

Variabilidade da composição nutricional do queijo fresco tradicional ao longo de uma época de produção

Claudia Belinda Coelho Nobre

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Alimentar – Processamento de Alimentos

Orientador: Doutor António Pedro Louro Martins

Co-orientador: Engenheiro Pedro Alexandre Pavoeiro Pereira (Montiqueijo)

Júri:

Presidente: Doutora Margarida Gomes Moldão Martins, Professora Auxiliar com agregação do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

Vogais:

Doutora Maria Isabel Nunes Januário, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa;

Doutor António Pedro Louro Martins, Professor Auxiliar convidado do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

AGRADECIMENTOS

Dado por terminado este trabalho, quero desde já expressar os meus sinceros agradecimentos a todos os que me acompanharam e apoiaram incondicionalmente durante a sua elaboração.

Ao meu orientador Professor Pedro Louro por toda a disponibilidade prestada e por todo o seu apoio durante o decorrer do trabalho, pelos conselhos e conhecimentos vastos que me transmitiu, pela ajuda na revisão bibliográfica e no tratamento estatístico, e principalmente pela paciência que teve para comigo.

Um obrigado a todos os colaboradores da empresa Montiqueijo, especialmente à D. Dina Duarte e ao Eng Pedro Pavoeiro que proporcionaram o tema para a realização da minha tese e por me terem acolhido simpaticamente e me transmitirem os seus conhecimentos de produção.

A todo o pessoal dos laboratórios do INIAV, que contribuíram para o desenvolvimento da minha tese, especialmente, ao Dr. Rui Miranda pela sua incansável ajuda no decorrer das análises e a Dr^a. Ana Partidário pela ajuda crucial na cromatografia gás-liquido.

Às estagiárias Cátia Sofia e a Filipa Cardoso da Escola Secundária de Fonseca Benevides do Curso Profissional de Técnico de Análise Laboratorial pelo apoio no decorrer das análises como pelo apoio e o carinho e amizade que me transmitiram.

A todos os meus amigos que me acompanharam ao longo deste tempo partilhando comigo momentos de alegria e tristeza, conselhos e críticas mas sempre com um sorriso nos lábios.

À minha família pelo apoio incondicional, conselhos e força que me deram ao longo deste trabalho para encarar a vida e os obstáculos que surjam de cabeça erguida.

Ao meu namorado, Tiago Gonçalves, pela sua ilimitada paciência que teve para comigo e pelo seu apoio durante o decorrer da tese.

RESUMO

O objetivo do presente trabalho consistiu na avaliação da composição do queijo fresco da empresa Montiqueijo, produzido ao longo do tempo, no sentido de avaliar se uma eventual variabilidade de composição se enquadraria na variabilidade admitida para as características do queijo que estão referenciadas na rotulagem.

A fim de obter um queijo homogéneo e de qualidade, é necessário o uso matérias-primas de boa qualidade e de composição regular, de modo a que ao longo do tempo não venha a afetar a composição do produto final e de forma a respeitar as menções obrigatórias da rotulagem nutricional, não esquecendo a fiabilidade do processo tecnológico, igualmente crucial para as propriedades finais do produto. Assim, no caso de registo de variabilidade acentuada, outro objetivo seria a avaliação das possíveis causas e o estabelecimento de eventuais medidas corretivas.

Os resultados obtidos a partir das análises físico-químicas efetuadas relativamente aos principais componentes do queijo e referenciados na rotulagem nutricional do queijo fresco, avaliados ao longo do tempo, mensalmente e quinzenalmente, revelaram que, no geral, as indicações nutricionais do produto em causa cumprem os critérios de adequação no que respeita às tolerâncias admitidas pelo Regulamento (UE) nº1196/2011.

As ligeiras variações detetadas pontualmente na composição do queijo fresco em determinados componentes do queijo fresco foram associadas a erros experimentais, uma vez que não tiveram suporte na avaliação da composição do leite, embora se possa eventualmente considerar algum efeito de uma etapa de processo de fabrico, designadamente após a coagulação do leite.

Palavras-chaves: Leite de Vaca, Queijo fresco de vaca, Rotulagem Nutricional, Fatores de Variabilidade, Processo Tecnológico

ABSTRACT

The main purpose of this study was to evaluate the Montiqueijo traditional fresh cheese composition through some months, in order to assess whether a possible composition variability would fit in the allowed variability for the characteristics of the cheese that are referenced at labeling.

In order to obtain an homogeneous cheese quality, the use of good quality raw materials and with regular composition is necessary, so that will not affect the composition of the final product and in order to comply with the mandatory information of nutrition labeling, not forgetting the reliability of the technological process also crucial to the final properties of the product. Thus, in the case of a marked variability, another objective was to evaluate the possible cause and the establishment of any corrective measures.

The results obtained from the performed physicochemical analysis for the main components of cheese and referenced in the nutrition labeling of fresh cheese, evaluated through time (monthly and every fifteen days), and revealed that, in general, the nutritional product indications meet the tolerances criteria allowed by Regulation (EU) n^o 1196 / 2011.

Slight variations detected occasionally in some fresh cheese component were associated with experimental errors, since they do not had support in the assessment of milk composition, although the effect of a manufacturing process step may possibly be considered, in particular after the milk coagulation step.

Key-words: Cow milk, fresh cheese, Variability factors, technological process, nutritional label.

Índice

1. Introdução	3
2. Enquadramento Teórico	5
2.1 Leite de Vaca	5
2.2 Composição Química do Leite de Vaca	6
2.2.1 Matéria Gorda.....	7
2.2.2 Proteínas	8
2.2.3 Hidratos de Carbono	10
2.2.4 Sais Minerais e Vitaminas	10
2.3 Fatores que contribuem para a influência da composição do leite	12
2.2.1 Fatores ligados ao animal:	12
2.3.2 Fatores ligados às condições de criação dos animais.....	15
2.4 A padronização do leite e a sua Aptidão Tecnológica para fabrico de queijo.....	17
2.4.1 A importância da padronização do leite na indústria queijeira (proteínas e gordura).....	17
2.4.2 Queijo fresco.....	18
2.4.3 Coagulação.....	21
2.5 Rotulagem Nutricional.....	29
3. Trabalho Experimental	31
3.1 Objetivo do Trabalho e Planificação de amostragem	31
3.2 Materiais e Métodos	32
3.2.1 Recolha e Conservação das Amostras	32
3.2.2 Análise do Leite.....	32
3.2.3 Análise do Queijo.....	33
3.2.4 Declaração Nutricional: Cálculos dos Limites de Tolerância do Queijo Fresco ³⁶	
3.2.5 Tratamento de Resultados	38
4. Resultados e Discussão	39
4.1 Caracterização do Leite de Vaca	39
4.2 Caracterização do Queijo Fresco.....	44
5. Conclusões e Trabalhos Futuros.....	57
6. Bibliografia	59

Índice de Figuras

Figura 1: Influência do genótipo da K-caseína na composição do leite, propriedades da coagulação e rendimento queijeiro.....	13
Figura 2: Influência da fase da lactação na composição do leite.....	14
Figura 3: Diagrama de Fabrico do Queijo Fresco Tradicional conforme os padrões internos da Montiqueijo.....	19
Figura 4: Evolução da hidrólise da k caseína do gel após a adição do agente coagulante.....	22
Figura 5: Representação esquemática da evolução da coagulação enzimática. C-micela de caseína e E- molécula de enzima.....	23
Figura 6: Influência do pH sobre a firmeza máxima da coalhada e a velocidade de agregação micelar: a) Firmeza máxima; b) velocidade de agregação micelar máxima.....	26
Figura 7: Evolução da firmeza do gel ao longo da coagulação em leites de espécies pecuárias.....	28
Figura 8: Evolução mensal da gordura, proteína e lactose sólidos totais e do resíduo seco isento de matéria gorda (RSIMG) do leite cru.....	41
Figura 9: Evolução mensal do teor em sólidos totais e do resíduo seco isento de matéria gorda (RSIMG) do leite cru.....	42
Figura 10: Evolução quinzenal da gordura, proteína e lactose do leite cru.....	43
Figura 11: Evolução quinzenal dos sólidos totais e do resíduo seco isento de matéria gorda (RSIMG) do leite cru.....	43
Figura 12: Variação média mensal do teor de matéria gorda do queijo fresco tradicional.....	46
Figura 13: Variação média quinzenal do teor de matéria gorda do queijo fresco tradicional.....	47
Figura 14: Variação média mensal do teor de proteínas do queijo fresco tradicional.....	47
Figura 15: Variação média do teor de proteínas quinzenalmente do queijo fresco tradicional...	48
Figura 16: Variação média do teor de hidratos de carbono mensalmente do queijo fresco tradicional.....	49
Figura 17: Variação média do teor de hidratos de carbono quinzenalmente do queijo fresco tradicional.....	50
Figura 18: Variação da média mensal do teor de cloretos expressos em NaCl do queijo fresco tradicional.....	51
Figura 19: Variação da média quinzenal do teor de cloretos expressos em NaCl do queijo fresco tradicional.....	52
Figura 20: Variação da média mensal do teor de ácidos gordos saturados (SFA) do queijo fresco tradicional.....	52
Figura 21: Variação da média quinzenal do teor de ácidos gordos saturados (SFA) do queijo fresco tradicional.....	54
Figura 22: Valores médios e desvios padrão do valor calórico do queijo fresco tradicional mensalmente.....	55

Figura 23: Valores médios e desvios padrão do valor calórico do queijo fresco tradicional quinzenalmente.....56

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Propriedades físico-químicas médias do leite de Vaca	5
Tabela 2: Composição média do leite de vaca em comparação com outras espécies, em g/100 g	7
Tabela 3: Evolução do tempo de coagulação entre pH 6,0 e 6,7	27
Tabela 4: Informação nutricional nos rótulos alimentares.....	29
Tabela 5: Procedimentos experimentais para análises físico-químicas do leite.....	33
Tabela 6: Procedimentos Experimentais para análises dos Queijos Frescos	34
Tabela 7: Composição nutricional em 100 g de produto do queijo fresco tradicional da Montiqueijo ...	36
Tabela 8: Tolerâncias para alimentos que não suplementos alimentares incluindo a incerteza de medição	37
Tabela 9: Orientações sobre o arredondamento aplicáveis à declaração de nutrientes na rotulagem nutricional dos alimentos	38
Tabela 10: Efeito da Quinzena e do Mês nos parâmetros gordura, proteínas, lactose, sólidos totais e resíduo seco isento de matéria gorda (RSIMG).....	39
Tabela 11: Valores médios e desvios padrão mensalmente dos parâmetros físico-químicos ao leite cru usado no fabrico do queijo fresco tradicional	40
Tabela 12: Valores médios e desvios padrão quinzenais dos parâmetros físico-químicos ao leite cru usado no fabrico do queijo fresco tradicional	41
Tabela 13: Valores médios mensais e respetivos desvios padrão para os parâmetros da composição do queijo fresco tradicional (em 100g de produto).....	44
Tabela 14: Valores médios quinzenais e respetivos desvios padrão da composição do queijo fresco tradicional (em 100g de produto).	45
Tabela 15: Efeito da Quinzena e do Mês nos parâmetros de composição e de rotulagem do queijo fresco tradicional	45
Tabela 16: Valores médios e desvio padrão da composição do queijo fresco tradicional em 100g de R.S quinzenalmente	49
Tabela 17: Valores médios e desvio padrão dos ácidos gordos saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA), polinsaturados (PUFA) e insaturados (UFA) do queijo fresco tradicional	53
Tabela 18: Valores médios e desvio padrão dos ácidos gordos saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA), polinsaturados (PUFA) e insaturados (UFA)	54

LISTA DE ABREVIATURAS

RSIMG – resíduo seco isento de matéria gorda

RST – resíduo seco total

UFA – ácidos gordos insaturados

SFA – ácidos gordos saturados

MUFA- ácidos gordos monoinsaturados

PUFA – ácidos gordos polinsaturados

Ca⁺- íon cálcico

P- Fósforo

MG – matéria gorda

MA – matéria azotada

TB- teor butírico

TP- teor proteico

1. INTRODUÇÃO

O leite de vaca, tal como o leite das restantes espécies, tem uma composição variável tendo em conta os diversos fatores que contribuem para a sua composição, como a raça, a alimentação, a época do ano, o estado sanitário do animal. Esta variabilidade de composição pode influenciar as propriedades do queijo em cujo fabrico é utilizado, pela influência que pode ter em todo o processo tecnológico de fabrico do queijo.

O leite é uma mistura heterogénea e complexa, constituída pela fase aquosa, onde se encontra principalmente a lactose e os sais minerais, e uma fase dispersa, de natureza proteica (micelas de caseína) e lipídica (glóbulos de gordura) (Mahaut *et al.*, 2000).

A qualidade e a obtenção de um produto final com composição homogénea que respeite as menções obrigatórias da rotulagem segundo o regulamento em vigor, Regulamento (UE) Nº1169/2011, de forma o mais constante possível ao longo do tempo, depende essencialmente da qualidade e da composição homogénea da matéria-prima (leite) e de todo o processo de fabrico do queijo.

O presente trabalho, desenvolvido conjuntamente com a empresa Montiqueijo – Queijo do Montemuro, Lda. teve como objetivo principal a realização de um estudo sobre a variação da composição do queijo fresco tradicional, um produto produzido pela empresa, no sentido de se verificar a adequação da respetiva rotulagem nutricional com base na regulamentação em vigor.

Considerando que a variabilidade das características do queijo possa exceder o estabelecido pela regulamentação no que se refere as menções nutricionais obrigatórias, o trabalho experimental teve como base uma abordagem à composição e propriedades do queijo fresco, na sua relação com o efeito do fator tempo, mês e quinzena, que possam estar associados. Como a composição do leite é um dos principais fatores que podem influenciar a composição do queijo, principalmente do queijo fresco tradicional, a composição do leite cru foi também avaliada ao longo do tempo.

Os fabricos de queijo foram fabricos de rotina de produção da empresa e as análises laboratoriais foram realizadas nos laboratórios do INIAV – Polo do Lumiar, a partir das amostras de leite cru e de queijo fresco disponibilizadas pela empresa.

Foi delineado, previamente, uma planificação das amostragens e da entrega das amostras, bem como das análises a serem realizadas tanto na matéria-prima (leite cru) como no produto final (queijo fresco).

As amostras de leite e queijo, provenientes do mesmo lote de leite amostrado, foram recolhidas quinzenalmente durante dois dias consecutivos entre os meses de Março a Agosto. As amostras de queijo de cada lote de leite tiveram como origem duas cubas aleatórias em que se utilizou o mesmo lote de leite. Os leites foram sujeitos a análises físico-químicas e os

queijos frescos foram avaliados quanto à composição nutricional, conforme as exigências da rotulagem nutricional.

2. Enquadramento Teórico

2.1 Leite de Vaca

De acordo com o Regulamento (CE) N° 853/2004, define-se leite cru como o leite produzido pela secreção da glândula mamária de animais de criação, não aquecido a uma temperatura superior a 40°C nem submetido a um tratamento de efeito equivalente. Deve provir de uma ordenha total e ininterrupta de uma fêmea sadia, bem nutrida e não fatigada.

A produção do leite deve ser feita de uma forma adequada, isenta de qualquer substância estranha e sem colostro (Luquet, 1985).

É caracterizado como um líquido branco-mate, opaco, com alguma viscosidade, sensivelmente duas vezes superior á da água, de sabor adocicado e um odor pouco acentuado, variando consoante a espécie (Sá e Barbosa, 1990). Pode apresentar uma cor amarelada, devido à presença de β -caroteno associado à matéria gorda (Luquet, 1985).

O leite é considerado uma mistura heterogénea e bastante complexa pela sua composição. Apresenta-se como uma emulsão O/A, uma suspensão e uma solução. Encontra-se em emulsão a matéria gorda e a suspensão coloidal é de natureza proteica; a fração mineral encontra-se na fase aquosa, onde se encontram também os açúcares e as proteínas solúveis, vitaminas e outros componentes minoritários importantes para o desenvolvimento dos mamíferos (Veiros, 2005).

A qualidade do leite é influenciada e avaliada não só através da densidade, acidez e ponto de congelação, mas também essencialmente pelo pH (Tabela 1). Este parâmetro dá a indicação do estado de frescura do leite, sendo que um leite dito normal apresenta um valor perto da neutralidade ou ligeiramente acidificado ($6,6 < \text{pH} < 6,8$) (Mahaut *et al.*, 2000).

Tabela 1: Propriedades físico-químicas médias do leite de Vaca

Parâmetros	Limites
Densidade 20 °C **	$\geq 1,028$ G/L
Ponto de Congelação **	$< - 0,520$ °C
pH*	6,6 – 6,8
Acidez *	15 – 18 °D

Fonte: *adaptado (Luquet, 1985); ** Portaria nº 533/93 (revogada)

As propriedades tanto nutricionais como tecnológicas (aptidão do leite para a transformação em queijo) dependem essencialmente das características físico-químicas de cada constituinte. E são estas características de cada componente que nos permitem obter um melhor conhecimento do produto final (Mahaut *et al.*, 2000).

2.2 Composição Química do Leite de Vaca

O leite apresenta uma mistura de extrema complexidade possuindo a mesma composição básica independentemente da espécie, mas as proporções nos seus componentes diferem (Sá e Barbosa, 1990). A composição físico-química do leite é muito variável dependendo de muitos fatores, desde os relacionados com o ambiente aos de natureza genética. Os mais importantes são a raça, espécie, a fase de lactação e as condições de exploração, os quais, por sua vez, são influenciados por outros, como a alimentação, a ordenha e as condições climáticas, entre outros fatores.

O leite assume um papel fundamental na dieta humana devido ao alto valor biológico dos seus nutrientes, como também na obtenção de uma grande variedade de produtos, através de processamentos industriais diferentes (Bakken *et al.*, 1990).

O leite de vaca é constituído em média por 87% de água, 3,5% de proteína, 3,8% de gordura, 5% de lactose e 0,7% de minerais. Estes valores são, evidentemente, médios, podendo apresentar desvios, uma vez que a variação da composição do leite é muito grande; de todos os componentes, a fração que mais varia é a gordura. O resíduo seco isento de gordura (HQIMG), que compreende todos os elementos à exceção da água e da gordura, representa, em média, 8,9% da composição total do leite (Oliveira *et al.*, 2010).

Na Tabela 2 encontram-se os valores médios dos principais constituintes do leite de vaca em comparação com leites de outras espécies. É de salientar que ter conhecimento do teor em RST (resíduo seco total) é importante para a transformação do leite em queijo. O RST representa os sólidos do leite, os glúcidos (lactose), a matéria gorda, as proteínas (caseínas), os biocatalizadores e os sais minerais (principalmente o cálcio e o fosforo), e varia não só com as espécies leiteiras, mas também com a raça. Quanto mais elevado for o teor em RST, mais rico será o leite e maior será o rendimento durante a produção (Luquet, 1985).

Tabela 2: Composição média do leite de vaca em comparação com outras espécies, em g/100 g

Constituintes	Vaca	Cabra	Ovelha
Água ***	87,3	87,90	81,2
RST**	12,5	13,6	19,1
Proteínas**	3,5	4	6
Caseínas (% N total) ****	2,3-2,8	3,0-3,4	4,6-5,0
Lactose**	4,3-4,5	4,5-4,6	4,6-5,0
Gordura**	3,3-3,8	3,9-5,2	6,0-8,5
Cinza**	0,7-0,8	0,8-0,9	0,9-1,0
Calorias (Kcal/ 100g)	70**	69*	93*

Fonte: adaptada de * Mahaut *et al.* (1995); ** Alais (1985); *** Sá e Barbosa (1990); **** Corpas (1983)

Após a análise da composição química das principais espécies, é essencial avaliar o papel de cada um dos principais constituintes do leite tanto a nível nutricional como tecnológico.

2.2.1 Matéria Gorda

A composição lipídica das espécies ruminantes caracteriza-se por uma enorme complexidade. Aproximadamente 3,5 a 3,9% da composição corresponde a matéria gorda presente no leite de vaca. Contudo é difícil precisar a sua percentagem presente no leite uma vez que a fração lipídica é o constituinte que mais varia, e essa variação pode dever-se em parte a fatores genéticos (raça e seleção), à fase da lactação, à ordenha, à saúde do animal, a fatores ambientais (estação do ano e clima) e, sobretudo, à alimentação dos animais (ingestão de energia e matéria gorda na ração), entre outros (Rego, 2010).

Muitos fatores mencionados anteriormente estão associados às variações tanto no teor em gordura como na proporção de ácidos gordos no leite. Mas a relação entre SFA (ácidos gordos saturados) e UFA (ácidos gordos insaturados) depende essencialmente do regime alimentar do animal, ou seja, da relação concentrado/grosseiro (Spreer, 1991).

Os lípidos do leite encontram-se sob a forma de pequenos glóbulos esféricos, dispersos na fase aquosa. Cada glóbulo é envolvido por uma membrana de tipo lipoproteico, designada por membrana do glóbulo de gordura. Essa mesma membrana tem a função de proteger os glóbulos da ação química e enzimática e impede a união de todos os glóbulos e desse modo, a gordura do leite é mantida em emulsão devido à carga negativa da membrana garantindo a repulsão electrostática (Brito *et al*, 2015).

A matéria gorda do leite é essencialmente lipídica (99,5%), constituída sobretudo por triacilgliceróis (97-99%), formados por ácidos gordos ligados ao glicerol, e aproximadamente 2% corresponde aos restantes lípidos (diacilgliceróis, esteróis, colesterol, fosfolípidos e ácidos-gordos livres) (Brito *et al*, 2015).

