R. S.; RODRIGUES, M. A. M.; LORENO, W. B. N.; SANTOS, K. A. Ocorrência de Staphylococcus coagulase positiva em queijos Minas frescal produzidos em Uberlândia-MG. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 26, n. 2, p. 316-321, mar./abr. 2010.

LOGUERCIO, A. P; ALEIXO, J. A. P. Microbiologia de queijo tipo Minas frescal produzido artesanalmente. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 6, p. 1063-1067, março 2001.

MACHADO, E. C.; FERREIRA, C. L. L. F.; FONSECA, L. M.; SOARES, F. M.; PEREIRA JUNIOR, F. N. Caracterização físico-químicas e sensoriais do queijo Minas artesanal produzido na região do Serro, Minas Gerais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 516-521, out./dez., 2004.

MALLET, A. C. T. **Utilização de óleos essências de condimentos na conservação de queijos tipo Quark**. 2011. 131 p. Tese (Doutorado em Ciência dos alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

MELO, A. C. M.; ALVES, L. M. C.; COSTA, F. N. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo tipo Minas Padrão comercializado na cidade de São Luís, Maranhão. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, n. 4, p. 547-551, 2009.

MINIM, V. P. R. **Análise sensorial:** estudos com consumidores. 3. ed. Viçosa: UFJ. Minas Gerais, 2013, 332p.

OKURA, M. H. **Avaliação microbiológica de queijos tipo Minas frescal comercializados na região do triângulo mineiro**. 2010, 128 p. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias e Veterinárias) – Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho, Jaboticabal, 2010.

OLIVEIRA, D. F.; PORTO, M. A. C.; BRAVO, C. E. C.; TONIAL, I. B. Caracterização físico-química de queijos Minas artesanal produzidos em diferentes microrregiões de Minas gerais. **Revista Brasileira de Economia Doméstica**, Viçosa, v. 24, n.2, p. 185-196, 2013a.

OLIVEIRA, T. L. C.; CARDOSO, M. G.; SOARES, R. A.; RAMOS, E. M.; PICCOLI, R. H.; REIS, V. M. TebaldiInhibitory activity of *Syzygium aromaticum* and *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. essential oils against *Listeria monocytogenes* inoculated in bovine ground meat. **Brazilian Journal of Microbiology**. São Paulo, v. 44, n. 2, p. 357-365, Aug. 2013b.

PASSOS, A. D.; FERREIRA, G. K. L.; JULIANI, G. L.; SANTANA, E. H. W.; ARAGON-ALEGRO, L. C. Avaliação microbiológica de queijos Minas frescal comercializados nas cidades de Arapongas e Londrina – PR, **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 64, n. 369, p.48-54, jul/ago, 2009.

PASTERÁN, F.; GALAS, M. Manual de procedimentos: Sensibilidad a los antimicrobianos em *Salmonella. Shigella* y *E. coli*. **Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas**. Centro Regional de Referencia WHO-Global. Salm Surv para América del Sur, 2008.

PEREDA, J. A. O.; RODRÍGUEZ, M. I. C.; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. de F.; PERALES, CORTECERO, M. D. S. **Tecnologia de alimentos**: alimentos de origem animal. v. 2. Porto Alegre: Artimed, 2005a, 279p.

PEREDA, J. A. O; RODRÍGUEZ, M. I. C.; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. de F.; PERALES, CORTECERO, M. D. S. **Tecnologia de alimentos**: componentes dos alimentos e processos. v. 1. Porto Alegre: Artimed, 2005b, 294p.

PEREIRA, A. A.; CARDOSO, M. G.; ABREU, L. R.; MORAIS, A. R.; GUIMARÃES, L. G. L.; SALGADO, A. P. S. P. CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E EFEITO INIBITÓRIO DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE O CRESCIMENTO DE *Staphylococcus aureus* E *Escherichia coli*. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 887-893, maio/jun., 2008.

PEREIRA, K. S.; PEREIRA, J. L. Estafilococos coagulase negativa: potenciais patógenos em alimentos. **Revista Higiene Alimentar**. v.19, n. 129, p. 32-34. 2005.

PEREIRA, M. L.; GASTELOIS, M. C. A.; BASTOS, E. M. A. F.; CAIAFFA, W. T.; FALEIRO, E. S. C. Enumeração de coliformes fecais e presença de *Salmonella* sp. em queijos Minas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.51, n. 5, p.427-431. 1999.

PIAZZON-GOMES, J.; PRUDÊNCIO, S. H.; SILVA, R. S. S. F. Queijo tipo Minas frescal com derivados de soja: características físicas, químicas e sensoriais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, p. 77-85, maio 2010.