Os ácidos gordos são as unidades estruturais da matéria gorda, formando e caracterizando os triacilgliceróis. Estas unidades podem ser classificadas pelo tamanho das suas cadeias, curtas (4-6 átomos de carbono), médias (8-10 átomos de carbono) e longas (≥ 12 átomos de carbono), e pelas suas ligações entre carbonos, podendo ser ligações simples (designados por ácidos gordos saturados – SFA) ou ligações duplas (ácidos gordos insaturados: 1 dupla ligação monoinsaturados - MUFA e ≥ 2 ligações duplas polinsaturados - PUFA) (Assunção, 2007). Relativamente ao perfil dos ácidos gordos que compõem o leite de vaca, esta é caracterizada por cerca de 70 % de SFA, 25% de MUFA e 2,5% em PUFA. Dos ácidos gordos saturados presentes no leite, o mais importante do ponto vista quantitativo é o ácido palmítico (16:0), representando cerca de 30% dos ácidos gordos totais, seguindo-se o ácido mirístico (14:0) e o esteárico (18:0), com 11 e 12 %, respetivamente (Månsson, H.L., 2008).

Quanto aos ácidos gordos insaturados, cerca de 25% são monoinsaturados (MUFA) representados principalmente pelo ácido oleico (18:1), com 23.8% dos ácidos gordos totais, e 2.5% são polinsaturados, representados pelo ácido linoleico (18:2) e o ácido linolénico (18:3), em cerca de 1.6 e 0.7% do total de ácidos gordos, respetivamente (Månsson, 2008). A matéria gorda é um nutriente altamente energético sendo esta a sua principal função.

A sua ingestão é recomendada não só pela necessidade dos ácidos gordos essenciais como também pela sua importância no transporte e absorção do cálcio, das vitaminas lipossolúveis (A, D, E, K), colesterol e outras substâncias associadas à gordura, como os carotenoides (provitamina A), que proporcionam ao leite a sua cor amarelada (Assunção, 2007).

2.2.2 Proteínas

O leite é constituído por dois grupos de matérias azotadas: as proteínas e as matérias azotadas não proteicas, que correspondem respetivamente a 95% e 5% do azoto mineral do leite (Goursaud, 1985).

As proteínas representam entre 3% e 4% da composição do leite. A percentagem de proteína varia com a espécie e com raça, mas, principalmente, tal como no caso da matéria gorda, com a alimentação, fase de lactação, clima, parto, época do ano e saúde, sendo

proporcional à quantidade de gordura presente no leite. Isso significa que quanto maior a percentagem do teor de gordura no leite, maior será a percentagem de teor proteico (Brito *et al.*, 2015). Os principais constituintes proteicos do leite são as proteínas solúveis (albuminas e globulinas) e as caseínas. As caseínas estão presentes na fase micelar, constituída por partículas sólidas em suspensão, micelas, que promovem o aspeto branco-opaco ao leite, ao passo que as proteínas solúveis se encontram na fase solúvel (Goursaud, 1985). A matéria azotada não proteica é constituída essencialmente por ureia, não contribuindo para efeitos tecnológicos (Goursaud, 1985).

As proteínas mais importantes, mais especificamente, as caseínas, são os compostos primordiais do processo de fabrico do queijo. São elas que permitem a coagulação do leite por ação enzimática ou por via ácida; são decisivas nas características reológicas do queijo, conferindo consistência, elasticidade, plasticidade; influenciam as características organolépticas do produto, juntamente com a matéria gorda, e condicionam o rendimento queijeiro (Corpas, 1983). A principal proteína do leite é, assim, representada pela caseína, sob a forma de micelas compostas por caseínas α_{s1} , α_{s2} , β e κ e de componentes salinos, essencialmente cálcio e o fosfato (Brulé *et al.*, 1987) que corresponde a cerca de 80% da proteína total; as micelas mantêm-se unidas por ligações de fosfato cálcio $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ coloidal (Goursaud, 1985). Os constituintes salinos, que representam 8 % do peso da micela, desempenham um papel determinante na formação e na conservação da integridade da própria micela. São as únicas presentes no leite de vaca com capacidade coagulante e que permitem o fabrico de queijo (Sá e Barbosa, 1990). O rendimento em queijo não só depende da quantidade de coagulante usada, mas também do tipo de caseína entre outros fatores, não menos importantes, alguns descritos nos capítulos seguintes (Sá e Barbosa, 1990).

As micelas de caseína não coagulam com o calor (são termorresistentes) o que é favorável à aplicação de tratamento térmico sem que haja formação de gel, em comparação com as proteínas do soro que desnaturam com o calor. Somente precipitam com a presença de ácidos ($\text{pH} \approx 4.6$) ou através de enzimas coagulantes, como o coalho animal (Sá e Barbosa, 1990).

A estrutura das micelas é composta, no seu interior, pelas caseínas α e β , com características hidrofóbicas, e na sua superfície pelas caseínas κ (Osintsev e Qvist, 2004). A sua formação dá-se de forma a que a caseína κ presente se direcione no sentido externo, ou seja, para a fase aquosa (Goursaud, 1985).

De todas as caseínas existentes no leite, a caseína κ é a que tem um papel fundamental na coagulação. É a que apresenta uma grande sensibilidade à ação da quimosina, ao nível da ligação Phe-Met (105-106) (Mahaut *et al.*, 2000), levando a perda do seu carácter protetor e provocando a coagulação do leite, resultando na formação de uma fração hidrofóbica, designada por paracaseína, e uma porção hidrofílica, o caseinomacropéptido (Ribeiro, 2013).

A caseína k forma efetivamente, com as caseínas α_s e β , complexos estáveis em meio cálcico. O poder de estabilidade da caseína K não só se deve ao componente COOH terminal com caracter hidrófilo como também às propriedades marcadas de associação. Desta forma considera-se a caseína k como a principal proteína responsável pela coagulação (Goursaud, J., 1985).

2.2.3 Hidratos de Carbono

A componente de hidratos de carbono do leite é constituída essencialmente pela lactose, constituindo a fração que mais abunda no resíduo seco total (RST). Existem outros glúcidos no leite, mas em pequenas quantidades tais como a galactose e a glucose. Dependendo da origem do leite, a concentração da lactose varia. Esta é independente da alimentação do animal, mas é variável em função da fase da lactação (Luquet, 1985). A concentração de lactose no leite de vaca é de aproximadamente 5% (4,7 a 5,2%), sendo um dos elementos mais estáveis, isto é, menos sujeito a variações, mas de difícil alteração pela alimentação (Brito *et al*, 2015).

A lactose compreende aproximadamente 52% dos sólidos totais do leite desnatado e 70% dos sólidos encontrados no soro do leite. Controla o volume de leite produzido, atraindo a água do sangue para equilibrar a pressão osmótica na glândula mamária. A quantidade de água do leite e, conseqüentemente, o volume de leite produzido pela vaca, depende da quantidade de lactose produzida na glândula mamária. A sua função é exclusivamente ser suporte para o desenvolvimento microbiano (Corpas, 1983), visto ter um importante papel tecnológico nos processos de acidificação do leite, uma vez que serve de substrato nutritivo às bactérias lácticas e também ao interesse tecnológico na sua obtenção (Spreer, 1991).

2.2.4 Sais Minerais e Vitaminas

O leite é uma excelente fonte da maioria dos sais minerais necessários para o desenvolvimento dos indivíduos jovens. O cálcio e o fósforo do leite apresentam alta disponibilidade, em parte porque se encontram associados à caseína. Por isso, o leite é a melhor fonte de cálcio para o crescimento do esqueleto dos indivíduos jovens e para a manutenção da integridade dos ossos dos adultos (Santos, 2010).

Dos sais minerais presente no leite, os que mais se destacam são o cálcio e o fosforo devido a sua importância na coagulação, nas características do coágulo (maior teor em Ca^+ e P mais firmeza, elasticidade e plasticidade dá ao coágulo) e das características do queijo

(conferem suavidade, elasticidade e plasticidade) (Eck, 1990). Os sais de origem mineral são fundamentais, apresentando-se sob a forma de cloretos, fosfatos e citratos, de magnésio, sódio, cálcio e potássio na forma solúvel. O cálcio e o fósforo são dos minerais mais importantes na estrutura da micela da caseína, contribuindo para a manutenção da estabilidade da fase coloidal. Cerca de 46 % do cálcio encontra-se ligado à micela sob a forma de fosfato de cálcio e o fósforo em 30 % sob a forma de $(\text{PO}_4)_2\text{Ca}_3$ (Luquet, 1985).

Os queijos são uma excelente fonte de cálcio, mas a sua quantidade varia em função do teor de água no queijo e também do processo de fabrico. Entre os queijos de pasta mole, onde se encontra incluído o queijo fresco, até aos queijos de pasta prensada, o queijo fresco é o que apresenta menor teor de cálcio tendo entre 60 a 100 mg/ 100 g produto em comparação com o queijo de pasta prensada que tem 1000 a 1200 mg/ 100g produto (Eck, 1990). Para além de ser rico em sais minerais, o leite é também uma importante fonte de vitaminas, algumas se associam com a gordura (A, D, E e K), enquanto outras se associam com a parte aquosa. As últimas incluem as do complexo B e a vitamina C. Mais de dez vitaminas diferentes do complexo B são encontradas no leite. Entretanto, com exceção da vitamina B₂ (riboflavina), as outras são encontradas em quantidades pequenas (Brito, 2015).

2.3 Fatores que contribuem para a influência da composição do leite

Ter conhecimento dos fatores que afetam a composição e a qualidade do leite é de extrema importância para o produtor de forma a adotarem medidas sobre toda cadeia produtiva do leite, desde a alimentação fornecida ao rebanho, no sistema de arrefecimento e transporte do leite até a chegada a indústria para o seu processamento, garantindo assim que o produto final possa chegar ao mercado consumidor com as características físico-químicas exigidas. Contudo é difícil dissociar os fatores de variação uns dos outros. Como tal, ao agir sobre determinados fatores há que ter em conta os outros (Luquet, 1985).

Os fatores de variação da composição do leite de vaca são diversos, desde a espécie, raça, alimentação, tempo de gestação, período de lactação, estação do ano, clima entre muitos outros (Sá e Barbosa, 1990).

Relativamente a este trabalho, só se irá abordar, com maior pormenor, os fatores que influenciam e têm maior peso sobre a composição do leite como matéria-prima para a processo tecnológico de fabrico de queijo (Barros, 2012).

2.3.1 Fatores ligados ao animal:

2.3.1.1 Genética: Raça e Genes

A raça é um fator muito importante no que respeita à produção e à composição do leite (Veisseyre, 1988), mas o fator genético é o fator mais determinante na variação da composição da matéria-prima (Barros, 2012). Apresenta grande influência sobre a quantidade de leite produzido como na quantidade de proteína e gordura e, por sua vez, no fabrico do queijo, não só no seu rendimento como também nas características organoléticas do próprio queijo (Matos, 2014). Certas raças, como a Jersey, Normanda, a Parda Suíça e a Simentaler, são vacas que produzem leites ricos em proteína e gordura, adequados a produção de queijo.

Contudo, é de constatar que, com o tempo, a introdução de raças melhoradas para a produção de leite tende a promover um empobrecimento do rendimento queijeiro no que toca a nível da sua composição, tanto em termos de proteína e gordura como da qualidade organoléticas do queijo (Matos, 2014). A matéria gorda (MG) é o componente que apresenta maior variabilidade entre raças, em comparação com a matéria azotada (MA) que apenas sofre ligeiras alterações como os restantes componentes do leite, tais como os minerais e a lactose que são aqueles que menos variam (Barros, 2012).

No entanto, a razão destas diferenças reside no fator genético. Diversos estudos comprovaram que a genética da raça está ligada à composição do leite e à sua aptidão queijeira. A caseína k é importante para o processo de coagulação, e diversos estudos

comprovaram que os genes determinando as variantes A e B são os responsáveis por essas diferenças (Matos, 2014). Uma vez que os genes se combinam entre si, os genótipos resultantes dessa combinação são: AA, AB e BB. Nas raças bovinas mais utilizadas na produção de leite mais rico em RST e com melhor aptidão queijeira, o genótipo tipo BB é mais frequente do que nas raças de elevada produção leiteira (Matos, 2014).

Como exemplo, o teor de gordura na raça Normandas é superior em 2 g por 1000 em relação a raça Holstein. Na raça Jersey o leite, relativamente ao teor de minerais, proteínas e gordura, também é mais rico em comparação com a raça Frísia (Luquet, 1985).

Através da Figura 1 pode verificar-se que o genótipo tipo BB tem um efeito significativo sobre a composição do leite, proteína e gordura, apresentando grande importância para a produção de queijo, com diferenças significativas relativamente ao rendimento queijeiro e à sua aptidão para a produção do queijo no que toca aos parâmetros da coagulação, favorecendo o processo (Matos, 2014).

Genótipos K-caseína	Gordura leite (g/100g)	Proteína leite (g/100g)	oK20 (s) (Tempo de coagulação)	A ₂ R (V) (Firmeza da coalhada)	Rendimento queijeiro (kg de queijo/10 kg leite)
AA	3,88±0,15 c	3,74±0,13 c	276± 20a	18,58±1,70b	1,088
AB	3,98±0,26 b	3,89±0,08 b	269±13 a	19,27±1,00b	1,250
BB	4,86±0,07 a	4,12±0,07 a	245±11 b	22,45±0,90a	1,370

Nota: Em cada coluna, letras diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$).

Os valores indicam a média de três ensaios independentes.

(Adaptado do poster: "Effects of K-casein genotypes on yield and the quality of cheese produced from milk of F1 JerseyxHolstein cows grazing permanent pasture in the Azores – preliminary results". Autores: Baron, E, Silveira, M. G. , Martins, A. P. L., Machado, A. e Matos, J. E., apresentado no Seminário Internacional do World Cheese Awards 2009, que se celebrou na Gran Canaria, em Outubro de 2009).

Figura 1: Influência do genótipo da K-caseína na composição do leite, propriedades da coagulação e rendimento queijeiro.

Fonte: (Matos, 2014).

Já entre raças da mesma espécie existem variações nos componentes do leite a nível de quantidade e, mesmo dentro da mesma raça, as vacas não têm o mesmo rendimento de leite nem a mesma composição nas mesmas condições de exploração (Veisseyre, 1988).

2.3.1.2 Fase de Lactação

A fase de lactação constitui um importante fator de variação tanto nas características de composição do leite como na produção diária de leite (Oliveira *et al.*, 2010). A produção diária e os seus principais constituintes (lactose, matéria gorda, proteína) não evoluem da mesma forma durante a lactação (Alais, 1985). Pesquisas indicam que os valores de proteína e

matéria gorda aumentam no decorrer da lactação e a lactose tende a diminuir (Figura 2) (Oliveira, 2010)

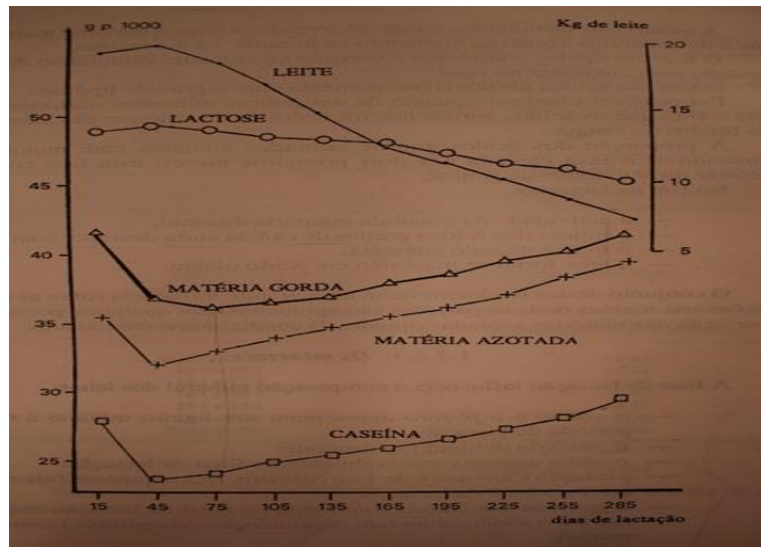


Figura 2: Influência da fase da lactação na composição do leite

Fonte: (Luquet, 1985)

As matérias azotadas atingem um máximo muito cedo, daí a importância de ser necessário cobrir as necessidades alimentares no início da lactação. Relativamente ao teor de caseínas regista-se um aumento no decorrer da lactação. A quantidade de matéria gorda do leite atinge o seu máximo mais tarde que a matéria azotada, tendo uma duração entre 3 a 4 semanas (Luquet, 1985). O teor de matéria gorda diminui nas primeiras semanas após o parto, depois estabiliza durante um ou dois meses e, em seguida, aumenta rapidamente a partir do 5º ou 6º mês (Mahaut *et al.*, 2000). No final da lactação, quando o leite produzido tende a diminuir e a dieta é mais fibrosa, o teor em gordura aumenta (Sampelayo *et al.*, 2007).

Já no que toca à fase final da lactação, a composição de um leite apresenta semelhanças nutritivas a um leite oriundo de animais com idade avançada; há um aumento do teor de cloreto de sódio, conferindo um gosto mais salgado, o teor de caseínas diminui e, por consequência, o rendimento em queijo, e há um aumento do teor de proteínas solúveis, originando leites instáveis não só aos tratamentos térmicos como colocando problemas tanto no processo de coagulação por via enzimática como no processo de dessoramento (Luquet, 1985).

2.3.1.3 Estado Sanitário: mamites

Quando o animal adoece ou sofre algum distúrbio emocional, a síntese de proteínas, gordura e lactose é afetada, promovendo modificações na composição do leite (Luquet, 1990). A síntese dos componentes do leite ocorre na glândula mamária, sendo fundamental esta encontrar-se nas devidas condições de forma a prevenir infeções (Haenlein, 1996).

A mamite, como exemplo de um desses distúrbios, refere-se a uma inflamação da glândula mamária em resposta a uma infeção (Coelho, 2011). Esta inflamação faz com que haja uma redução de produção de leite, bem como do teor de gordura e lactose mantendo-se constante o teor de proteína. No caso das proteínas, a proporção das proteínas solúveis do total das matérias azotadas aumenta conforme a gravidade da lesão e ao mesmo tempo diminui a quantidade das caseínas (Luquet, 1985).

2.3.2 Fatores ligados às condições de criação dos animais

2.3.2.1 Estação do ano e clima

A estação do ano apresenta influência sobre a curva de lactação. A riqueza do leite em matéria-gorda e ESD (extrato seco desengordurado) é mínima durante o período de verão e máxima no final do período de outono, sendo que estas diferenças são independentes do regime alimentar do animal. Contudo, relativamente à quantidade de leite produzido é inversamente proporcional (Alais, 1985).

É de salientar que a quantidade de caseína no leite é variável durante o ano sendo mais elevada no outono e menor na primavera. Segundo Luquet (1985), a influência da época do ano resulta da combinação dos efeitos da alimentação, dos fatores climáticos e da fase da lactação das vacas. O efeito global traduz-se nas seguintes conclusões:

- 1) A época de parição influencia a produção, obtendo-se um máximo na primavera e um mínimo no verão;
- 2) O leite possui um teor de matéria gorda mínimo no final da primavera e máxima no outono;
- 3) O teor em matéria azotada possui dois mínimos (no final do inverno e no final da primavera) e dois máximos (no início da primavera ao iniciar a pastagem e no outono antes das vacas regressarem à estabulação;
- 4) O teor em cálcio é mínimo no verão e máximo na primavera

O queijo produzido com leite proveniente de vacas alimentadas com pastagens no Inverno tem uma maior concentração em ácidos gordos saturados e o queijo produzido durante o verão é mais rico em ácidos gordos insaturados (monoinsaturados e polinsaturados). Este estudo comprovou que a alimentação dos animais influencia bastante a

composição do leite e conseqüentemente a composição do queijo; no verão, as pastagens disponíveis concedem ao queijo uma composição mais saudável em ácidos gordos (Chion *et al.*, 2010).

Quanto ao clima, e segundo o estudo de Moddy *et al.* (1971), no qual expuseram vacas a um ambiente de temperaturas entre 15-24°C e outras a temperaturas de 32°C, verificou-se que as vacas expostas a temperaturas elevadas, tinham um baixo peso corporal com diminuição de produção leiteira e uma baixa quantidade de matéria-gorda. Na matéria-gorda a proporção de ácidos gordos de cadeia curta diminui. No entanto os ácidos palmítico e esteárico mantêm-se elevados. Os efeitos relativamente a exposição ao frio são inversos ao que acontece em clima quente. Referentes ao clima frio, vacas em lactação expostas a um ambiente de -15,5°C iriam mostrar um aumento de consumo de feno o que significa que as vacas deixariam de produzir tanto leite e haveria um aumento do teor em matéria-gorda, do RST e do azoto total, proporcionando uma diminuição na relação MG/RSD. (Luquet, 1985).

2.3.2.2 Alimentação

Segundo (Mattos *et al.*, 2005), a nutrição é a ferramenta principal para os produtores poderem alterar a composição do leite. Tanto a nível do teor como da composição, a matéria gorda do leite pode ser bastante afetada pela alimentação do animal. É necessário ter em conta o tipo de alimentação que o animal tem pois é precisamente na diversificação da composição da alimentação provocada por outros fatores (clima, solo, temperatura, entre outros) que conferem ao leite determinadas características que posteriormente são transmitidas ao produto final (queijo). Por exemplo, vacas pastadas em montanhas apresentam uma aptidão específica para produção de determinados queijos (por exemplo, Emmental) (Spreer, 1991).

Uma forma de avaliar a eficiência e o equilíbrio alimentar e nutricional das vacas é através da análise dos valores do Teor Butiroso (TB) e do Teor Proteico (TP) no leite, podendo obter-se conclusões acerca do regime alimentar do animal (Veiga e Castelo, 2012).

A relação entre ácidos gordos saturados (SFA) e insaturados (UFA) depende da alimentação dos animais. Por exemplo, no verão, a proporção de UFA é mais elevada do que no inverno (Spreer, 1991). A proporção entre ácidos gordos é definida pela relação entre concentrado e alimentos grosseiros (Luquet, 1985).

A proteína mostra uma variação muito menor com a natureza da dieta em comparação com a gordura (Rodrigues, 2014). A manipulação da dieta, com intuito de alterar a produção e a composição do leite, vem-se tornando muito comum na atividade leiteira, sendo que a produção de leite e o teor de gordura são os mais influenciados pela dieta. Como tal, a inclusão de alimentos energéticos e proteicos na forma de misturas concentradas é uma

prática comum em sistemas de produção especializados, pois melhoram o desempenho de vacas de alta produção de leite (Oliveira *et al.*, 2010).

O regime alimentar aplicado ao animal poderá ter efeitos positivos ou negativos no que respeita ao teor proteico. Há que ter em conta que durante a manipulação da dieta do animal, apesar de se conseguir ligeiros aumentos do teor proteico, é bem mais difícil acertar o seu teor proteico do que o teor butiroso (Spreer, 1991).

2.4 A padronização do leite e a sua Aptidão Tecnológica para fabrico de queijo

2.4.1 A importância da padronização do leite na indústria queijeira (proteínas e gordura)

Para um produtor de queijo, a transformação do leite em queijo é um dos principais fatores que têm a considerar visto que é durante esse processo que poderá intervir de forma a proporcionar ao consumidor um produto de alta qualidade. (Martins, 2009)

Nesse processo de transformação, existem essencialmente três momentos ou fases que definem as características e a qualidade do produto final. Elas são a matéria-prima (tipo, composição, a necessidade de padronização...), a coagulação e o dessoramento, sendo fases essenciais nas características do queijo fresco, para além da maturação para queijos curados (Martins, 2009). Uma vez que o estudo é focado no queijo fresco somente vamos evidenciar para além das fases de coagulação e dessoramento também uma etapa importante para o fabrico do queijo fresco: a pasteurização como fator de influência na coagulação.

Na avaliação da qualidade do leite usado numa queijaria deve ser tido em conta a sua aptidão para proporcionar um produto final de qualidade dentro das condições normais de trabalho tanto a nível tecnológico - (preparação do leite, diagrama de fabrico e boas práticas queijeiras, auxiliares tecnológicos: coagulantes e sal, equipamentos entre outros), como físico-químico (rico e equilíbrio físico-químico), fatores relacionados com rebanho (raça, genética, estado sanitário, alimentação, estação do ano, período de lactação entre outros) e bacteriológico (boa qualidade bacteriológica, isento de substância indesejáveis, obtido com os devidos cuidados e higiene) (Martins, 2009) de forma a proporcionar um rendimento satisfatório de queijo (Luquet, 1985).

O leite, como matéria-prima complexa e heterogénea, nem sempre apresenta a mesma aptidão para a transformação do leite em queijo quando submetidos à coagulação enzimática (Luquet, 1985) devido aos fatores anteriormente mencionados (capítulo 2.3) que afetam a composição do leite como os fatores tecnológicos. Para tal, é necessário haver uma

preparação (padronização) dos leites a fim de obter uniformidade na produção do produto final (Corpas, 1983). De modo a haver um bom equilíbrio entre a matéria gorda (MG) e a matéria azotada (MA), há que ter em conta a percentagem de gordura que o leite e a proporção em proteínas, mais propriamente de caseínas, uma vez que as caseínas são a base de produção do queijo (Corpas, 1983). Um leite com baixo teor em caseínas promove uma diminuição de rendimento e uma menor aptidão do leite para a coagulação (Martins, 2011). Assim, é necessário ter um controlo constante sobre a composição do leite em proteínas visto que afeta não só a coagulação como o rendimento em queijo fresco (Spreer, 1991).

A coagulação é, na verdade, uma fase decisiva para as características do produto final e, por isso, o controlo do fabrico deve ter em particular atenção a evolução da coagulação em estreita relação com a expressão dos diferentes fatores tecnológicos, nomeadamente os relacionados com o leite, pois os que se relacionam com as condições de fabrico são de mais fácil domínio (Martins, 2011).

A padronização do leite tem como base o ajustamento da composição do leite a fim de se obter a mesma relação matéria gorda/extrato seco desengordurado que o queijo deve ter como produto final. É imprescindível a realização da padronização do leite no fabrico de queijo, tendo em conta a composição da matéria-prima, seja para produção de queijo com um determinado teor de matéria gorda, bem como em outro qualquer tipo de queijo (Amiot, 1991). Contudo a empresa Montiqueijo não efetua a padronização do leite, a não ser a adição de cloreto de cálcio, coalho animal e sal como representado na figura 3 e explicado no ponto 2.4.2. O teor proteico do leite é, portanto, uma característica importante no que se refere ao seu valor comercial, tecnológico e biológico. Quanto mais elevado for o teor proteico do leite, melhor será o seu rendimento durante a transformação tecnológica (Goursaud e Quinque, 1980).

2.4.2 Queijo fresco

De acordo com a NP- 1921 (1985), designa-se Queijo Fresco Tradicional ao produto não maturado proveniente do dessoramento lento, após uma coagulação de leite inteiro, semidesnatado ou desnatado, de vaca, cabra, ovelha ou de mistura. Qualquer leite ou misturas do mesmo para fabrico de queijo fresco ou com tempo de maturação inferior a 60 dias devem ser submetidos obrigatoriamente à pasteurização ou qualquer outro tratamento térmico equivalente, de forma a garantir a segurança do consumidor (Ponciano, 2010).

Pela NP- 1921, o queijo fresco, tratando-se de um queijo de pasta mole, deve ter um teor de humidade entre os 67% e 80% a partir do resíduo isento de matéria-gorda (HQIMG) e teor de matéria-gorda referente ao resíduo seco total (RST) de 10 a 60%. Consoante a % de

matéria gorda no RST, o queijo fresco pode ser classificado em: muito gordo (teor M.G > 60%), gordo (teor MG entre os 45-60%), meio gordo (teor de MG entre 25-45 %), pouco gordo (teor de MG entre 10-25%) ou magro (teor de MG < 10%).

O queijo fresco tradicional da Montiqueijo é produzido com leite de vaca proveniente das suas próprias explorações, à exceção de períodos em que a produção das vacas leiteiras é baixa, em que têm que recorrer a leite de outras explorações. A recolha do leite é realizada pela própria empresa através de camiões cisternas com sistema de refrigeração.

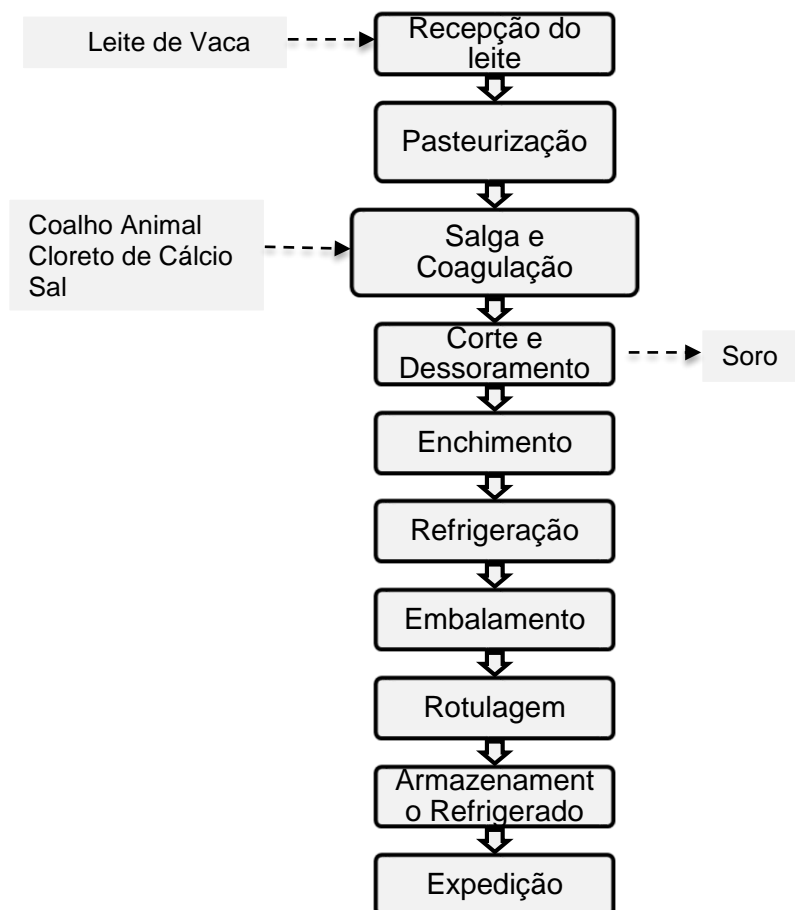


Figura 3: Diagrama de Fabrico do Queijo Fresco Tradicional conforme os padrões internos da Montiqueijo

É fundamental que durante o seu transporte não haja quebra da temperatura (4°C) pois tem uma considerável influência na qualidade do produto final (Ribeiro, 2013). O processo de fabrico (figura 3) seja dos queijos da montiqueijo como de outro qualquer queijo deve ser iniciado pela seleção de leite de boa qualidade, tanto a nível microbiológico como tecnológico, pois uma contaminação inicial poderá condicionar o fabrico e afetar as características finais do produto (Bandeira, 2010).

A preparação da matéria-prima tem como objetivo obter lotes homogêneos de forma a diminuir a variabilidade das características no produto final. Nesta fase do processo podem incluir-se diversas operações, entre as quais a pasteurização e a adição de matérias secundárias, como o sal e o cloreto de cálcio (Brulé e Lenoir, 1987).

Para o fabrico do queijo fresco, a empresa usa somente leite pasteurizado e, como tal, a pasteurização do leite é realizada em contínuo, através de um pasteurizador de placas, segundo os padrões internos da empresa. O processo de pasteurização é fundamental no fabrico do queijo fresco pois é ela que garante a inocuidade do queijo e a segurança do consumidor. A pasteurização tem como objetivo a eliminação de microrganismos patogénicos bem como flora microbiana que promova a alteração do produto. Mais adiante, irá abordar-se esta e outras etapas que apresentam uma influência determinante nas características do queijo (Ribeiro, 2013).

Seguidamente, o leite pasteurizado é encaminhado para cubas de coagulação onde será adicionado o sal, o cloreto de cálcio e, por fim, o coalho (de origem animal), seguindo esta ordem. Neste tipo de fabrico, o sal tem como função essencial o contributo para o *flavour*, apontando-se também contributos não só para a conservação como também para a consistência do queijo, conforme as proporções utilizadas.

É na etapa de coagulação que ocorrem as modificações mais importantes na produção de queijo fresco. Após a adição dos ingredientes acima mencionados, sendo o leite homogeneizado durante alguns minutos com cuidado, a coagulação decorre após a adição da enzima coagulante, durante um período de cerca de 1 h a uma temperatura próxima dos 28°C-30°C.

As condições da coagulação, nomeadamente no que se refere à temperatura, e a adição de ingredientes secundários importantes para o desenvolvimento da coagulação, encontram-se de certo modo padronizadas de forma a evitar que ocorram problemas durante esta fase que possam influenciar as características do produto final. Esses mesmos fatores irão ser explorados mais adiante. Uma vez que a coalhada obtida por coagulação enzimática é bastante mineralizada e pouco permeável, dificultando a expulsão do soro e de forma lenta, é necessário recorrer ao corte da coalhada. (Brulé e Lenoir, 1987).

No final da coagulação, o corte deve ser feito de forma a obter fragmentos grandes para obter um queijo com maior teor de humidade e também a consistência e firmeza desejada (Ponciano, 2010).

O corte vai permitir a expulsão espontânea do soro. Por isso, a coalhada é deixada em repouso durante algum tempo.

De seguida, procede-se ao dessoramento da coalhada. Consiste na remoção do soro da massa, tendo em conta o teor de humidade que se pretende obter. Muitas vezes recorre-se a

tecidos, onde a coalhada é retirada das cubas e colocada nas francelas nos respectivos panos (Ribeiro, 2013)

Esta massa é depois colocada em moldes para dar forma ao queijo. O próprio peso da massa é muitas vezes suficiente para proceder ao dessoramento do queijo, não se correndo o risco de haver um dessoramento excessivo. Os moldes são depois encaminhados para câmaras de refrigeração com túneis de arrefecimento, a fim de controlar o crescimento microbiano e a perda de soro (Ribeiro, 2013).

Após a estabilização da temperatura do produto, os queijos são desmoldados manualmente e colocado em embalagens e devidamente rotulados, com as devidas especificações obrigatórias pela legislação da rotulagem alimentar.

Por fim, após o produto devidamente embalado este é armazenado em câmaras de refrigeração a 4-6 °C até á sua expedição (Ribeiro, 2013).

2.4.3 Coagulação

A coagulação é a etapa principal do processo de fabrico de queijo e a composição do leite utilizado, bem como as condições inerentes ao processo, tais como: a temperatura, o pH, o coagulante, o cloreto de cálcio, entre outros, devem ser as adequadas para a ocorrência perfeita da coagulação. A aptidão tecnológica do leite ou as suas propriedades dependem essencialmente do comportamento perante a coagulação pois é esse processo que irá determinar as características e o comportamento da coalhada nas fases seguintes (Barros, 2012).

A coagulação, sendo a primeira fase de transformação do leite em queijo, tem um papel fundamental, como referido anteriormente, sobre as características do produto final. No que toca a coagulação enzimática, ocorrem modificações físico-químicas das respetivas micelas de caseína sob a ação das enzimas proteolíticas que proporcionam a coagulação das caseínas; o fosforo micelar liga-se ao cálcio solúvel e o fosfato de cálcio contribui para a união e agregação das micelas de caseína levando à formação de uma malha proteica, designada de coágulo, gel ou coalhada (Eck, 1987).

Existem três tipos de coagulação distintas que se encontram relacionados com o tipo de coagulante usado sendo eles: mista, ácida e enzimática. Uma vez que o queijo em estudo é produzido através da coagulação enzimática será apenas esta a referida.

2.4.3.1. Enzimática

No geral, a coagulação enzimática compreende duas fases fundamentais: a fase primária ou enzimática, onde tem lugar a hidrólise da caseína k após a adição de enzimas proteolíticas, seguindo-se uma fase secundária ou de agregação micelar, onde ocorrem diversos fenómenos como a agregação das micelas de caseína destabilizadas, originando uma reticulação proteica e a conseqüente formação do gel ou coalhada (Brulé *et al.*, 1997; Mahaut *et al.*, 2000; Martins, 2001). A fase final da coagulação, considerada por diversos autores como uma fase autónoma, assenta ainda num outro fenómeno, a sinérese. Esta corresponde a uma expulsão espontânea do soro na sequência do aumento da rigidez do gel, isto é, quando a coalhada tem condições de sofrer ações exteriores, como o corte, iniciando-se assim outra operação do processo de fabrico do queijo, o dessoramento (Payne *et al.*, 1993; Martins, 1999).

A fase enzimática, representada na figura 4, é caracterizada pela hidrólise da caseína k , estabilizadora das micelas de caseína, provocada pelas enzimas proteolíticas – quimosina, pepsina, proteinases de origem vegetal ou de origem microbiana. Esta hidrólise ocorre na ligação Fen105 – Met106, e divide a caseína k em paracaseína k (fração 1-105) e caseinomacropéptido (CMP) ou glicomacropéptido (GMP) (fração106-169).

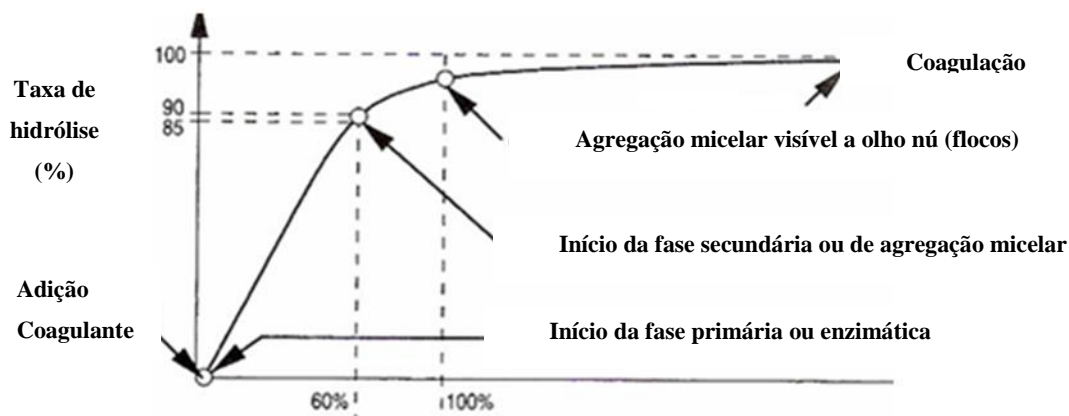


Figura 4: Evolução da hidrólise da k caseína do gel após a adição do agente coagulante

Fonte: (adaptado de Mahaut *et al.*, 2000).

Após a hidrólise, o CMP é libertado para o soro, enquanto a paracaseína k permanece nas micelas (Dalglish, 1999). A fase da agregação micelar, representada na figura 5, ocorre devido às diferenças estruturais entre a caseína k e as caseínas α e β que, não contendo propriedades estabilizadoras e sendo sensíveis ao cálcio, permitem a floculação das micelas. Com a libertação do CMP no soro, ocorre uma diminuição das forças de repulsão

electroestática e do grau de hidratação responsáveis pela estabilidade micelar. Com o aumento da instabilidade ocorrem ligações intramicelares, com participação do cálcio iônico, começando assim a agregação micelar ou coagulação. As ligações intramicelares são hidrófobas, electroestáticas e salinas (Eck, 1987; Dalgleish, 1999; Mahaut *et al.*, 2000).

Apesar de serem apresentadas de forma sequencial, as fases da coagulação vão ocorrendo em simultâneo, isto é, a segunda fase pode começar sem que a primeira fase tenha ainda terminado. A coagulação tem início logo que haja uma proporção relativamente elevada de caseína *k* hidrolisada (Eck, 1987; Dalgleish, 1999; Mahaut *et al.*, 2000).

A coagulação pode ser afetada por vários fatores. A fase enzimática é mais suscetível à natureza e quantidade da enzima, à temperatura, ao pH e ao substrato (tipo de leite), fatores estes associados à atividade enzimática (McMahon *et al.*, 1984; Dalgleish, 1999). A fase da coagulação é influenciada pela concentração de Ca^{2+} em solução e pela temperatura. Aparentemente o pH não tem muita influência nesta segunda fase (Dalgleish, 1999).

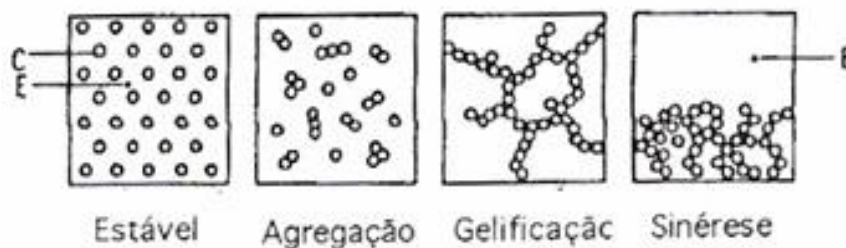


Figura 5: Representação esquemática da evolução da coagulação enzimática. C- micela de caseína e E- molécula de enzima.

Fonte: (Van Hooydonk *et al.*, 1988).

2.4.3.2 Fatores que condicionam a coagulação

Diferentes são os fatores que contribuem para o processo de coagulação e a conjugação desses mesmos fatores permite obter coalhadas com consistência variável desde uma consistência mais fluida até a massas com consistência sólida-elástica. (Eck, A., 1987).

Os efeitos que os diferentes fatores têm na coagulação deve ser avaliado tendo em conta as duas fases mencionadas anteriormente: enzimática (tempo de coagulação) e a agregação micelar ou coagulação (evolução da consistência do gel), pois cada fase tem a sua natureza (Martins, 2009).

Os principais fatores que afetam a coagulação são: o tipo de leite, a natureza e concentração da enzima, a temperatura, o pH e ainda os sais minerais nomeadamente o

cálcio e o cloreto de sódio. A pasteurização também é um dos fatores tecnológicos com grande influência na coagulação respectivamente ligado ao cálcio (Martins, 2009).

➤ Tratamento térmico: Pasteurização

A pasteurização é imposta como a primeira a medida a tomar para se obter uma boa produção de queijos (Sá e Barbosa, 1990), podendo ser efetuada de duas formas: pasteurização baixa, realizada a baixas temperaturas, em torno de 62-65 °C durante cerca de 30 minutos, e a pasteurização alta, efetuada a 71-75°C durante 15 segundos (Sá e Barbosa, 1990). No caso do fabrico do queijo fresco, a empresa efetua a pasteurização com temperatura próxima dos 78°C durante 20 segundos.

A principal finalidade da pasteurização é a destruição das bactérias patogénicas que possam estar presentes nos leites, bem como da flora indesejável que possa provocar defeitos nos queijos (Amiot, 1991).

A aplicação do binómio temperatura/tempo provoca alterações relativamente intensas no equilíbrio salino do leite. O cálcio solúvel une-se ao fósforo para formar fosfato de cálcio que precipita as micelas de caseína (Spreer, 1991). O tratamento térmico faz com que os sais minerais (Ca e P) passem da forma solúvel para coloidal insolúvel podendo ocorrer precipitação dos mesmos (Corpas, 1983). Por esta razão para a produção de queijo, mais propriamente para a coagulação enzimática, é necessária a adição de cloreto de cálcio, pois a coagulação só ocorre na presença de cálcio suficiente, de forma a obter-se uma coalhada firme (Sá e Barbosa, 1990).

A pasteurização tem como efeito aumentar o tempo de coagulação, diminuir a firmeza do coágulo e tornar o dessoramento mais lento. De forma a atenuar estes efeitos, pode-se aliar à adição do cloreto de cálcio um aumento da temperatura de coagulação ou coagular a um pH mais baixo (Amiot, 1991).