PINHEIRO, A. L.; LOPES, D. A. G. **Produção de óleos essenciais**. Minas Gerais: Viçosa, CPT, ISBN 85-7601-043-7, 188 p., 2003.

PINTO, F. G. S.; SOUZA, M.; SALING, S.; MOURA, A. C. Qualidade microbiológica de queijo Minas frescal comercializado no município de Santa Helena, PR, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 78, n. 2, p. 191-198, abr./jun., 2011.

POLÔNIO, M. L. T.; PERES, F. Consumo de aditivos alimentares e efeitos à saúde: desafios para a saúde pública brasileira. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 8, p. 1653-1666, ago. 2009.

QUEIROZ, M. I.; TREPTOW, R. O. **Análise sensorial para a avaliação da qualidade dos alimentos**. Rio Grande: Ed. da FURG, 2006. 268p.

ROSA, V. P. Efeito da atmosfera modificada e da irradiação sobre as características microbiológicas, físico-químicas e sensorial do queijo Minas frescal. Piracicaba, São Paulo, 2004.

ROSSI, E. M.; ZILLI, D.; SCAPIN, D.; ROZA-GOMES, M. F.; GELINSKI, J. M. L. N. Avaliação da qualidade microbiológica de queijos Minas Frescal comercializados em supermercados da região Extremo-Oeste de Santa Catarina, Brasil. **Evidência**, Joaçaba, v. 10, n. 1-2, p. 105-114, jan./dez. 2010.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia Científica: **Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH**. SN 1679-6535, Fortaleza, CE, julho. 2007.

SABIONI, J. G.; HIROOKA, E. Y.; SOUZA, M. L. R. de. Intoxicação alimentar por queijo Minas contaminado com *Staphylococcus aureus*, **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 22, n. 5, p. 458-461, out.1988.

SAMAPUNDO, S.; MEULENAER, B.; OSEI-NIMOH, D.; LANBONI, Y.; DEBEVERE, J.; DEVLIEGHERE, F. Can phenolic compounds be used for the protection of com from fungal invasion and mycotoxin contamination during storage? **Food microbiology**, v. 24, n. 5, p. 465-473, 2007.

SANGALETTI, N.; PORTO, E.; BRAZACA, S. G. C.; YAGASAKI, C. A.; DALLA DEA, R. C.; SILVA, M. V. Estudo da vida útil de queijo Minas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos,** Campinas, v. 29, n. 2, p. 262-269, abr/jun. 2009.

SANGATELLI, N. **Estudo da vida útil do queijo minas frescal disponível no mercado**. 2007. 80 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

SANTOS, A. S. **Óleos essenciais**: uma abordagem econômica e industrial. Rio de Janeiro: Interciência, 2011. 374 p.

SANTOS, J. C.; FILHO, C. D. C.; BARROS, T. F.; GUIMARÃES, A. G. Atividade antimicrobiana in vitro dos óleos essenciais de orégano, alho, cravo e limão sobre bactérias patogênicas isoladas de vôngole. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 1557-1564, out./dez. 2011.

SANTURIO, D. F.; COSTA, M. C.; MABONI, G.; CAVALHEIRO, C. P.; SÁ, M. F.; POZZO, M.D.; ALVES, S.H.; FRIES, L.L.M. Antimicrobial activity of spice essential oils against *Escherichia coli* strains isolated from poultry and cattle. **Ciência Rural**, v. 41, n. 6, p. 1051-1056, 2011.

SILVA, F. T. **Queijo minas frescal**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 50 p.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A**. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, p.105, 2001.

SILVA, N.; JUMQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S. dos; GOMES, R. A. R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos.** São Paulo: Livraria Varela, 2007.

SOUZA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR., G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUZA, E. L.; GUERR, N. B.; STAMFORD, T. L. M.; LIMA, E. O. Spices: alternative sources of antimicrobial compounds to use in food conservation. **Revista brasileira de farmácia**, v. 87, n. 1, p. 22 -25, jan. 2006.

SOUZA, E. L.; STAMFORD, T. L. M.; LIMA, E. O. Sensitivity of spoiling and pathogen food-related bacteria to *origanum vulgare* l. (lamiaceae) essential oil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 37, n. 4, p. 527-532, jun./jul. 2006.

SOUZA, E. L.; STAMFORD, T. L. M.; LIMA, E. O; TRAJANO, V. N.; FILHO, J. M. B. Antimicrobial effectiveness of spices: an approach for use in food conservation systems. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 48, n. 4, p. 549-558, jul. 2005.

SPADOTI, L. M.; DORNELLAS, J. R. F.; ROIG, S. M. Avaliação sensorial de queijo prato obtido por modificações do processo tradicional de fabricação. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 705-712, out./dez., 2005.