➤ Natureza e Concentração da enzima:

A ação do coagulante sobre o processo de coagulação depende do conjunto de condições do fabrico. Na coagulação de origem enzimática é necessário ter em conta tanto a relação da atividade específica de coagulação/atividade proteolítica não específica como a velocidade de desenvolvimento consoante o tipo de enzima e o substrato (tipo de proteína) (Barros, 2012). Podem usar-se enzimas de diferentes origens, mas as mais usuais são: o coalho constituído por quimosina e pepsina de origem animal (Martins, 1999), a quimosina, protéases de origem microbiana, e o cardo, de origem vegetal, constituído por uma mistura de enzimas (cardosinas/ciprosinas) com elevada atividade proteolítica não específica (Barros, 2012).

As enzimas do cardo são muito mais resistentes ao calor (com atividade até próximo dos 70°C) que a quimosina (enzima principal do coalho animal), que perde a sua atividade perto dos 40-42°C; a temperatura da coagulação no fabrico de queijo encontra-se normalmente entre os 28°C e os 36°C (Martins, 2009). O comportamento coagulante do cardo é eficaz principalmente no leite de ovelha (Barros, 2012).

Relativamente à concentração de enzimas (relação enzima/substrato), não só influencia as características reológicas do gele, nomeadamente a sua velocidade de consolidação, a firmeza máxima e a elasticidade, como a velocidade de coagulação, a qual é inversamente proporcional à quantidade de enzima (Eck, 1987).

Nem todos os leites têm o mesmo comportamento em relação ao coalho, podendo apresentar diferentes aptidões para a formação de um gele que possua características reológicas que lhe permita sofrer, sem haver perdas, as intervenções mecânicas para o dessoramento (Eck, 1987). Por exemplo, em comparação com o leite de ovelha, o leite vaca é um leite que coagula mais lentamente que o de ovelha, pois o último contém uma proporção elevada de caseína β/α_{s1} e por isso é mais sensível ao coalho. Dessa forma, para coagular o leite de ovelha com o mesmo tempo de coagulação que o leite de vaca é necessária menor quantidade de coalho (Barros, 2012).

➤ Temperatura:

A influência da temperatura resulta da conjugação de dois efeitos, uma da fase enzimática e outra na fase de coagulação, sendo, contudo, a sua influência mais importante sobre a velocidade de agregação (fase de coagulação) do que na velocidade da reação enzimática (fase enzimática) (Luquet, 1985). A temperatura apresenta grande influência relativamente ao tempo de coagulação, firmeza da coalhada, consistência do gel e na taxa de formação do gel (Nájera *et al.*, 2003).

Uma temperatura baixa, entre 26-29 °C, produz coalhadas macias e gelatinosas, de fácil dessoramento, enquanto a altas T°C, > 33°C, as coalhadas são mais ásperas e de difícil dessoramento (Corpas, 1983). Um aumento da temperatura dentro dos valores adequados torna mais rápida a formação da coalhada.

A temperatura, sendo um dos fatores mais importantes na atividade enzimática e nas reações envolventes, apresenta influência sobre as fases da coagulação enzimática sobretudo na fase de agregação micelar, nomeadamente na velocidade de agregação das micelas. Embora a temperaturas baixas a fase enzimática decorra lentamente, a fase de agregação micelar dificilmente ocorre a temperaturas abaixo dos 20°C e, segundo Martins (2009), é por esse motivo que poderá haver a fase enzimática sem que ocorra a fase de agregação micelar e por isso não se verificar coagulação do leite.

➤ pH:

De entre todos os fatores que interferem com a coagulação enzimática, o pH é o que desempenha um papel mais importante na coagulação, sobretudo nas características da coalhada e no tempo de coagulação. Uma diminuição do pH do leite favorece uma redução do tempo de coagulação (Mahaut *et al.*, 2000). O aumento da taxa de coagulação pela diminuição do pH leva o aumento da firmeza da coalhada, sendo inversamente proporcional ao valor de pH, até dado valor. De pH 6,7 a 6,0 há um aumento significativo da firmeza da coalhada, isto porque se encontra cálcio ionizado disponível. Contudo, abaixo de 6,0, ocorre desmineralização das caseínas, levando a uma desintegração da estrutura da micela, enfraquecendo a rede proteica (Figura 5) (Mahaut *et al.*, 2000)

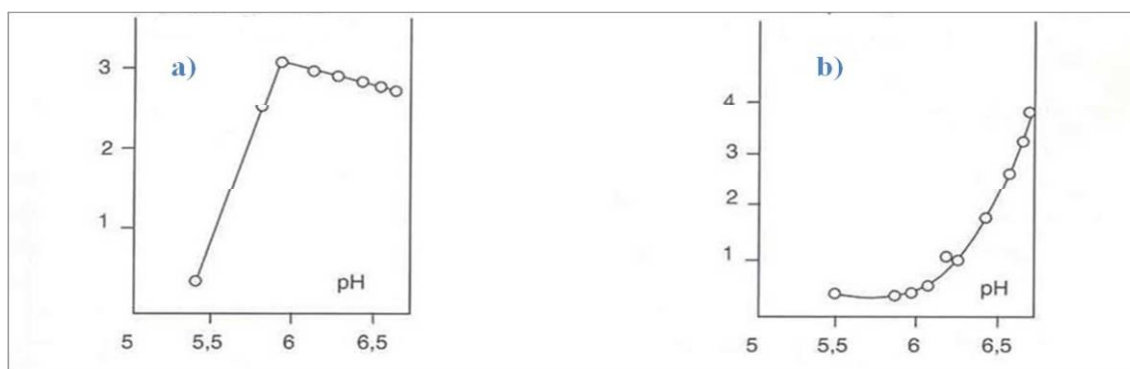


Figura 6: Influência do pH sobre a firmeza máxima da coalhada e a velocidade de agregação micelar: a) Firmeza máxima; b) velocidade de agregação micelar máxima.

Fonte: Brule e Lenoir, 1987.

O valor de pH tem grande influência sobre a atividade enzimática pois determina a quantidade de enzima a adicionar e, por sua vez, o tempo de coagulação. De forma a se obter um tempo de coagulação adequado, há que definir um valor de pH ótimo tendo em conta o tipo de enzima usado. Os valores de pH ótimos oscilam entre 6.2-6.5 (Spreer, E., 1991), um pouco abaixo do pH normal do leite (6,6-6,7).

Como se pode verificar na tabela 3, a diminuição do pH permite uma diminuição do tempo de coagulação, isto porque o pH se aproxima do valor ótimo da atividade proteolítica do coalho animal ou das protéases de *Cynara cardunculus* L., cerca de 5-5,5. Também ocorre uma diminuição da estabilidade das micelas da caseína, ligadas à neutralização das cargas negativas e à libertação dos iões de Ca^{2+} , facilitando a agregação micelar e a obtenção de um gel mais consistente a um pH inferior ao do leite. No caso de pH neutro (≈ 7), a coagulação não ocorrerá uma vez que se verifica a inativação das enzimas do coalho.

Tabela 3: Evolução do tempo de coagulação entre pH 6,0 e 6,7

<i>pH</i>	6.0	6.3	6.5	6.7
<i>Tempo de Coagulação (min)</i>	1.0	1.5	2.2	4.2

➤ Adição de Cálcio:

A adição de cloreto de cálcio ao leite é recorrente na indústria queijeira pois melhora a textura da coalhada e o rendimento em queijo. A sua adição é um dos fatores que maior importância tem na fase de agregação micelar, mais do que na fase enzimática. A presença de cálcio sob a forma de íons de cálcio promove uma diminuição do pH do leite na fase enzimática (coalho é mais sensível), isto porque há troca de íons de Ca^{2+} por H^+ levando a um aumento da reação enzimática e por sua vez a redução do tempo de coagulação, aumento de firmeza da coalhada e da velocidade da agregação micelar e aumentando a consistência do gel. (Sá e Barbosa, 1990; Eck, 1987).

Conforme o teor de cálcio aumenta (íons de cálcio), os agregados das micelas tornam-se maiores e densos, aumentando a quantidade de soro aprisionado na matriz proteica.

Uma refrigeração mais prolongada e principalmente a pasteurização promove um aumento do cálcio solúvel sendo superior ao cálcio coloidal o que provoca eventualmente um desequilíbrio do cálcio. Para restabelecer esse equilíbrio deve-se adicionar cloreto de cálcio ao leite após o tratamento térmico. É importante que o cloreto de cálcio se encontre dissolvido de forma homogênea no leite. Esta adição deve ser realizada antes da adição do coalho. Suplementar o leite com cálcio evita que haja perdas de caseína durante a coagulação e ajuda a manter uma massa firme (Amiot, 1991).

➤ Adição de cloreto de sódio (sal)

A adição de sal na preparação do leite antes da coagulação tem como resultado, para além de promover uma diminuição do pH e a redução do grau de hidratação das micelas (Eck, 1987), facilitar o dessoramento da massa, favorecendo os fenómenos de osmose (sinérese), para além de dar gosto ao queijo e de poder contribuir para a sua conservação (Sá e Barbosa., 1990). O coalho animal, essencialmente a quimosina, é muito sensível ao sal e, ao ser adicionado ao leite pode provocar um início de coagulação tardio, bem como afetar a firmeza do gel. Tanto o leite de vaca como o leite de cabra sofrem bastantes alterações quando coagulado com o coalho devido à sua composição proteica (Martins, 2009).

➤ Tipo de leite

A proteína, mais especificamente a fração caseínica, como elemento fundamental da coagulação, é muito importante na aptidão do leite à coagulação, dependendo dos seus atributos quantitativos como qualitativos. Tendo em consideração o tipo de leite consoante a espécie, existem diferenças qualitativas e quantitativas relativamente a composição da caseína (Martins, 2009). Observando a Figura 6, pode verificar-se que o leite de vaca possui um tempo de coagulação relativamente longo com uma taxa de endurecimento lenta. Quanto à firmeza da coalhada tem uma firmeza máxima reduzida sendo atingida gradualmente ao longo do tempo (Martins, 2009).

Comparativamente com o leite de ovelha, este já apresenta um início de floculação mais rápido com uma taxa de endurecimento máxima e uma firmeza máxima elevada que é atingida rapidamente (Martins, 2009).

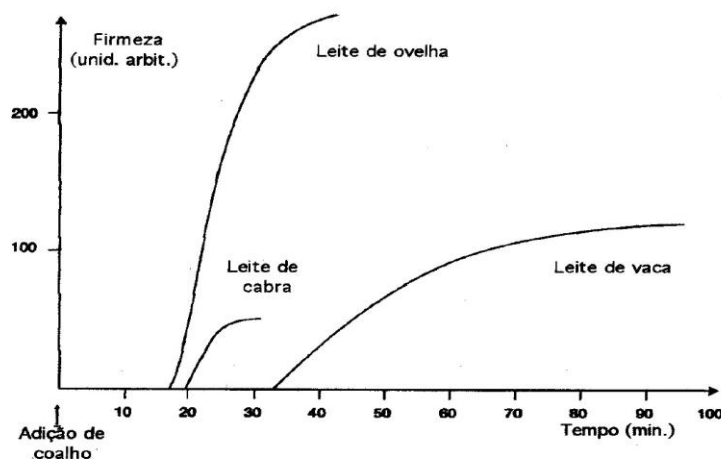


Figura 7: Evolução da firmeza do gel ao longo da coagulação em leites de espécies pecuárias diferentes adaptado de Martins, A.P.L., 2009

2.5 Rotulagem Nutricional

A escolha de uma alimentação adequada é cada vez mais uma preocupação presente no dia-a-dia do consumidor havendo uma interligação entre a alimentação e a saúde do mesmo. O conhecimento tanto do valor calórico como das propriedades nutricionais do produto, no rótulo, é de extrema importância para o consumidor, pois permite-lhe escolher os alimentos mais adequados á sua alimentação (Análise Nutricional, 2015).

Afim de as indústrias alimentares irem ao encontro das exigências do consumidor de hoje em dia, a informação nutricional, regulamentada pelo Regulamento (UE) nº1169/2011, de 25 de Outubro, obriga a que o valor calórico/energia, os teores em lípidos/gordura, ácidos-gordos saturados/gordura saturada, hidratos de carbono/açúcares, proteínas e sódio/sal estejam presentes nos rótulos. Outras informações poderão ser opcionais ou obrigatórias caso existam alegações nutricionais ou de saúde específicas, como demonstrado na Tabela 4.

Tabela 4: Informação nutricional nos rótulos alimentares

Informação Nutricional Obrigatória	Informação Nutricional Facultativa ou Obrigatória (caso de presença de alegações nutricionais ou de saúde)
Energia	Ácidos gordos monoinsaturados
Lípidos	Ácidos gordos polinsaturados
Ácidos gordos saturados	Polióis
Hidratos de carbono	Amido
Açúcares	Fibra
Proteínas	Vitaminas e minerais
Sal	Outros nutrientes tais como: Ómega 3, Ómega 6,

Fonte: <http://www.merieuxnutrisciences.pt/pt/por/servicos/seguranca-e-qualidade-alimentar/os-nossos-servicos/controlo-analitico-de-alimentos/analise-nutricional/562> .

Segundo o Regulamento (UE) nº 1169/2011, para o efeito de rotulagem nutricional nas indústrias, é importante haver tolerâncias e limites, como referenciado nas paginas 37 e 38, pois os alimentos não têm sempre os mesmos níveis precisos de nutrientes que se encontram no rótulo. Isto porque existem fatores de variação tais como: fonte dos valores (valores de literatura, cálculos por receita e não por análise), o rigor da análise, a variação das matérias-primas, fatores naturais, da produção, da estabilidade dos nutrientes ou mesmo de armazenamento que acabam por influenciar a composição nutricional do alimento. As tolerâncias são as diferenças aceitáveis entre os valores que se encontram nos rótulos e aqueles determinados durante os controlos oficiais declarados no Regulamento (UE) nº

1169/2011, no que se refere à prestação de informações prestadas ao consumidor sobre os géneros alimentícios.

O objetivo das indústrias alimentares é fazer com que o teor de nutrientes nos alimentos não varie para além do admissível em função dos valores presentes nos rótulos pois levariam a induzir em erro os consumidores. A fim de atingir um elevado nível de proteção da saúde dos consumidores e de garantir o seu direito à informação, importa assegurar uma informação adequada aos consumidores sobre os alimentos que consomem podendo influenciar as suas escolhas tendo em consideração as questões de saúde, económicas, ambientais, sociais e éticas, entre outras.

A diretiva 90/496/CEE e o Regulamento (UE) nº1169/2011 determinam que tanto o valor energético/calórico como o valor dos nutrientes devem ser rotulados como valor médio, o que significa que este valor é aquele que representa melhor a quantidade do nutriente no respetivo produto como também já admitir os diferentes fatores de variabilidade que possam influenciar o valor real. Esses valores médios declarados na rotulagem nutricional são estabelecidos conforme:

- a) Análise realizada pelo fabricante
- b) A partir de cálculos efetuados através dos valores médios conhecidos ou reais relativos aos ingredientes usados
- c) De cálculos a partir de dados á partida estabelecidos e aceites.

3. Trabalho Experimental

3.1 Objetivo do Trabalho e Planificação de amostragem

O presente trabalho teve como objetivo principal o estudo da variação de composição do Queijo fresco Tradicional Português da Montiqueijo, no sentido de verificar a adequação da respetiva rotulagem à regulamentação atualmente em vigor.

Considerando a eventualidade dessa variabilidade poder ser superior ou inferior ao estabelecido pela regulamentação relativamente às menções nutricionais constantes da rotulagem, o trabalho experimental incluiu, de origem, a possibilidade de abordar a avaliação do eventual efeito de alguns dos principais fatores com influência na composição e propriedades do queijo fresco, a composição do leite (no caso, leite de vaca), a fim de ser possível avaliar eventuais diferenças nos componentes no leite, e, por sua vez ajuizar da influência da variabilidade da composição do leite na sua aptidão tecnológica, isto é, no processo de fabrico do queijo, se se justificasse.

O estudo foi realizado no laboratório das Industrias Lácteas do INIAV – Polo do Lumiar, em colaboração com a empresa Montiqueijo, a qual disponibilizou as amostras de leite (leite cru) e do respetivo produto final (queijo fresco).

Previamente foi definido um plano de amostragens em que as amostras iriam ser recolhidas quinzenalmente em dois dias consecutivos (quarta e quinta-feira) tanto de leites como dos queijos produzidos com os mesmos lotes de leite amostrados; as amostras de queijo de cada lote foram provenientes de 2 cubas aleatórias. O leite que abastece a empresa é proveniente apenas de uma exploração de leite afeta ao grupo que detém a empresa de transformação. As amostras de leite foram sujeitas a análises físico-químicas relativamente à sua composição.

As amostras de queijo foram analisadas relativamente à composição nutricional necessária às exigências da rotulagem. Dado que a informação obrigatória relativamente à gordura se refere à gordura total e à fração saturada, podendo, por opção por parte das indústrias, nomeadamente das queijarias, optar-se por completar a informação nutricional da gordura com a gordura monoinsaturada e polinsaturada, procedeu-se também à determinação do perfil dos ácidos-gordos constituintes da fração lipídica dos queijos por cromatografia gás-líquido.

3.2 Materiais e Métodos

3.2.1 Recolha e Conservação das Amostras

As amostras de leite (quatro por semana) foram recolhidas e fornecidas pela empresa Montiqueijo em frascos esterilizados, correspondendo, em cada um dos dias de amostragem da semana, a uma amostra de leite cru (matéria prima original), sem quaisquer adições de ingredientes usados na produção do queijo fresco.

Em cada um desses dias, da produção do queijo a partir do mesmo lote de leite foram retirados 3 queijos de cada uma de duas cubas aleatórias, obtendo-se um total 6 queijos por dia, cada um com cerca de 80g, correspondendo cada grupo a uma amostra de queijo.

O planeamento de recolha das amostras de leite e queijo foi definido para serem realizadas recolhas de amostras em dois dias consecutivos na semana (quarta e quinta-feira), quinzenalmente, desde Março até Agosto. No total foram analisadas 21 amostras de leite cru. Quanto aos queijos frescos seria de esperar analisar 44 amostras, mas devido a baixa produção de leite houve quinzenas em que um dos dias era representado somente por 1 amostra, obtendo-se então um total de 35 amostras analisadas.

Os leites foram transportados para o laboratório do INIAV em caixas isotérmicas de modo a manter as amostras refrigeradas durante a deslocação. À chegada ao laboratório, as amostras foram de imediato conservadas sob refrigeração a 4°C, para no dia seguinte serem analisadas. Os queijos permaneceram durante 4-5 dias no frio (4°C) para serem efetuadas as análises após um período de dessoramento que permitisse a estabilização de composição.

3.2.2 Análise do Leite

Antes da realização das análises foi necessária uma prévia preparação das amostras, abrangendo a colocação de uma pequena amostra de cada leite num frasco em banho de água a 40°C, aproximadamente durante 20 minutos, sendo efetuadas as análises de composição do leite por espectrometria de infravermelho próximo (Milko-Scan 133B, Foss, Denmark).

Seguidamente procedeu-se a uma diminuição da temperatura até 20°C, conforme o indicado na Norma Portuguesa NP 403, "Leites. Preparação de Amostras para análise", a fim de se avaliar o pH dos leites. Os leites que constituíram os lotes de fabrico foram, assim, sujeitos a análises físico-químicas conforme se resume na Tabela 5.

Tabela 5: Procedimentos experimentais para análises físico-químicas do leite

AMOSTRA	ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA	MÉTODO
LEITE CRU	pH	Potenciometria (potenciómetro 713 pH meter, Metrohm, Swiss)
	MG (Matéria-Gorda)	Milko-Scan 133-B, N.FOSS Electric, Denmark
	PB (Proteína Bruta)	
	L (Lactose)	
	RST (Resíduo Seco Total)	
	RSIMG (Resíduo Seco Isento de Matéria Gordas)	

3.2.3 Análise do Queijo

3.2.3.1 Preparação das Amostras

Previamente à realização das determinações físico-químicas, os queijos foram retirados do frio e colocados a temperatura ambiente aproximadamente 20° C. Uma vez que o centro das amostras tenha atingido essa temperatura, medido com o auxílio de um termómetro, foi analisado o pH dos queijos. Seguidamente procedeu-se a preparação das mesmas para iniciar as restantes determinações.

Cada amostra foi devidamente triturada manualmente, num recipiente devidamente higienizado, homogeneizado e colocado em frasco de amostras corretamente identificadas com o respetivo dia de recolha e cuba. A consistência frágil do queijo fresco permitiu que não se tivesse que recorrer a um triturador.

3.2.3.2 Análises físico-químicas

Foram efetuadas as respetivas análises físico-químicas bem como a determinação da quantificação do perfil de ácidos-gordos em queijos produzidos pela Montiqueijo com 4-5 dias de conservação, conforme se resume na Tabela 6. A metodologia adotada na determinação dos Hidratos de Carbono foi realizada através de cálculos pela diferença de 100 do somatório dos nutrientes principais que compõem a declaração nutricional do queijo fresco tradicional havendo contudo a probabilidade de acumulação de erros experimentais.

Tabela 6: Procedimentos Experimentais para análises dos Queijos Frescos

AMOSTRA	ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA	MÉTODO
QUEIJO FRESCO	pH	Potenciometria (Potenciômetro 713 pH meter Metrohm, Swiss, com elétrodo de perfuração)
	MG (Matéria Gorda, %)	NP-2105 (IPQ, 1983)
	PB (Proteína Bruta, %)	Cálculo a partir do azoto total: ISO 8968-1, IDF 20-1 (2001), adaptada para queijo segundo procedimento interno do laboratório
	Hidratos Carbono	Cálculos por diferença de 100 pelo somatório dos nutrientes principais
	Cinza (%)	NP-477 (IPQ, 1983), adaptada a queijo
	Resíduo Seco	NP-3544 (IPQ, 1987)
	Humidade	Cálculo a partir do RS: NP-3544 (IPQ, 1987)
	Perfil Ácidos-Gordos	Cromatografia gás-líquido
Cloretos	ISO 5943: FIL88 (IDF, 2006) e AOAC (1975) pelo método de <i>Charpentier-Volhard</i>	

3.2.3.3 Determinação do perfil de ácidos-gordos da fração lipídica por Cromatografia Gasosa-Líquida

A metodologia usada na determinação do perfil dos ácidos-gordos foi desenvolvida a partir de métodos internos em uso no laboratório, assumindo-se que todos os componentes da amostra seriam representados no cromatógrafo para que a soma das áreas dos picos fosse de 100% dos constituintes. A determinação foi feita através de extração lipídica, cujo solvente foi uma mistura de éter de petróleo e éter etílico (1:1), seguida de metilação básica com solução de hidróxido de potássio (KOH) em metanol a 2N com isoctano, e respetiva quantificação por cromatografia gás-líquido com injeção Split e deteção de chama (GC SSL-FID).

Para cada amostra de queijo pesaram-se, para um almofariz, 5 a 10 g (segundo método adaptado pelo laboratório), adicionou-se 5 ml de HCl a 25% e 10 ml de etanol, homogeneizou-se a mistura e procedeu-se à sua transferência para uma ampola de decantação. Posteriormente juntou-se 25 ml de éter etílico e 25 ml de éter de petróleo procedendo-se à agitação vigorosa e cuidadosa da ampola, tendo o cuidado de abrir sempre a tampa para libertar o gás. Deixou-se repousar uns minutos para ocorrer a separação de fases.

Após se verificar a separação das fases, turva, interface e límpida (fase superior da ampola), com o auxílio de uma pipeta removeu-se toda a fase límpida para um balão de evaporação. Posteriormente às extrações procedeu-se à evaporação da fase etérea em evaporador rotativo, lentamente, a temperatura entre 30-40°C. A quantidade inicial de lípidos totais nas amostras por massa foi determinada segundo a NP- 2105 (IPQ, 1983). Num tubo de metilação, adicionou-se 2-3 gotas da gordura obtida no evaporador com auxílio de uma pipeta Pasteur e juntou-se 2,5 ml de isoctano e 2 ml de solução de KOH (2M) e agitou-se o tubo, obtendo separação de fases e os ésteres metílicos por transesterificação.

Das fases obtidas nos tubos de metilação retirou-se cerca 0,4 µl e injetou-se no cromatógrafo. As condições de realização das análises no cromatógrafo foram: coluna capilar DB-23 (50% cianopropil metilpolisiloxano) com 60 metros a 0,25 µm de diâmetro e 0,25 µm de espessura da fase estacionária. Temperatura do forno: injetor automático mantido a 250 °C. Temperatura inicial de 100 °C/15 minutos, aumentando de 10°C/min até 150°C mantido durante 5 minutos, subida até aos 158°C a 1°C/min mantido durante 30 minutos e por fim uma nove subida até aos 200°C a 1°C/ min mantendo-se nesta temperatura final durante 40 minutos. O detetor FID foi mantido a 280°C durante toda a corrida cromatográfica. Gás de arraste: Hélio (vetor a 70 Kpa), Oxigénio e Hidrogénio.

Cálculos:

Na apresentação dos resultados em teor de ácidos gordos/100 g de gordura, foi usado o fator de correção de leite e produtos lácteos (Food Standards Agency, 2001) pelo facto de que os ácidos gordos não constituem a totalidade (100%) dos lípidos da amostra, fator este que corresponde a 0,945.

Como já foi referido, relativamente à rotulagem nutricional, a informação obrigatória que deve constar nos rótulos são a gordura total e a quantificação da gordura saturada. Por opção por parte das indústrias, nomeadamente de queijarias, poderão optar por completar a informação nutricional da gordura com a gordura monoinsaturada e polinsaturada. Desta forma os cálculos efetuados tiveram como base o somatório de cada grupo de ácidos – gordos (saturados- SFA, monoinsaturados-MUFA e polinsaturados- PUFA).

3.2.4 Declaração Nutricional: Cálculos dos Limites de Tolerância do Queijo Fresco

De forma a proceder aos cálculos dos limites de tolerância (inferior e superior) da rotulagem nutricional do queijo fresco tradicional foi necessário ter conhecimento da sua composição e quantidade dos nutrientes (Tabela 7).

Tabela 7: Composição nutricional em 100 g de produto do queijo fresco tradicional da Montiqueijo

Energia (Kcal)	Lípidos (g)	dos quais: ácidos gordos saturados (g)	Hidratos de Carbono (g)	dos quais: açúcares (g)	Fibra (g)	Proteínas (g)	Cloreto de sódio ou (Sal) (g)
176 Kcal	13 g	8,8 g	3,8 g	3,6 g	<0,1 g	11 g	0,83 g

Por cada componente, exceto o valor calórico, a fibra e os açúcares, efetuaram-se os cálculos para determinar os limites (inferior e superior) de tolerância com recurso à Tabela 8. Sobre o valor indicado no rótulo do respetivo componente, aplicou-se a margem de tolerância de forma a encontrar o valor dos limites inferior e superior. Posteriormente, procedeu-se ao arredondamento do valor final dos limites consoante o indicado na Tabela 9 para o componente em questão.

Cálculos: Limite Inferior de Tolerância (L.I.T) e Limite Superior de Tolerância (L.S.T)

- **Gordura: Valor do Rótulo (13 g)**

Recorrendo à Tabela 8, na fração da gordura, o valor do rótulo tem como margem de tolerância $\pm 20\%$. Com este valor de margem, determinou-se o valor do Limite inferior e Limite superior de tolerância relativamente ao teor da declaração nutricional. Seguidamente aplicou-se o arredondamento referente às declarações nutricionais com recurso à Tabela 9. O mesmo se aplica aos restantes componentes (Proteínas, Hidratos de Carbono e Cloretos de Cálcio).

$$\text{L.I.T (10,4 g)} = \underline{13 \text{ g}} = (15,6 \text{ g}) \text{ L.S.T}$$



$$(10 \text{ g}) = \underline{13 \text{ g}} = (16 \text{ g}) \text{ L.S.T}$$

- **Ácidos Gordos Saturados: Valor de Rótulo (8,8 g)**

$$\text{L.I.T (7,04 g)} = \underline{8,8 \text{ g}} = (10,56 \text{ g}) \text{ L.S.T}$$



$$(7,0 \text{ g}) = \underline{8,8 \text{ g}} = (10,6 \text{ g}) \text{ L.S.T}$$

- **Proteínas: Valor de Rótulo (11 g)**

L.I.T (8,8 g) = 11g = (13,2 g) L.S.T

↓

(9,0 g) = 11g = (13 g) L.S.T

- **Hidratos de Carbono: Valor de Rótulo (3,8 g)**

L.I.T (1,8 g) = 3,8 g = (5,8 g) L.S.T

- **Cloretos, expressos em NaCl: Valor de Rótulo (0,83 g)**

L.I.T (0,455 g) = 0,83 g = (1,205 g) L.S.T

↓

(0,46 g) = 0,83 g = (1,21 g) L.S.T

Tabela 8: Tolerâncias para alimentos que não suplementos alimentares incluindo a incerteza de medição

	Tolerância para alimentos (inclui a incerteza de medição)	
Vitaminas	+50% **	-35%
Minerais	+50% **	-35%
Hidratos de Carbono (HC), Açúcares, Proteínas (PB), Fibra	<10 g por 100 g	±2 g
	10 – 40 g por 100 g	±20 %
	> 40 g por 100 g	±8 g
Gorduras	<10 g por 100 g	±1,5 g
	10 – 40 g por 100 g	±20 %
	> 40 g por 100 g	±8 g
Gorduras Saturadas, Gorduras monoinsaturadas, Gorduras polinsaturadas	<4 g por 100 g	±0,8 g
	>4 g por 100 g	±20%
Sódio	<0,5 g por 100 g	±0,15 g
	≥0,5 g por 100 g	±20%
Sal	<1,25 g por 100 g	±0,375 g
	≥1,25 g por 100 g	±20%

Nota: ** para a vitamina C em líquidos, poderiam aceitar-se valores de tolerância mais elevados
 Fonte: Regulamento (UE) nº 1169/2011.

Tabela 9: Orientações sobre o arredondamento aplicáveis à declaração de nutrientes na rotulagem nutricional dos alimentos

Elemento nutricional	Quantidade	Arredondamento
Energia		ao 1 kJ/kcal mais próximo (sem casas decimais)
Gorduras*, Hidratos de Carbono*, Açúcares*, Proteínas*, Fibra* e Amido*	≥10 g por 100 g ou ml	ao 1 g mais próximo (sem casas decimais)
	<10 g e > 0,5 g por 100 g ou ml	ao 0,1 g mais próximo
	não estão presentes quantidades detetáveis ou a concentração é ≤ 0,5 g por 100 g ou ml	pode declarar-se «0 g» ou «<0,5 g»
Gorduras Saturadas*, Gorduras Monoinsaturadas* e Gorduras Polinsaturadas*	≥10 g por 100 g ou ml	ao 1 g mais próximo (sem casas decimais)
	<10 e > 0,1 g por 100 g ou ml	ao 0,1 g mais próximo
	não estão presentes quantidades detetáveis ou a concentração é ≤ 0,1 g por 100 g ou ml	pode declarar-se «0 g» ou «<0,1 g»
Sódio	≥1 g por 100 g ou ml	ao 0,1 g mais próximo
	<1 g e > 0,005 g por 100 g ou ml	ao 0,01 g mais próximo
	não estão presentes quantidades detetáveis ou a concentração é ≤ 0,005 g por 100 g ou ml	pode declarar-se «0 g» ou «<0,005 g»
Sal (NaCl)	≥1 g por 100 g ou ml	ao 0,1 g mais próximo
	<1 g e > 0,0125 g por 100 g ou ml	ao 0,01 g mais próximo
	não estão presentes quantidades detetáveis ou a concentração é ≤ 0,0125 g por 100 g ou ml	pode declarar-se «0 g» ou «<0,01 g»
Vitaminas	vitamina A, ácido fólico, cloreto, cálcio, fósforo, magnésio, iodo, potássio	3 algarismos significativos
	Todas as outras vitaminas e minerais	2 algarismos significativos

* Não aplicável a subcategorias

Fonte: Regulamento (UE) nº 1169/2011

3.2.5 Tratamento de Resultados

Os dados obtidos durante o desenvolvimento do trabalho foram inicialmente tratados através de uma análise estatística descritiva em que, para cada parâmetro em estudo, se determinou o máximo, o mínimo, a média aritmética, o desvio padrão e o coeficiente de variação.

Para a avaliação global dos parâmetros analisados anteriormente, recorreu-se a análise de variância em função dos fatores: mês e quinzena, utilizando-se o Teste de Tukey, com o nível de significância de 95% ($p < 0,05$), para comparar as médias dos diferentes grupos de resultados resultantes dos níveis dos fatores considerados (mês e quinzena).

Para a análise da estatística descritiva usou-se o programa Excel e a análise de variância (ANOVA) foi executada com recurso ao programa Statistica 8 (StatSoft).

4. Resultados e Discussão

Para uma melhor interpretação dos resultados obtidos para o leite de vaca cru e para o queijo fresco, recorreu-se a gráficos barras e linhas de tendência para as diferentes variáveis em estudo bem como a tabelas com as médias e desvios padrão, avaliando-se o grau de impacto dos fatores mês e quinzena através da análise variância (ANOVA).

4.1 Caracterização do Leite de Vaca

As determinações do leite foram efetuadas um dia após a conservação sob as condições de refrigeração para os devidos ensaios. Relativamente a avaliação dos parâmetros químicos da composição nutricional do leite cru, matéria-prima usada para fabrico do queijo fresco da Montiqueijo, encontram-se representados sob a forma de tabelas (11 e 12) os resultados dos valores médios e dos desvios padrão dos parâmetros como os respetivos gráficos desses mesmos valores conforme a planificação de amostragem e metodologia estabelecidos nos capítulos 3.1 e 3.2.

Na Tabela 10, resumem-se os resultados genéricos da análise de variância para a composição tendo como fatores a quinzena e o mês. Como se pode verificar, a composição da matéria-prima foi influenciada de forma significativa pelos fatores em estudo. A gordura apresenta uma diferença significativa para ambos os fatores ($P < 0.01$), acabando por influenciar como é de esperar o teor de sólidos totais pois tal como mencionado no enquadramento teórico, a gordura é o componente com mais suscetibilidade para uma maior variação.

Tabela 10: Efeito da Quinzena e do Mês nos parâmetros gordura, proteínas, lactose, sólidos totais e resíduo seco isento de matéria gorda (RSIMG)

	Gordura (g/100g)	Proteína (g/100g)	Lactose (g/100g)	Sólidos totais (g/100g)	RSIMG (g/100g)
Quinzena	**	*	Ns	*	Ns
Mês	**	*	Ns	**	Ns

Nota: ** - $P < 0,01$, * - $P < 0,05$, ns – não significativo

Como se pode verificar na Tabela 11, tanto a lactose como o resíduo seco isento de matéria gorda (RSIMG) não apresentaram diferenças significativas em função da lactação, seja considerado o mês ou a quinzena. Contudo verificou-se que a gordura como a proteína apresentaram diferenças significativas ($P < 0,05$), o mesmo se passando, por consequência, com o teor em sólidos totais pelas razões mencionadas

no enquadramento teórico o que seria de esperar. É relativamente à gordura que se verifica uma maior variabilidade, apesar de as proteínas também terem uma ligeira variabilidade, pois trata-se de um componente do leite que mais varia.

O mês de Março é o que apresenta maior valor médio de teor de gordura, significativamente diferente do obtido para os meses de Abril, Maio, Junho, Julho e Agosto. O mesmo sucede relativamente as proteínas, mas para este parâmetro a amplitude de variação é menor, destacando-se o mês de Março com um teor médio máximo relativamente ao período em estudo e o mês de Agosto, onde se verificou um valor mínimo, significativamente diferente da média de Março.

Tabela 11: Valores médios e desvios padrão mensalmente dos parâmetros físico-químicos ao leite cru usado no fabrico do queijo fresco tradicional

Mês	Gordura (g/100g)	Proteína (g/100g)	Lactose (g/100g)	Sólidos totais (g/100g)	RSIMG (g/100g)
Março	3,59 ^a ± 0,15	3,20 ^a ± 0,04	5,35 ± 0,02	12,84 ^a ± 0,17	9,25 ± 0,06
Abril	3,26 ^{ab} ± 0,22	3,15 ^{ab} ± 0,02	5,36 ± 0,05	12,19 ^b ± 0,40	9,21 ± 0,08
Maio	3,12 ^b ± 0,23	3,15 ^{ab} ± 0,04	5,34 ± 0,05	12,31 ^b ± 0,15	9,19 ± 0,09
Junho	3,10 ^b ± 0,13	3,13 ^{bc} ± 0,04	5,36 ± 0,01	12,30 ^b ± 0,12	9,19 ± 0,05
Julho	2,94 ^b ± 0,06	3,08 ^{bc} ± 0,04	5,33 ± 0,081	12,05 ^b ± 0,17	9,10 ± 0,13
Agosto	2,96 ^b	3,06 ^c	5,23	11,95 ^b	8,99

Nota: em cada coluna, letras diferentes evidenciam diferenças significativas (P<0,05)

No decorrer das 11 quinzenas (Tabela 12), tanto o teor em gordura como o teor em sólidos totais apresentam uma diferença significativa para P <0,05 na 1^o quinzena, correspondendo aos valores médios mais elevados para estes parâmetros, em comparação com as restantes quinzenas.

Tabela 12: Valores médios e desvios padrão quinzenais dos parâmetros físico-químicos ao leite cru usado no fabrico do queijo fresco tradicional

Quinzena	Gordura (g/100g)	Proteína (g/100g)	Lactose (g/100g)	Sólidos totais (g/100g)	HQIMG (g/100g)
1	3,70 ^a ± 0,08	3,22 ± 0,03	5,36 ± 0,00	12,98 ^a ± 0,06	9,28 ± 0,03
2	3,49 ^{ab} ± 0,12	3,18 ± 0,06	5,33 ± 0,02	12,70 ^{ab} ± 0,04	9,21 ± 0,081
3	3,45 ^{abc} ± 0,00	3,14 ± 0,02	5,34 ± 0,09	12,08 ^{ab} ± 0,65	9,18 ± 0,12
4	3,07 ^{de} ± 0,07	3,16 ± 0,02	5,38 ± 0,02	12,30 ^{ab} ± 0,11	9,24 ± 0,05
5	3,31 ^{bcd} ± 0,08	3,11 ± 0,02	5,31 ± 0,02	12,43 ^{ab} ± 0,11	9,12 ± 0,02
6	2,93 ^e ± 0,01	3,18 ± 0,01	5,38 ± 0,01	12,19 ^{ab} ± 0,11	9,26 ± 0,01
7	3,09 ^{cde} ± 0,19	3,11 ± 0,04	5,36 ± 0,02	12,26 ^{ab} ± 0,12	9,17 ± 0,07
8	3,12 ^{cde} ± 0,13	3,16 ± 0,03	5,36 ± 0,00	12,34 ^{ab} ± 0,16	9,22 ± 0,03
9	2,90 ^e ± 0,05	3,08 ± 0,07	5,33 ± 0,14	11,98 ^b ± 0,26	9,09 ± 0,23
10	2,99 ^{de} ± 0,02	3,09 ± 0,02	5,33 ± 0,02	12,11 ^{ab} ± 0,01	9,12 ± 0,01
11	2,96 ^{de}	3,06	5,23	11,95 ^b	8,99

Nota: em cada coluna, letras diferentes evidenciam diferenças significativas (P<0,05)

Pela observação da Figura 8, pode-se verificar que a lactose se mantém constante ao longo dos meses. Aparentemente o mesmo pode ser constatado para a proteína, embora com alguns pontos com diferenças significativas, como se viu com teores mais elevados no primeiro mês avaliado. Quanto á gordura verifica-se o mesmo, apresentando um máximo em Março, com um valor médio de 3,6 g/100g, e um mínimo em Julho, com um teor de 2,9 g/100g.

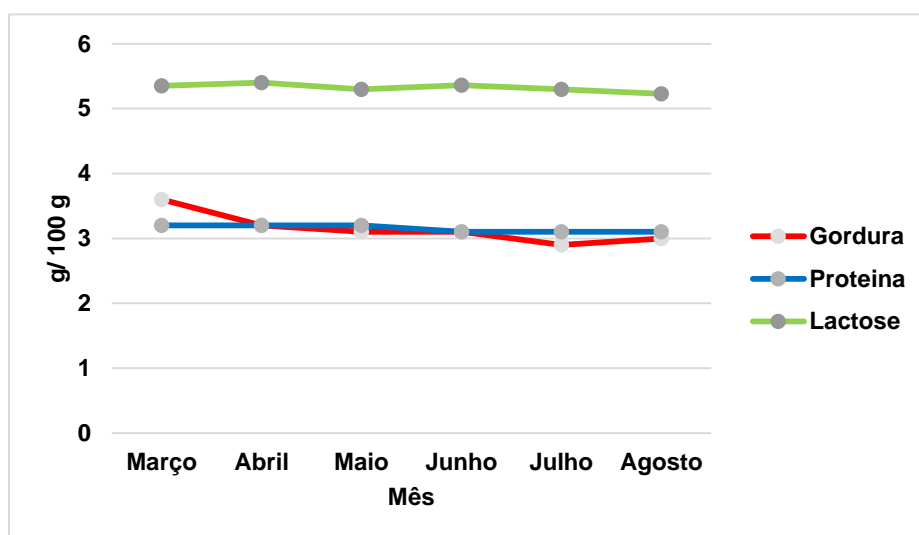


Figura 8: Evolução mensal da gordura, proteína e lactose sólidos totais e do resíduo seco isento de matéria gorda (RSIMG) do leite cru

Uma vez que o teor em gordura apresenta diferenças significativas para o fator mês e esta faz parte da composição dos sólidos totais, é de esperar que este também apresente alguma variabilidade, significativa, como se pode verificar na Figura 8. Os sólidos totais têm um pico máximo para Março, tal como a gordura, com uma média de 12,8 g/100 g e um mínimo para Agosto, com um teor de 11,9 g/100 g. O que também se pode verificar na Figura 8 e 9 é que há uma tendência decrescente tanto do teor em matéria gorda como, em consequência, do teor em sólidos totais; o teor em resíduo seco isento de matéria gorda mantém-se estável, sem diferenças significativas.

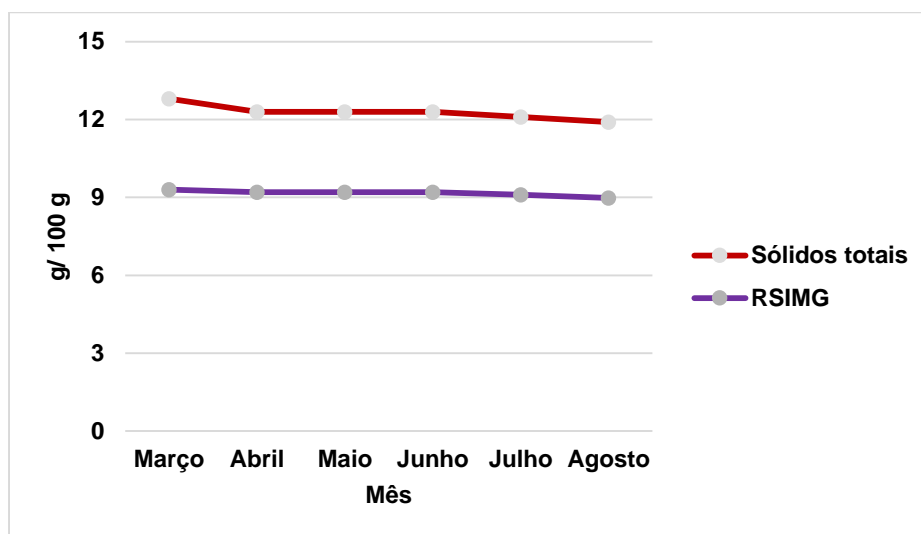


Figura 9: Evolução mensal do teor em sólidos totais e do resíduo seco isento de matéria gorda (RSIMG) do leite cru.