TAJKARIMI, M. M., IBRAHIM, S. A., CLIVER, D. O. Antimicrobial herb and spice compounds in food. **Food Control**, p.1199-1218, jan/fev, 2010.

TEIXEIRA, L. A. Análise sensorial na indústria de alimentos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Minas Gerais, v. 64, n. 366, p. 12-21, jan/fev, 2009.

TRAJANO, V. N.; LIMA, E.O.; SOUZA, E. L.; TRAVASSOS, A. E. R. Propriedade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos,** p.542-545, 2009

TRAJANO, V. N.; LIMA, E. O.; SOUZA, E. L.; TRAVASSOS, A. E. R. Inhibitory effect of the essential oil from *Eugenia caryophyllata* Thumb leaves on *coalho* cheese contaminating microorganisms. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 4, p. 1001-1006, out./dez. 2010.

TRONCO, V. M. **Manual para inspeção da qualidade do leite.** Santa Maria: Ed. 5 da UFSM, 2013, 208 p.

VEIGA, S. N.T. **Qualidade microbiológica e físico-química de queijos comercializados em Portugal**. 2012. 54 p. Dissertação de mestrado em segurança alimentar. Universidade técnica de Lisboa Faculdade de Medicina Veterinária. Lisboa, 2012.

WEILER, B.; FROHLICH, J. K.; BOLIGON, A. A.; JANOVIK, V.; ATHAYDE, M. L. Potencial antioxidante *in vitro* das folhas de ipomoea cairica L. Sweet Leaves . Santa Maria, v.36, n.2, p. 5562, jul./dez. 2010.

WOLUPECK, H. L.; RAKSA, H. C.; ROSSA, L. S.; BIASI, R.; MACEDO, R. E. F. Evolução da qualidade microbiológica de queijo Minas frescal comercializado em Curitiba (PR) no intervalo de 10 anos (1999 e 2009). **Revista Acadêmica de Ciências Agrárias e Ambientais**, Paraná, v. 10, n.3, p. 243-252, 2012.

ANEXOS

ANEXO I - Preparação dos padrões de McFarland

Estándar N°	Volumen (ml)		Equivalente en N° de bacterias/ml ($x10^8$)
	$BaCl_2$ (1,175 %)	H_2SO_4 (1 %)	
0.5	0.5	99.5	1.5
1	1.0	99.0	3
2	2.0	98.0	6
3	3.0	97.0	9
4	4.0	96.0	12
5	5.0	95.0	15
6	6.0	94.0	18
7	7.0	93.0	21
8	8.0	92.0	24
9	9.0	91.0	27
10	10.0	90.0	30

Fonte: PASTERÁN; GALAS (2008).

ANEXO II – Comprovante de aceitação pelo comitê de ética

FURG

CEPAS/FURG
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA NA ÁREA DA SAÚDE
Universidade Federal do Rio Grande - FURG
www.cepas.furg.br

PROTOCOLO FURG FL. 15 B

PARECER Nº 141/2015

CEPAS 64/2015

CAAE: 48054115.2.0000.5324
Não possuí número de processo
Título da Pesquisa: Produção e conservação de queijo artesanal com utilização de óleos essenciais.
Pesquisador: Cristiano Gautério Schmidt

PARECER DO CEPAS:

O Comitê, considerando tratar-se de um trabalho relevante, o que justifica seu desenvolvimento, bem como o atendimento à pendência informada no parecer 107/2015, emitiu o parecer de **APROVADO** para o projeto **"Produção e conservação de queijo artesanal com utilização de óleos essenciais".**

Está em vigor, desde 15 de novembro de 2010, a Deliberação da CONEP que compromete o pesquisador responsável, após a aprovação do projeto, a obter a autorização da instituição coparticipante e anexá-la ao protocolo do projeto no CEPAS. Pelo exposto, o pesquisador responsável deverá verificar se seu projeto está obedecendo a referida deliberação da CONEP.

Segundo normas da CONEP, deve ser enviado relatório **semestral** de acompanhamento ao Comitê de Ética em Pesquisa, conforme modelo disponível na página .

Data de envio do **relatório final**: 01/08/2016.

Rio Grande, RS, 24 de setembro de 2015.