Relativamente ao fator quinzena, verifica-se através da Figura 10 que, tal como acontece no período mensal para a lactose, os valores mantêm-se estáveis ao longo das quinzenas. Quanto à proteína sucede o mesmo que como a lactose, não apresentam diferenças significativas em função da quinzena, mantendo um comportamento quase sem variação ao longo do tempo. O teor em gordura foi significativamente influenciado pela quinzena, podendo notar-se uma tendência decrescente, com um máximo para a 1^o quinzena do mês de Março, com um valor de 3,7 g/100 g, e um mínimo de 2,9 g/100 g para a 6^o quinzena, no mês de Maio.

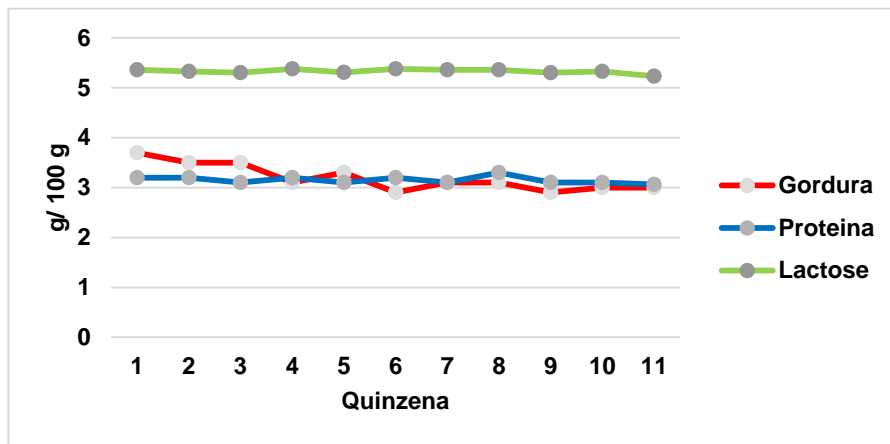


Figura 10: Evolução quinzenal da gordura, proteína e lactose do leite cru

Quanto aos sólidos totais, como se pode verificar na Figura 11, acompanham a tendência do teor em gordura; dado que a gordura apresenta diferenças significativas em função da quinzena este parâmetro também as regista pois, tal como referido no enquadramento teórico, os componentes que constituem os sólidos totais são todos aqueles que compõem o leite exceto a água e destes a maior variabilidade está associada ao teor em gordura. O teor em resíduo seco isento de matéria gorda, representando os componentes de variação mais limitada no leite, mantém-se quase constante ao longo do tempo, em função da quinzena.

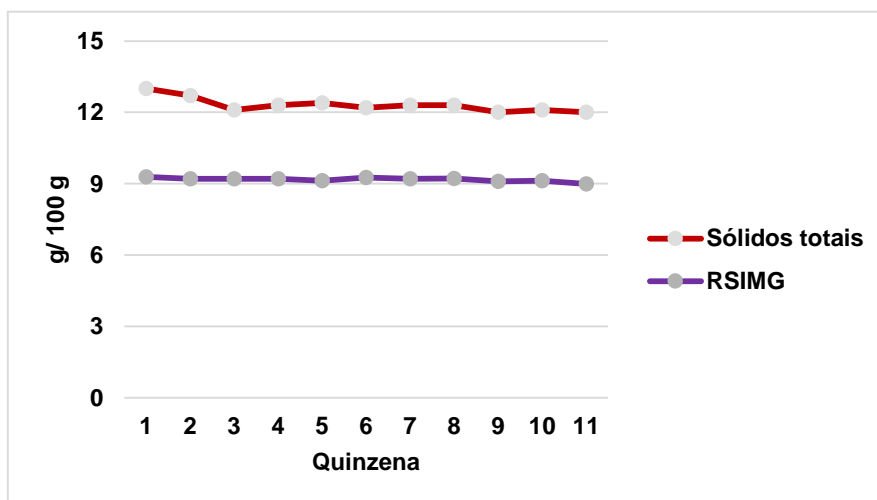


Figura 11: Evolução quinzenal dos sólidos totais e do resíduo seco isento de matéria gorda (RSIMG) do leite cru

4.2 Caracterização do Queijo Fresco

Os parâmetros avaliados no queijo fresco produzido pela Montiqueijo, segundo a planificação de amostragem descritos no capítulo 3.1 e as metodologias mencionadas no capítulo 3.2, encontram-se representados nas tabelas seguintes e graficamente nas figuras que se seguem, nas quais se podem verificar os valores médios e os respetivos desvios padrão referentes a cada parâmetro avaliado. Recorde-se que as determinações foram efetuadas sobre as amostras após 3 dias de conservação sob condições de refrigeração, para estabilização de composição para ensaio de fabrico.

As Tabelas 13 e 14 resumem a composição genérica do queijo fresco, em função do mês e da quinzena em que foi produzido, mostrando resultados típicos de queijo fresco, com elevados teores de humidade e teores de resíduo seco da ordem dos 30%, os quais determinam teores em matéria gorda e proteína também baixos quando comparados com queijo curado.

Os teores em humidade, supondo o queijo isento de matéria gorda, utilizados para classificar o queijo quanto à consistência, revelam valores muito elevados; para queijo curado, um queijo classifica-se de pasta mole quando este parâmetro revela valores entre 61% e 69%.

Tabela 13: Valores médios mensais e respetivos desvios padrão para os parâmetros da composição do queijo fresco tradicional (em 100g de produto).

Mês	RS g/100g	H g/100g	MG g/100g	RSIMG g/100g	PB g/100g	Cinza g/100g	Hid. Carbono g/100g	Cloretos g NaCl/100g	Valor calórico (Kcal/100 g)	pH
Março	28,79 ^b ± 1,67	71,21 ^a ± 1,67	13,21 ± 1,08	82,05 ^a ± 1,56	11,05 ^b ± 0,81	1,90 ^b ± 0,06	2,63 ± 1,09	0,71 ± 0,06	173,65 ^b ± 10,82	6,48 ^b ± 0,05
Abril	29,97 ^b ± 1,08	70,03 ^a ± 1,08	12,71 ± 1,32	80,24 ^a ± 0,57	11,84 ^b ± 1,24	1,92 ^b ± 0,09	3,49 ± 1,55	0,74 ± 0,03	175,77 ^b ± 10,75	6,46 ^b ± 0,03
Mai	30,51 ^b ± 2,55	69,49 ^a ± 2,55	12,80 ± 0,57	79,68 ^a ± 2,58	11,90 ^b ± 0,79	1,99 ^b ± 0,06	3,81 ± 2,71	0,61 ± 0,08	178,07 ^{a,b} ± 12,59	6,47 ^b ± 0,06
Junho	28,42 ^b ± 2,08	71,58 ^a ± 2,08	12,64 ± 1,95	81,95 ^a ± 2,02	10,63 ^b ± 0,89	1,82 ^b ± 0,27	3,33 ± 1,64	0,71 ± 0,15	169,62 ^b ± 15,46	6,57 ^a ± 0,04
Julho	34,46 ^a ± 2,27	65,54 ^b ± 2,27	13,75 ± 0,83	76,00 ^b ± 2,67	13,03 ^a ± 2,25	2,09 ^a ± 0,08	5,59 ± 4,43	0,87 ± 0,26	198,21 ^a ± 10,53	6,49 ^{a,b} ± 0,02
Agosto	28,03 ^b	71,97 ^a	12,5	82,25 ^a	10,72 ^b	1,95 ^b	2,85	0,88	166,82 ^b	6,57 ^b

Nota: em cada coluna, letras diferentes exprimem diferenças significativas (P<0,05)

Tabela 14: Valores médios quinzenais e respetivos desvios padrão da composição do queijo fresco tradicional (em 100g de produto).

Quinzena	RS g/100g	H g/100g	MG g/100g	RSIMG g/100g	PB g/100g	Cinza g/100g	Hid. Carbono g/100g	Cloretos g NaCl/100g	Valor calórico (Kcal/100 g)	pH
mar/01	29,60 ^{bcd} ± 1,53	70,40 ^{bcd} ± 1,53	13,56 ^a ± 1,05	81,44 ^{abc} ± 1,03	10,84 ^b ± 0,74	1,89 ^{ab} ± 0,03	3,31 ^{bc} ± 0,27	0,74 ^b ± 0,02	178,68 ^{cd} ± 11,08	6,49 ^{bc} ± 0,07
mar/02	27,72 ^{de} ± 1,34	72,28 ^{bc} ± 1,34	12,75 ^{ab} ± 1,15	82,86 ^a ± 2,01	11,32 ^b ± 0,99	1,92 ^{ab} ± 0,10	1,72 ^c ± 1,12	0,67 ^a ± 0,07	166,94 ^{bd} ± 6,98	6,46 ^{bc} ± 0,03
abr/03	30,51 ^{bcd} ± 1,14	69,49 ^{cde} ± 1,34	13,50 ^a ± 1,21	80,33 ^{abc} ± 0,52	12,27 ^b ± 1,14	1,89 ^{ab} ± 0,10	2,85 ^{bc} ± 0,77	0,73 ^b ± 0,04	181,99 ^{cd} ± 10,46	6,44 ^c ± 0,01
abr/04	29,24 ^{bcd} ± 0,38	70,76 ^{bcd} ± 0,38	11,67 ^{ab} ± 0,38	80,11 ^{abc} ± 0,72	11,27 ^b ± 1,35	1,95 ^{ab} ± 0,05	4,34 ^{bc} ± 2,09	0,74 ^b ± 0,00	167,46 ^{bd} ± 1,15	6,48 ^{bc} ± 0,01
mai/05	32,91 ^{abc} ± 0,83	67,09 ^{cde} ± 0,83	13,00 ^{ab} ± 0,00	77,12 ^{bd} ± 0,96	11,38 ^b ± 0,01	1,95 ^{ab} ± 0,03	6,57 ^{ab} ± 0,88	0,69 ^b ± 0,04	188,81 ^{acd} ± 3,47	6,41 ^c ± 0,00
mai/06	28,91 ^{cde} ± 1,75	71,09 ^{bcd} ± 1,75	12,67 ^{ab} ± 0,76	81,39 ^{abc} ± 1,37	12,25 ^b ± 0,89	2,02 ^{ab} ± 0,07	1,97 ^c ± 1,25	0,57 ^b ± 0,05	170,91 ^{bcd} ± 10,91	6,51 ^{abc} ± 0,02
jun/07	29,78 ^{bcd} ± 1,53	70,22 ^{bcd} ± 1,53	14,00 ^a ± 1,29	81,67 ^{ac} ± 2,56	10,88 ^b ± 1,10	1,94 ^{ab} ± 0,01	2,97 ^{bc} ± 1,47	0,66 ^b ± 0,15	181,38 ^{cd} ± 6,74	6,54 ^{ab} ± 0,03
jun/08	26,60 ^e ± 0,89	73,40 ^b ± 0,89	10,83 ^b ± 0,52	82,32 ^a ± 1,42	10,30 ^b ± 0,55	1,66 ^b ± 0,39	3,81 ^{bc} ± 2,05	0,77 ^b ± 0,14	153,93 ^b ± 1,65	6,60 ^a ± 0,02
jul/09	32,55 ^b ± 1,23	67,45 ^{cde} ± 1,23	13,88 ^a ± 1,16	78,32 ^{bc} ± 1,02	15,06 ^a ± 0,25	2,11 ^a ± 0,10	1,50 ^c ± 0,81	0,64 ^a ± 0,06	191,14 ^{bc} ± 10,19	6,49 ^{bc} ± 0,02
jul/10	36,36 ^a ± 0,92	63,64 ^a ± 0,92	13,63 ^a ± 1,48	73,68 ^d ± 1,11	11,00 ^b ± 0,88	2,07 ^a ± 0,07	9,67 ^a ± 0,08	1,11 ^a ± 0,05	205,28 ^a ± 4,64	6,50 ^{bc} ± 0,02
ago/11	28,03 ^{bcd}	71,97 ^{bcd}	12,5 ^{ab}	82,25 ^{abc}	10,72 ^b	1,95 ^{ab}	2,85 ^{bc}	0,88 ^{ab}	166,82 ^{bcd}	6,57 ^{ab}

Nota: em cada coluna, letras diferentes exprimem diferenças significativas (P<0,05)

A variação dos resultados está representada pelos desvios-padrão e pode observar-se, através dos índices que acompanham as médias, que se verificam diferenças significativas (P <0,05) entre os teores nos diferentes componentes, em função quer do mês quer da quinzena de produção do queijo, de acordo com a análise de variância efetuada para avaliação dos respetivos efeitos (Tabela 15).

Tabela 15: Efeito da Quinzena e do Mês nos parâmetros de composição e de rotulagem do queijo fresco tradicional

	RS g/100g	H g/100g	MG g/100g	RSIMG g/100g	PB g/100g	Cinza g/100g	Hid. Carbono g/100g	Cloretos g NaCl/100g	Valor calórico (Kcal/100 g)	pH
Mês	**	**	ns	**	*	*	ns	Ns	**	**
Quinzena	**	**	**	**	**	*	**	**	**	**

Nota: em cada coluna, letras diferentes exprimem diferenças significativas (P<0,05)

As diferenças e a variabilidade de resultados são factos comuns pois existem muitos fatores suscetíveis de influenciar a composição e características do queijo, como se apontou na introdução teórica. No entanto, na observação dos quadros de resultados apresentados, destaca-se quase sempre o mês de Julho, sobretudo por um resultado relativo ao teor de proteína que se destaca muito dos níveis relativos aos restantes meses/quinzenas, e que acaba por influenciar os outros parâmetros expressos de forma percentual. Não se encontra justificação para este resultado muito diferente dos outros,

por exemplo no que se refere à eventual influência da composição do leite, pelo que se atribui esta diferença a um possível erro experimental.

Dado que o objetivo central do trabalho efetuado é o estudo da adequação da rotulagem às características do queijo fresco e à avaliação do enquadramento da variabilidade desses parâmetros na regulamentação em vigor, a análise desta variabilidade será agora limitada a um menor número de parâmetros analíticos, aqueles que estão abrangidos pela rotulagem dos produtos da empresa.

Relativamente ao teor em matéria gorda, pode verificar-se graficamente (Figura 12), que apesar de apresentar uma ligeira variação respeitante ao valor indicado na rotulagem nutricional do queijo, este encontra-se dentro valores limites (inferior e superior) de tolerância legais que se aplicam ao teor em matéria gorda determinados segundo o Regulamento (UE) nº 1169/2011. Podemos também comprovar através da Tabela 13 que o mês não afetou significativamente teor de gordura ($P < 0,05$).

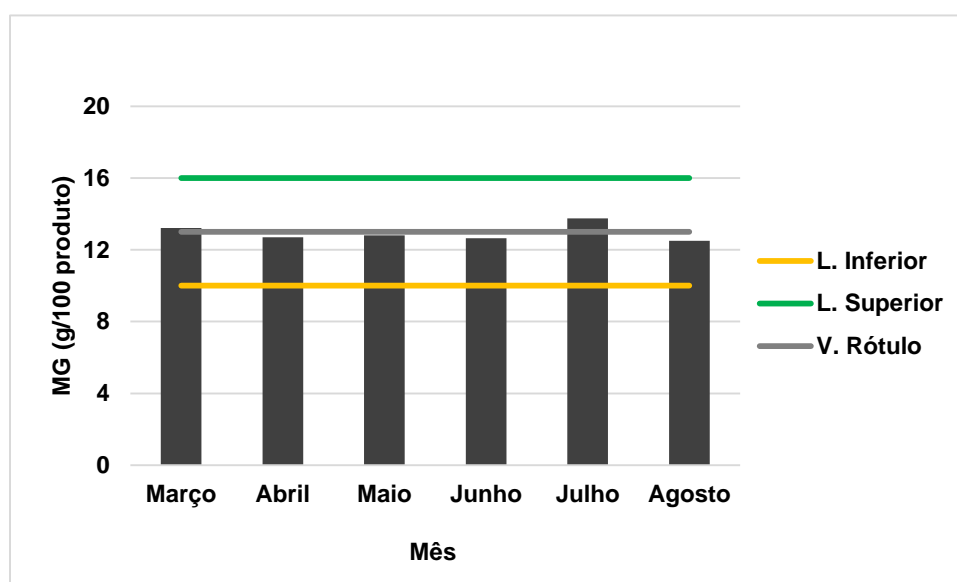


Figura 12: Variação média mensal do teor de matéria gorda do queijo fresco tradicional

Apesar de na Figura 13 referente ao gráfico do teor em matéria gorda em função da quinzena verificarmos que os teores de gordura se encontram dentro dos limites (inferior e superior) de Tolerância do Regulamento (UE) nº 1169/2011, observamos um valor muito inferior da matéria gorda na quinzena 8, que difere significativamente ($P < 0,05$) das quinzenas 1, 3, 7, 9 e 10 (Tabela 14).

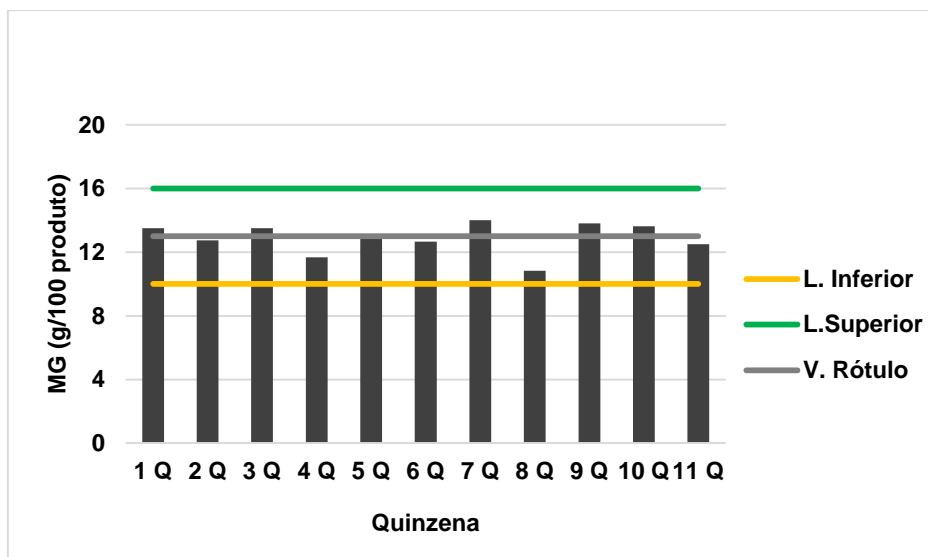


Figura 13: Variação média quinzenal do teor de matéria gorda do queijo fresco tradicional

Quanto ao teor do queijo em proteína, graficamente (Figura 14) pode verificar-se a existência de alguma diferença de teor proteico entre os respectivos meses, principalmente no mês de Julho onde se verifica uma diferença acentuada em comparação aos restantes meses, ultrapassando cerca de 0,03% do valor limite superior de tolerância no que respeita ao Regulamento nº1169/2011 referente á fixação das tolerâncias aplicáveis aos nutrientes declarados no rótulo.

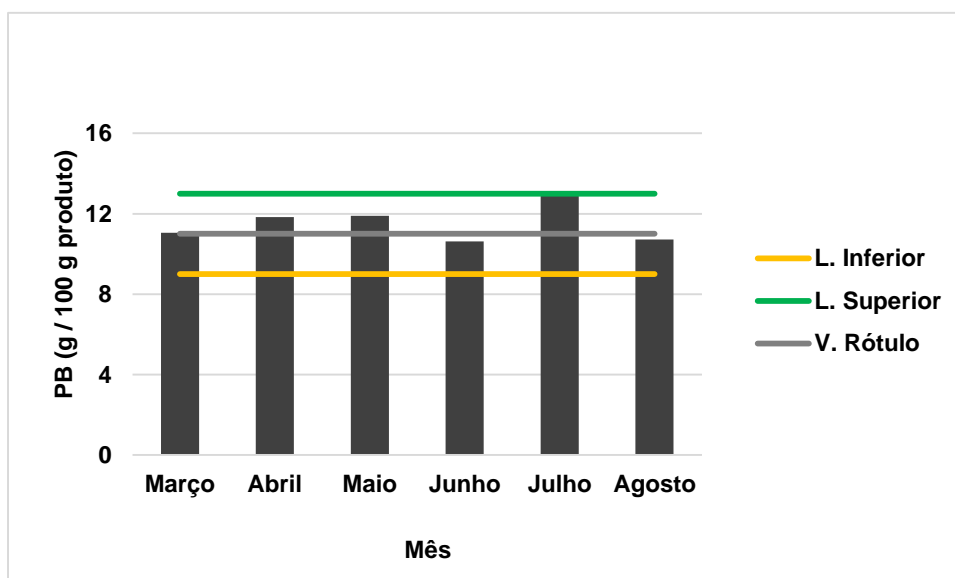


Figura 14: Variação média mensal do teor de proteínas do queijo fresco tradicional

O mesmo efeito acontece na evolução do teor de proteínas a nível quinzenal (Figura 15), principalmente na 9Q que veio mais uma vez evidenciar a diferença de teor de proteínas do mês de Julho em comparação com os restantes meses, ultrapassando em cerca de 2% o limite superior de tolerância, valor este determinado segundo o Regulamento nº1169/2011 no capítulo 3.2.4. Estatisticamente pode-se verificar na Tabela 15, referente aos valores médios que tanto mensal (Julho) como quinzenal (9Q) existem diferenças significativas para $P < 0,05$.

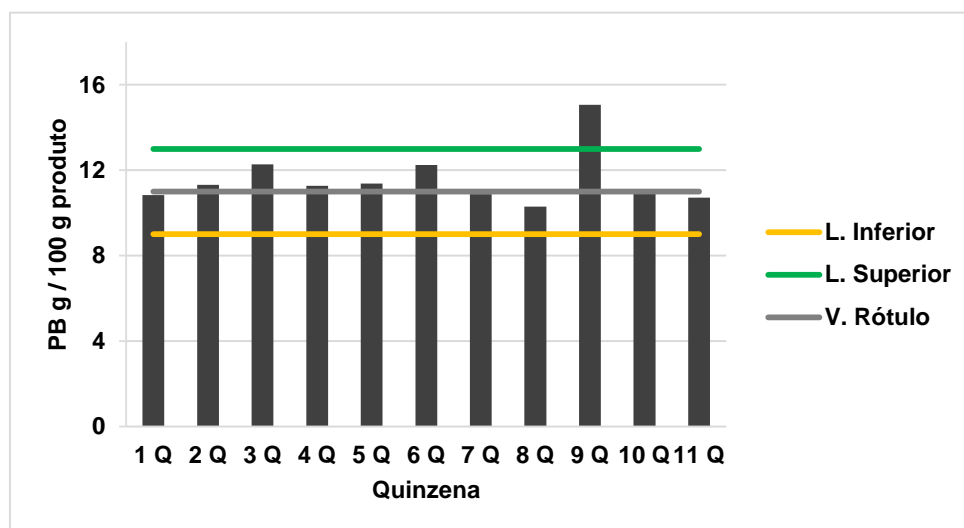


Figura 15: Variação média do teor de proteínas quinzenalmente do queijo fresco tradicional

Como já foi referido anteriormente, considera-se este valor de teor proteico muito elevado como erro experimental. Em alternativa à hipótese de erro experimental, esta diferença significativa relativamente ao RS, à H e ao teor em PB/RS poderia ter ocorrido por via de um dessoramento mais acentuado, dado o valor mais elevado de RS e mais baixo de H. Como podemos verificar, nas Tabelas 13 e 14, os valores médios na 9Q são os mais elevados a nível do RS e PB/RS (Tabela 13, 14 e 16) e os mais baixos a nível de humidade, apresentando diferenças estatisticamente significativas ($P < 0,01$). Tendo em conta que caso os resultados não se apresentassem coerentes relativamente ao teor de humidade em relação ao teor de sólidos, um dessoramento mais acentuado seria uma justificação para esta relação (menor teor de humidade e maior teor em sólidos).

Tabela 16: Valores médios e desvio padrão da composição do queijo fresco tradicional em 100g de R.S quinzenalmente

Quinzena	MG g/100gRS	PB g/100gRS	Cinza g/100gRS	Hidratos Carbono g/100gRS	Cloretos (NaCl) g/100gRS
mar/01	45,78 ^a ± 1,93	36,60 ^{ac} ± 0,91	6,39 ± 0,40	11,23 ^{bc} ± 1,26	2,50 ^{abcd} ± 0,20
mar/02	46,09 ^a ± 5,08	40,81 ^{ab} ± 1,63	6,93 ± 0,13	6,17 ^c ± 4,06	2,41 ^{abcd} ± 0,28
abr/03	44,19 ^{ab} ± 2,44	40,28 ^{ab} ± 4,34	6,20 ± 0,44	9,33 ^{bc} ± 2,30	2,40 ^{bcd} ± 0,19
abr/04	39,92 ^{ab} ± 1,73	38,59 ^b ± 5,05	6,69 ± 0,24	14,81 ^{bc} ± 7,02	2,55 ^{abcd} ± 0,03
mai/05	39,52 ^{ab} ± 1,00	34,60 ^{ac} ± 0,92	5,93 ± 0,25	19,95 ^{ab} ± 2,17	2,08 ^{cd} ± 0,07
mai/06	43,82 ^{ab} ± 1,00	42,43 ^{ab} ± 3,06	7,00 ± 0,63	6,75 ^c ± 4,19	1,95 ^d ± 0,07
jun/07	47,17 ^a ± 5,80	36,46 ^{ac} ± 1,93	6,51 ± 0,34	9,85 ^{bc} ± 4,64	2,20 ^{cd} ± 0,44
jun/08	40,80 ^{ab} ± 3,19	38,77 ^{ab} ± 3,10	6,24 ± 1,46	14,19 ^{bc} ± 7,28	2,88 ^{ab} ± 0,43
jul/09	42,60 ^{ab} ± 2,75	46,33 ^a ± 1,94	6,48 ± 0,51	4,58 ^c ± 2,37	1,95 ^d ± 0,15
jul/10	37,49 ^b ± 1,57	39,25 ^c ± 2,37	5,91 ± 0,25	26,56 ^a ± 1,98	3,05 ^a ± 0,07
ago/11	44,58 ^{ab}	38,26 ^{abc}	6,97	10,2 ^{bc}	3,13 ^{abc}

Nota: em cada coluna, letras diferentes significam diferenças significativas (P<0,05)

Quanto aos teores de hidratos de carbono, pode verificar-se na Figura 16 que os valores médios deste parâmetro se encontram dentro dos limites (inferior e superior) de tolerância segundo o Regulamento (UE) nº1169/2011, apesar de apresentarem algumas variações e de o mês de Julho apresentar um valor de 5,59 %, próximo do limite superior (5,8%).

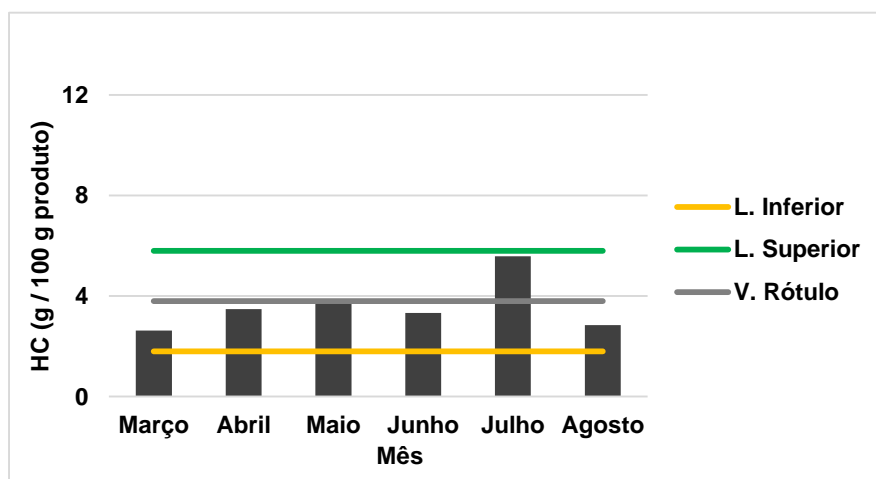


Figura 16: Variação média do teor de hidratos de carbono mensalmente do queijo fresco tradicional

Estatisticamente, pela Tabela 13, verifica-se que apesar da variabilidade registada, os valores médios do teor de hidratos de carbono mensalmente não apresentam diferenças significativas ($P < 0,05$).

Relativamente aos teores médios quinzenais de hidratos de carbono pode verificar-se que já as variações são mais acentuadas e diferenciadas entre quinzenas (Figura 17). No que respeita à quinzena 2 e 9 temos os valores médios mais baixos, de 1,79% e 1,50%, respetivamente, o que significa que estão abaixo do limite inferior de tolerância segundo o Regulamento nº1169/2011 com valor de 1,8%. Por outro lado, há um pico excessivo de teor de hidratos de carbono para a quinzena 10, com um valor de 9,67%, o que significa que ultrapassa excessivamente o valor limite superior de tolerância de 5,8%. Há ainda uma outra quinzena que ultrapassa o limite superior de tolerância, mas este apresenta um ligeiro aumento de 0,77%.

Estatisticamente não há diferenças significativas ($p < 0,05$) por efeito do mês para os hidratos de carbono (Tabela 13). No entanto, a nível quinzenal, existem diferenças significativas entre quinzenas, destacando-se as quinzenas 2, 5, 6, 9, 10 e 11 (Tabela 14). Estas diferenças vêm comprovar as variações existentes principalmente nestas quinzenas. Tais variações podem dever-se à metodologia adotada para a determinação dos hidratos de carbono, por cálculo da diferença para 100 do somatório dos grupos de composição/nutrientes principais, existindo a probabilidade de acumulação de erros experimentais.

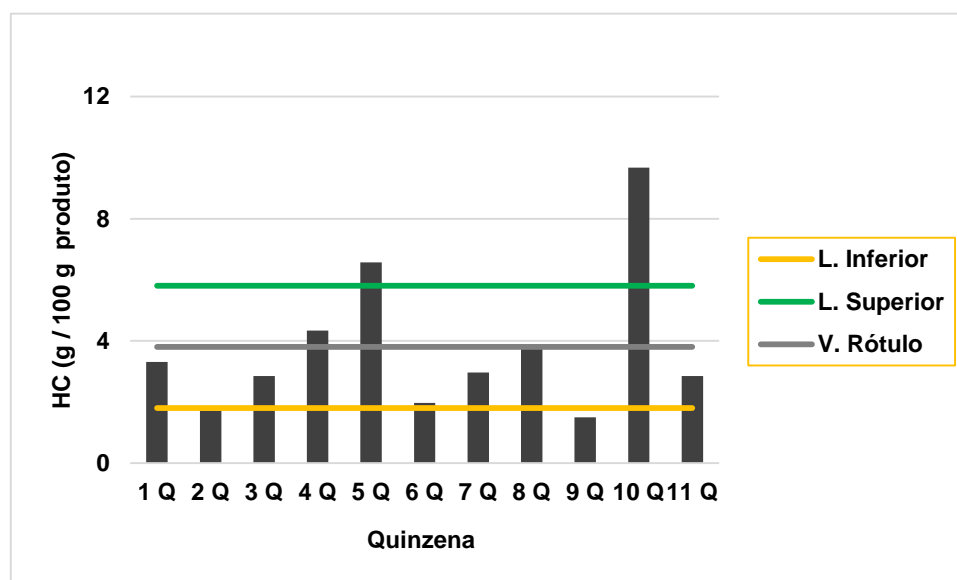


Figura 17: Variação média do teor de hidratos de carbono quinzenalmente do queijo fresco tradicional

Como se pode verificar através da Figura 18, os teores médios mensais de cloretos expressos em NaCl, os teores em sal, encontram-se dentro dos limites de tolerância. Os meses de Março a Junho apresentam valores abaixo do indicado na rotulagem nutricional do queijo.

Estatisticamente, a composição do queijo a nível de cloretos expressos em NaCl para 100 g de produto ou por 100 g de RS não expressa diferenças significativas por efeito do mês.

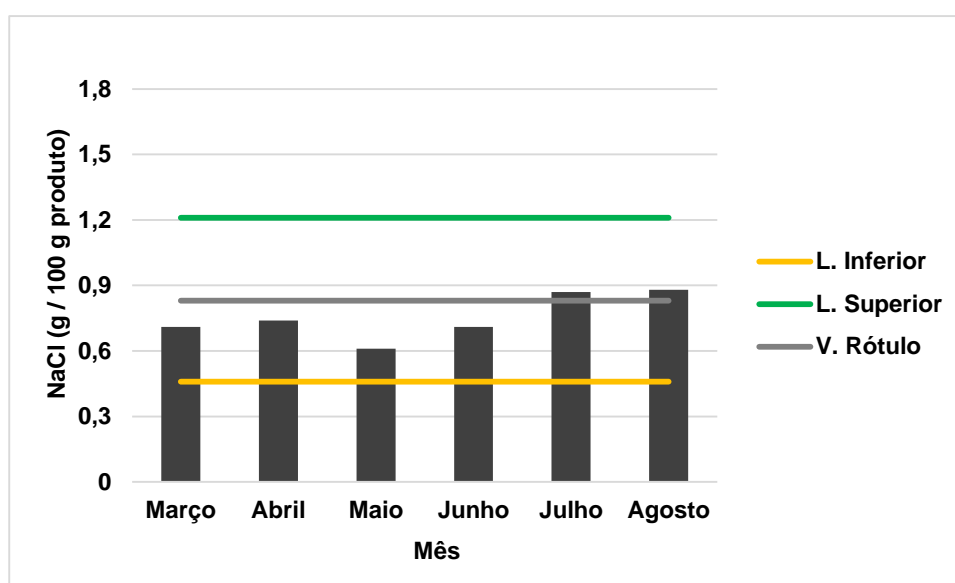


Figura 18: Variação da média mensal do teor de cloretos expressos em NaCl do queijo fresco tradicional

O mesmo se verifica para as respetivas quinzenas (Figura 19). Todas elas se encontram dentro dos limites de tolerância (inferior e superior), verificando-se apenas na quinzena 10 um valor superior ao indicado na rotulagem nutricional, com 1,11%.

Contudo, estatisticamente, os valores médios dos cloretos apresentam diferenças significativas entre a quinzena 10 e as restantes para g NaCl/100g produto. Mas também existem diferenças significativas relativamente ao seu teor por 100g RS (Tabela 16).

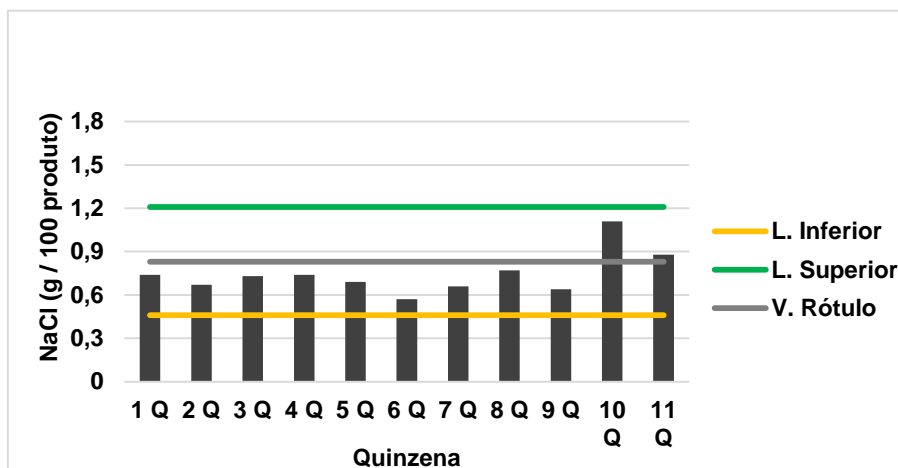


Figura 19: Variação da média quinzenal do teor de cloretos expressos em NaCl do queijo fresco tradicional

No que se refere aos ácidos gordos saturados (SFA), o queijo apresenta ligeira variação entre meses, mas os valores médios encontram-se dentro dos limites de tolerância (inferior e superior) apesar de se verificarem alguns valores médios abaixo do estipulado no rótulo nutricional (Figura 20).

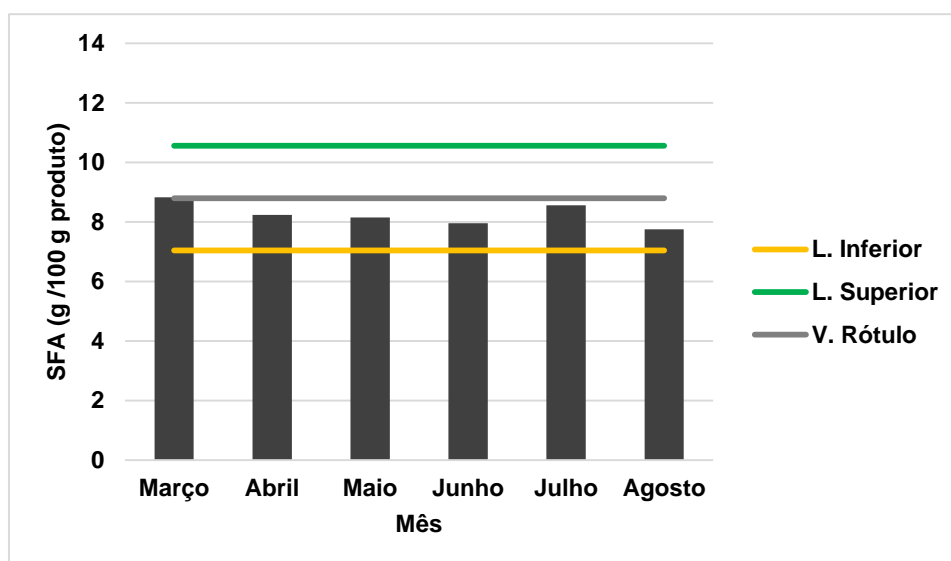


Figura 20: Variação da média mensal do teor de ácidos gordos saturados (SFA) do queijo fresco tradicional

O teor em ácidos gordos saturados, que constitui a única fração da matéria gorda que está representada na rotulagem nutricional, não apresenta diferenças significativas em função do mês. O conjunto dos ácidos gordos ainda possibilita a avaliação de outros grupos, os ácidos gordos insaturados (UFA) que incluem os ácidos gordos mono e

polinsaturados (MUFA e PUFA, respetivamente), grupos que, como se pode comprovar pela Tabela 17, revelam algumas diferenças significativas em função do mês.

Tabela 17: Valores médios e desvio padrão dos ácidos gordos saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA), polinsaturados (PUFA) e insaturados (UFA) do queijo fresco tradicional

Mês	SFA g /100g	MUFA g /100g	PUFA g /100g	UFA g /100g
Março	8,83 ± 0,82	3,17 ^b ± 0,27	0,40 ^{ab} ± 0,05	3,57 ^b ± 0,31
Abril	8,24 ± 0,92	3,31 ^{ab} ± 0,31	0,40 ^{ab} ± 0,06	3,71 ^{ab} ± 0,35
Maió	8,15 ± 0,18	3,51 ^{ab} ± 0,39	0,36 ^b ± 0,04	3,87 ^{ab} ± 0,42
Junho	7,96 ± 1,30	3,51 ^{ab} ± 0,49	0,41 ^{ab} ± 0,07	3,92 ^{ab} ± 0,56
Julho	8,56 ± 0,55	3,87 ^a ± 0,34	0,48 ^a ± 0,04	4,34 ^a ± 0,36
Agosto	7,75	3,60 ^{ab}	0,44 ^{ab}	4,04 ^{ab}

Nota: em cada coluna, letras diferentes significam diferenças significativas (P<0,05)

Quanto a avaliação das médias quinzenais dos ácidos gordos saturados (Figura 20) pode verificar-se que, apesar de, no geral, os valores se encontrarem dentro dos limites de tolerância (inferior = 7,04 g e superior = 10,56g), existe uma quinzena (8 Q) em que se encontram abaixo do limite inferior, correspondendo ao valor de 6,75 g/100g. Existe também alguma variação estatisticamente significativa entre quinzenas, como se pode verificar na Tabela 18, onde se verificam diferenças significativas essencialmente entre as quinzenas 1, 3, 7, 9 e 10 face à quinzena 8, aquela que possui valor médio abaixo do limite de tolerância inferior.

Estas variações podem dever-se essencialmente a alimentação dos animais uma vez que é este o fator que se encontra mais relacionado com as alterações a nível da composição da matéria gorda. Este aspeto não foi analisado, mas é pouco provável uma variação de dieta dos animais no que se refere a apenas uma quinzena. No geral, a relação entre grupos de ácidos gordos apresentou-se de acordo com a vasta bibliografia disponível.

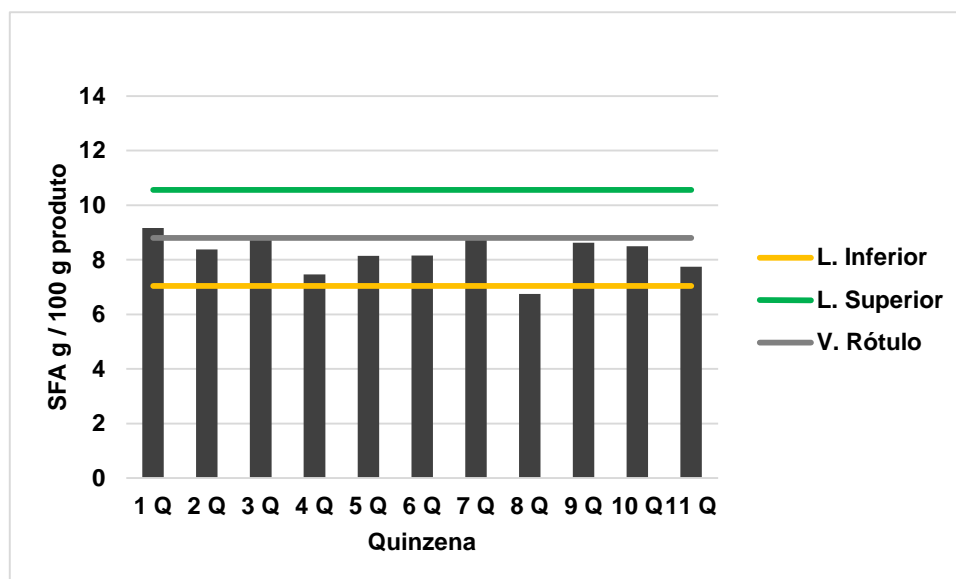


Figura 21: Variação da média quinzenal do teor de ácidos gordos saturados (SFA) do queijo fresco tradicional

Tabela 18: Valores médios e desvio padrão dos ácidos gordos saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA), polinsaturados (PUFA) e insaturados (UFA)

Quinzena	SFA g /100g	MUFA g /100g	PUFA g /100g	UFA g /100g
mar/01	9,17 ^a ± 0,82	3,16 ± 0,24	0,41 ^{ab} ± 0,05	3,57 ± 0,28
mar/02	8,38 ^{ab} ± 0,68	3,19 ± 0,36	0,39 ^{ab} ± 0,05	3,57 ± 0,40
abr/03	8,81 ^a ± 0,78	3,46 ± 0,32	0,43 ^{ab} ± 0,04	3,89 ± 0,34
abr/04	7,46 ^{ab} ± 0,18	3,11 ± 0,15	0,36 ^b ± 0,04	3,46 ± 0,19
mai/05	8,15 ^{ab} ± 0,09	3,68 ± 0,02	0,40 ^{ab} ± 0,01	4,08 ± 0,03
mai/06	8,16 ^{ab} ± 0,25	3,39 ± 0,50	0,34 ^b ± 0,04	3,73 ± 0,52
jun/07	8,87 ^a ± 0,89	3,83 ± 0,38	0,45 ^{ab} ± 0,07	4,28 ± 0,44
jun/08	6,75 ^b ± 0,29	3,08 ± 0,17	0,35 ^b ± 0,04	3,44 ± 0,20
jul/09	8,63 ^a ± 0,81	3,90 ± 0,43	0,49 ^a ± 0,04	4,39 ± 0,47
jul/10	8,50 ^a ± 0,24	3,83 ± 0,27	0,46 ^{ab} ± 0,03	4,29 ± 0,29
ago/11	7,75 ^{ab}	3,60	0,44 ^{ab}	4,04

Nota: em cada coluna, letras diferentes significam diferenças significativas (P<0,05)

O Regulamento nº1169/2011 não abrange valores limites de tolerância para o valor calórico dos produtos e, portanto, este parâmetro, dependente dos teores dos componentes principais do queijo fresco, não se pode avaliar do mesmo modo que os elementos de rotulagem já analisados. Assim, a forma encontrada para fazer uma avaliação a este parâmetro foi a utilização do valor indicado na rotulagem. A partir da

Figura 22 pode verificar-se que, exceto no mês de Julho, os restantes meses não se encontram muito longe do valor indicado no rótulo.