Eli Sinnott Silva
Profª. Eli Sinnott Silva
Coordenadora do CEPAS/FURG

APÊNDICES

APÊNDICE I - Ficha de avaliação sensorial

Universidade Federal do Rio Grande
Escola de Química e Alimentos
Câmpus Santo Antônio da Patrulha

Ficha de avaliação sensorial

Nome:_____ Data:___/___/___

Sexo: ( ) F ( ) M Idade:_____

Você tem o hábito de consumir queijo?
( ) Sim ( ) Não

Se sim, quantas vezes por semana?
( ) Mais de 5 vezes
( ) Entre 1 e 5 vezes
( ) Até 1 vezes

Se você encontrasse estes produtos a venda:

Amostra: _____ _____ _____ _____

( )	( )	( )	( )	Certamente compraria
( )	( )	( )	( )	Provavelmente compraria
( )	( )	( )	( )	Talvez comprasse, talvez não comprasse
( )	( )	( )	( )	Provavelmente não compraria
( )	( )	( )	( )	Certamente não compraria

Avalie as amostras de queijo usando a escala abaixo, para descrever o quanto você gostou ou desgostou das amostras.

Amostra: _____ _____ _____ _____

( )	( )	( )	( )	Desgostei muitíssimo
( )	( )	( )	( )	Desgostei muito
( )	( )	( )	( )	Desgostei regularmente
( )	( )	( )	( )	Desgostei ligeiramente
( )	( )	( )	( )	Indiferente
( )	( )	( )	( )	Gostei ligeiramente
( )	( )	( )	( )	Gostei regularmente
( )	( )	( )	( )	Gostei muito
( )	( )	( )	( )	Gostei muitíssimo

Comentários:_____

APÊNDICE II - O pH dos queijos analisado durante o período de 35 dias

Dias de armazenamento	Queijo 1	Queijo 2	Queijo 3	Queijo 4
	pH			
0	$6,57 \pm 0,01^{bA}$	$6,06 \pm 0,01^{abA}$	$6,57 \pm 0,01^{abA}$	$6,55 \pm 0,01^{aA}$
7	$6,31 \pm 0,01^{dC}$	$6,37 \pm 0,01^{bA}$	$6,42 \pm 0,01^{aA}$	$6,34 \pm 0,01^{cC}$
14	$6,51 \pm 0,01^{aB}$	$6,42 \pm 0,01^{aA}$	$6,42 \pm 0,01^{aA}$	$6,44 \pm 0,01^{aB}$
21	$6,31 \pm 0,01^{aC}$	$6,31 \pm 0,01^{aA}$	$6,29 \pm 0,01^{aAB}$	$6,29 \pm 0,01^{aD}$
28	$6,31 \pm 0,01^{bC}$	$6,39 \pm 0,01^{abA}$	$6,32 \pm 0,01^{abAB}$	$6,40 \pm 0,01^{aB}$
35	$6,11 \pm 0,01^{abD}$	$6,16 \pm 0,01^{aA}$	$6,11 \pm 0,01^{abB}$	$6,01 \pm 0,01^{bE}$

*Valores apresentando letras maiúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$) e valores apresentando letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$).

Legenda: Queijo 1 – Queijo adicionado de óleo essencial de Orégano; Queijo 2 – Queijo adicionado de óleo essencial de Gengibre; Queijo 3 – Queijo adicionado da mistura dos óleos essenciais de Orégano e Gengibre; Queijo 4 – Queijo controle.

APÊNDICE III - Luminosidade dos queijos durante o período de 35 dias

Dias de armazenamento	Queijo 1	Queijo 2	Queijo 3	Queijo 4
	Parâmetro L* (Luminosidade)			
0	$93,71 \pm 0,3^{aA}$	$92,63 \pm 0,9^{aB}$	$92,80 \pm 1,3^{aB}$	$92,80 \pm 0,7^{aAB}$
7	$94,30 \pm 0,9^{aA}$	$93,70 \pm 1,1^{aAB}$	$93,51 \pm 0,8^{aAB}$	$93,90 \pm 1,1^{aA}$
14	$93,50 \pm 0,9^{aA}$	$94,07 \pm 0,4^{aA}$	$93,80 \pm 0,3^{aAB}$	$93,85 \pm 0,8^{aA}$
21	$94,51 \pm 0,3^{aA}$	$94,03 \pm 0,8^{aA}$	$94,44 \pm 0,3^{aA}$	$91,62 \pm 2,5^{bB}$
28	$93,65 \pm 1,9^{aA}$	$94,62 \pm 0,2^{aA}$	$94,30 \pm 0,5^{aA}$	$94,42 \pm 0,4^{aA}$
35	$94,45 \pm 0,3^{aA}$	$94,10 \pm 0,6^{aA}$	$94,27 \pm 0,4^{aA}$	$93,24 \pm 0,5^{bAB}$

*Valores apresentando letras maiúsculas iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$) e valores apresentando letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$).

Legenda: Queijo 1 – Queijo adicionado de óleo essencial de Orégano; Queijo 2 – Queijo adicionado de óleo essencial de Gengibre; Queijo 3 – Queijo adicionado da mistura dos óleos essenciais de Orégano e Gengibre; Queijo 4 – Queijo controle