O mês de Julho apresenta, na verdade, um valor calórico médio superior a 176 Kcal/100g. Dado que, como referido anteriormente, este parâmetro depende dos componentes principais, o seu valor é mais elevado por via de alguns dos seus componentes, como os teores em proteína e em açúcares, os quais neste mês revelaram também os níveis mais elevados.

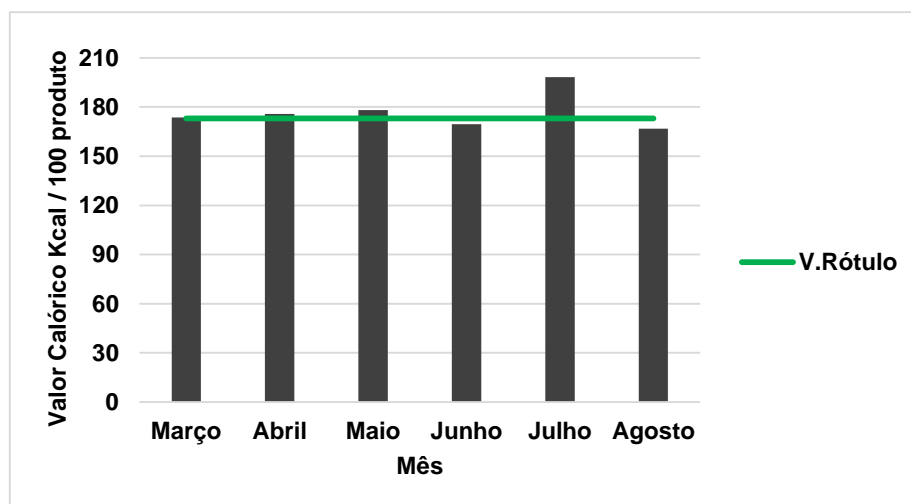


Figura 22: Valores médios e desvios padrão do valor calórico do queijo fresco tradicional mensalmente

A partir da figura 22 pode-se verificar que existem variações mais visíveis no valor calórico entre quinzenas sendo que nenhum valor é igual ao valor indicado no rótulo do queijo fresco.

Como se pode verificar nas tabelas 13 e 14, verificam-se diferenças significativas no valor calórico do queijo tanto em função do mês como em função da quinzena. A média de todos os resultados situou-se em 179 Kcal/100g, muito próxima do valor constante da rotulagem deste tipo de queijo, com um valor de desvio padrão de cerca

de 15 Kcal/g, representando uma variação de 8,7% em torno da média obtida. Se considerarmos os limites inferior e superior obtidos a partir dos intervalos de variação das médias mensais, encontramos um desvio de, respetivamente, 12,4% e 18,6% relativamente ao valor da rotulagem, os quais não são muito diferentes de algumas das tolerâncias apontadas na regulamentação já referida.

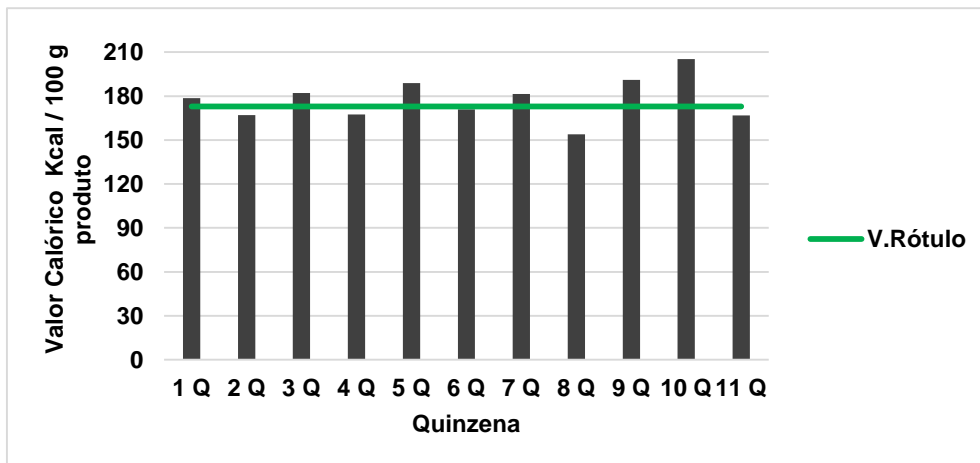


Figura 23: Valores médios e desvios padrão do valor calórico do queijo fresco tradicional quinzenalmente

Mais uma vez se salienta o facto de este parâmetro depender de outros componentes para a sua determinação e, portanto, poder revelar influência da generalidade na composição do queijo.

5. Conclusões e Trabalhos Futuros

Finalizado este trabalho, para fins de adequação da rotulagem nutricional de um produto, queijo fresco tradicional da Montiqueijo, e com o objetivo de avaliar a variabilidade dos componentes principais abrangidos no rótulo face à regulamentação em vigor, mencionada no enquadramento teórico, verificou-se que, na generalidade, os parâmetros avaliados se encontram dentro dos limites de tolerância (LIT e LST) regulamentares para a rotulagem, os quais se mantiveram próximos dos valores estipulados no rótulo do produto, apesar de se verificarem ligeiras variações.

Contudo existem exceções como o caso do teor em proteína no queijo, para o qual se verificou que referente ao mês de Julho e uma das quinzenas do mesmo mês (9Q) ultrapassou o valor limite superior de tolerância e tendo diferenças significativas em relação aos restantes meses e quinzenas. Atribuiu-se esta variabilidade a um erro experimental; uma outra alternativa, de cariz tecnológico, que pode explicar estas diferenças é a possibilidade de ter havido um dessoramento mais acentuado nestes casos pontuais, uma vez que se verificou um valor mais elevado de resíduo seco e um baixo valor de humidade, em ambos os casos com diferenças significativas.

Para além do teor em proteína, os teores em hidratos de carbono também apresentaram alguma variabilidade nos seus valores e com diferenças significativas ao longo do tempo. A variabilidade encontrada neste parâmetro deve-se muito provavelmente ao facto de a metodologia aplicada na sua determinação ser a base de cálculos por diferença de 100 pelo somatório dos principais constituintes do queijo fresco, dando lugar a uma eventual acumulação de erros provenientes das determinações dos restantes componentes, nomeadamente nos eventuais erros experimentais já apontados como prováveis.

No que respeita à variabilidade avaliada quinzenalmente no teor em ácidos gordos saturados (SFA), verificou-se a existência de diferenças significativas essencialmente na quinzena (8Q), para o qual se encontra um valor abaixo do limite inferior de tolerância (LIF) estipulado segundo o Regulamento (UE) nº1169/2011, cuja hipótese mais comum de justificação estaria ligada à alimentação animal o que, no entanto, será pouco provável para justificar o valor apenas numa quinzena. Contudo que este aspeto não foi estudado.

O Regulamento (UE) nº1169/2011 não abrange o valor calórico do queijo, no que se refere a limites de tolerância. A sua avaliação e determinação depende dos valores dos teores dos principais constituintes do queijo fresco. O facto do queijo referente ao mês de Julho apresentar o valor calórico mais elevado, advém do que anteriormente se referiu, dependendo dos principais componentes do queijo. Este valor ultrapassou o valor estipulado na rotulagem uma vez que referente a este mês também os teores em proteínas como em hidratos de carbono apresentaram valores elevados.

Para além de que, quinzenalmente, os valores calóricos apresentarem variações e diferenças significativas, não havendo nenhuma quinzena que vá ao encontro ao valor referido no rótulo, o que mais uma vez se pode concluir é que este parâmetro depende da composição geral do produto e que no caso em estudo variou, em média, entre 167 Kcal/100g (Agosto) e 198 Kcal/100g (Julho), o que implicou uma variação de $\pm 8,5\%$ face a uma média simples entre estes valores extremos, intervalo em que está contido o valor calórico indicado para o produto. Intervalos admissíveis um pouco mais alargados, como alguns que constam na regulamentação em vigor (10 a 20%), acomodariam, como se apontou, outros intervalos de variação mais alargados dedutíveis através de outros tipos de avaliação dos dados.

Parece, assim, que as indicações nutricionais do produto em estudo cumprem, na generalidade, os critérios de adequação relativamente às tolerâncias admitidas pela regulamentação em vigor, suportadas numa produção de leite de características variando pouco ao longo do período considerado.

Seria interessante completar um ciclo anual de avaliação do produto, de forma a ter informação mais completa acerca da variabilidade da sua composição. O tempo disponível para a realização das teses de mestrado não é, no entanto, favorável a um estudo deste tipo.

6. Bibliografia

- Amiot, J. (1991). *Ciencia y Tecnologia de la Leche*. Espanã (Zaragoza).Editorial ACRIBIA, S.A. ISBN: 84-200-0713-7
- Análise Nutricional. Acedido em: 20 de Outubro, 2015. Disponível em: <http://www.merieuxnutrisciences.pt/pt/por/servicos/seguranca-e-qualidade-alimentar/os-nossos-servicos/controlo-analitico-de-alimentos/analise-nutricional/562>
- AOAC (1975). *Cloretos pelo método de Charpentier-Volhard*. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 12th ed., Publ. by the AOAC, Washingtonug
- Assunção, J.M.P. (2007). *Contribuição para o Estudo da Composição Lipídica e do Valor Nutricional de Leite e Produtos Lácteos dos Açores*. Dissertação de Mestrado em Controlo da Qualidade e Toxicologia dos Alimentos. Faculdade de Farmácia. Universidade de Lisboa.
- Bakken, A.P., Hill Jr., C.G., Amundson, C.H. (1990). *Use of Novel Immobilized β -Galactosidase Reactor to Hydrolyze the Lactose Constituent of Skim Milk*. Biotechnology and Bioengineering 36: 293-309
- Bandeira, P.R. (2010). *Desenvolvimento de um Queijo Fresco de Cabra com Contribuição da Fermentação Láctica*. Dissertação de Mestrado em Engenharia Alimentar. Instituto Superior de Agronomia. Universidade de Lisboa.
- Barros, A.C.B.B. (2012). *Avaliação da aptidão tecnológica do leite de ovelha para o fabrico de Queijo de Azeitão DOP*. Dissertação de Mestrado em Engenharia Zootécnica-Produção Animal. Instituto Superior de Agronomia e Faculdade de Medicina Veterinária. Universidade de Lisboa.
- Brito, M.A., Brito, J.R., Arcuri, Edna., Lange, C., Silva, M & Souza, G. *Composição*. Acedido em: 5 de Setembro, 2015. Disponível em: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_128_2172003_9243.html.
- Brulé, G., & Lenoir, J. (1987). *A coagulação do leite*. In: Eck, A. (coord.). O Queijo, 1º volume. Título original: *Le Fromage*. Technique et Documentation, Lavoisier, Paris. Traduzido por Renato Casquilho, Revisão técnica do Eng Agrónomo Bento Ripado. Coleção Euroagro, Publicações Europa-América, Mem-Martins. Pp.31-55.
- Chion, A.R., Tabacco, E., Giaccone, D., Peiretti, P.G., Battelli, G. & Borreani, G. (2010) Variation of fatty acid and terpene profiles in mountain milk and „Toma piemontese” cheese as affected by diet composition in different seasons. Food Chemistry, 121, pp.393 – 399.

- Coelho, M.O.L.C. (2011). *Variabilidade das Características do Leite de Cabra e a sua Influência no Fabrico do Queijo*. Dissertação de Mestrado em Engenharia Zootécnica-Produção Animal. Instituto Superior de Agronomia e Faculdade de Medicina Veterinária. Universidade de Lisboa
- *Composição*. Acedido em 19 de abril, 2015. Disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_128_21720039_243.html
- Corpas, E.P. (1983). *Los problemas mas frecuentes en la fabrication de queso*. Director Servicios Técnicos Productos Marchall. Miles-Martin Laboratorios, S.A.E. Revista ILE – Baeza. Madrid.
- Dalgleish, D.G. (1999) *The enzymatic coagulation of milk*. In: FOX, P. F. (ed.) (1993) *Cheese: chemistry, physics and microbiology*. Vol.1. *General Aspects*. 2nd ed., pp 69-100. Chapman & Hall, London, UK..
- Eigel, W.N., Butler, J.E., Ernstrom, C.A., Farrel, H.M.Jr., Harwalker, V.R., Jenness, R. & Whitney, R.Mcl. (1984). *Journal Dairy Science*, nº 67, pp-1599-1631. In: Eck, André. (1987). *O Queijo. vol 1*. Mem-Martins: Publicações Europa-América, LDA.
- Eck, A. (1987). *O Queijo. vol 1*. Mem-Martins: Coleção Euroagro, Publicações Europa-América, LDA.
- Eck, A. (1990). *O Queijo. vol 2*. Mem-Martins: Coleção Euroagro, Publicações Europa-América, LDA.
- *Fatores que afetam a composição e a qualidade do leite*. Publicado a 2 de Fevereiro, 2013. Acedido em 18 de Julho, 2015. Disponível em: <http://www.universidadedoleite.com.br/artigo-fatores-que-afetam-a-composicao-e-a-qualidade-do-leite>
- FOOD STANDARDS AGENCY INFORMATION BULLETIN ON METHODS OF ANALYSIS AND SAMPLING FOR FOODSTUFFS. (2001) - Food Standards Agency. 1 (2001) 25-26.
- Goursaud, J & Quinque, B. (1980). 1. *Composição e Propriedades físico-químicas*. In: Luquet, F.M. (1985). *O leite: Do úbere à fábrica de laticínios*. Vol 1. Coleção Euroagro, Publicações Europa-América LDA, Mem-Martins.
- Goursaud, J. (1982). 1. *Composição e Propriedades físico-químicas*. In: Luquet, F.M. (1985). *O leite: Do úbere à fábrica de laticínios*. Vol 1. Coleção Euroagro, Publicações Europa-América LDA, Mem-Martins.
- Goursaud, J. (1985). 1. *Composição e Propriedades físico-químicas*. In: Luquet, F.M. (1985). *O leite: Do úbere à fábrica de laticínios*. Vol 1. Coleção Euroagro, Publicações Europa-América LDA, Mem-Martins.

- Haenlein, G. F. (1996). *Nutritional value of dairy products of ewe and goat milk*. In IDF, *Production and utilization of ewe and goat milk*. Bélgica
- ISO 5943 (IDF:88). (2006). *Cheese and processed cheese products - Determination of chloride content - Potentiometric titration method*. 4th ed. International Organization for Standardization.
- ISO 8968-1, IDF 20-1. (2001). *Milk – Determination of nitrogen content – Part 1: Kjeldahl method*. International Organization for Standardization.
- Luquet, F. M. (1985). *O leite: Do úbere à fábrica de laticínios*. Vol 1. Coleção Euroagro, Publicações Europa-América LDA, Mem-Martins.
- Mahaut, M., Jeantet, R., Brulé, G. (2000). *Initiation à la technologie fromagère*. Technique et Documentation, France.
- Månsson, H.L. (2008). *Fatty acids in bovine milk fat*. Food and Nutrition Research. vol 52. Artigo: PMC2596709. Acedido em: 15 de Julho, 2015. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2596709/>.
- MARTINS, A.P.L. (1999). *A flor de cardo (Cynara cardunculus L.) como agente coagulante no fabrico do queijo. Caracterização e influência dos processos de conservação na atividade coagulante*. Dissertação de Doutoramento em Engenharia Agro-Industrial, Instituto Superior Agronomia.
- Martins, A.P.L. (1999). Fatores tecnológicos e qualidade do queijo de leite de pequenos ruminantes. *Jornadas sobre qualidade e segurança alimentar dos produtos dos pequenos ruminantes*. SPOC- Vol. 10, nº 1. p. 13-40. Direção Geral de Veterinária, Lisboa.
- Martins, A. P. L.; Vasconcelos, M. M. (2001). *Queijos tradicionais portugueses. Qualidade e fatores de tipicidade*. Via Láctea, n.º 17, Jan. 01, 16-20.
- Martins, A.P.L. (2009). *O Papel do Cardo na Tecnologia Tradicional de Fabrico de Queijo: Efeito dos principais fatores tecnológicos*. Lisboa: ADREPES. ISBN: 978-989-96131-3-3
- Martins, A. P. L. (2011). O cardo como agente coagulante no fabrico de queijo. *Agrorural – contributos científicos*, 197-208. Edição do INRB, IP e da INCM, por ocasião da comemoração dos 75 anos da criação da Estação Agronómica Nacional.
- Matos, J.E.S. (2014, 12 de Maio). *A pecuária portuguesa em tempo de crise – um desafio*. Agronegócios. Acedido em: 15 de Setembro, 2015. Disponível em: <http://www.agronegocios.eu/noticias/a-pecuaria-portuguesa-em-tempo-de-crise-um-desafio/>.
- Mattos, W & Pedroso, A.M. (2005, 16 de Setembro). *Como a dieta afeta a composição do leite*. Acedido em 26 Setembro, 2015. Disponível em: <http://reahagro.com.br/plus/modulos/noticias/ler.php?cdnoticia=492>

- Machahon, D.J. Brown, R.J. (1984) *Enzymic coagulation of casein micelles*. *Journal of Dairy Science*, 67, 919-929.
- Nájera, A. I., Renobales, M., Barron, L. J. R., (2003). *Effects of pH, temperature, CaCl₂ and enzyme concentrations on the rennet-clotting properties of milk: a multifactorial study*, *Food Chemistry*, 80, pp. 345-352.
- NP 403 (2002). *Leites. Preparação de amostras para análise*. Direção Geral da Qualidade, Instituto Português da Qualidade. Lisboa.
- NP 477 (1983). *Leites. Determinação da cinza total*. Direção Geral da Qualidade, Instituto Português da Qualidade. Lisboa.
- NP 1921 (1985). *Queijo Fresco Tradicional. Definição, características, classificação e marcação*. Direção Geral da Qualidade, Instituto Português da Qualidade. Lisboa.
- NP 2105 (1983). *Queijos. Determinação do teor de matéria gorda. Técnica de Van Gulik. Processo corrente*. Direção Geral da Qualidade, Instituto Português da Qualidade. Lisboa.
- NP 3544 (1987). *Queijos e Queijos Fundidos. Determinação do Resíduo Seco e do Resíduo Seco Isento de Matéria Gorda*. Direção Geral da Qualidade, Instituto Português da Qualidade. Lisboa.
- NP EN ISO 5508:1996 Óleos e gorduras de origem animal e vegetal. Análise por cromatografia em fase gasosa de ésteres metílicos de ácidos gordos (ISO 5508:1990)
- Oliveira, E.N.A., Santos, D.C., Oliveira, A.S., Sousa, F.C. (2010). *Composição físico-química de leites em diferentes fases de lactação*. *Revista Académica Ciência Agrária Ambiente.*, Curitiba, nº4, vol 8, pp 409-415.
- Osintsev, A. M., Qvist, K. B., (2004). *Study of the Mechanism of the Proteolytic Stage of Enzymatic Coagulation of Milk Casein*, *Colloid Journal*, 66, pp. 192-196.
- Payne, F.A, Hicks, C.L, Pao-Sheng Shen. (1993). *Predicting optimal cutting using diffuse reflectance' time of coagulating milk*. *J. Dairy Sci.* 76:4841.
- Ponciano, R.J.F. (2010). *Avaliação da Qualidade Higiénica da Produção de Leite de Pequenos Ruminantes e de Queijo Fresco da Região do Rabaçal*. Dissertação de Mestrado em Segurança Alimentar. Faculdade de Medicina Veterinária. Universidade Técnica de Lisboa.
- Portaria nº 533/93 do Diário da República I Série –B de 21
- Ramos, J.M.S. (2009). *Efeito da refrigeração em leite de ovelha – evolução da flora microbiana e efeito na aptidão tecnológica para queijo*. Dissertação de Mestrado em Engenharia Zootécnica – Produção Animal. Instituto Superior de Agronomia – Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.

- Rego, O.A. (2010, Fevereiro). *Influência da dieta sobre o perfil dos ácidos gordos da gordura do leite de vaca*. Revista Vida Rural, pp:30-32. Acedido em 27 de Julho de 2015, disponível em: http://www.azores.gov.pt/NR/rdonlyres/15A9EF08-943E-4B52-8A81-409E49BB453B/0/Rego2010Dieta_acidos_gordos_leite_vaca.pdf
- Regulamento (CE) nº 853/2004 de 29 de Abril de 2004. Jornal Oficial da União Europeia, L 139/55. Parlamento Europeu e do Conselho.
- Ribeiro, Cátia. V. C. (2013). *Ensaio de Fabrico de Queijo Fresco com Teor Reduzido de Lactose*. Dissertação de Mestrado em Engenharia Alimentar. Instituto Superior de Agronomia. Universidade de Lisboa.
- Rodrigues, A.R.F. (2014). *Otimização do processo de fabrico de um queijo de ovelha amanteigado*. Dissertação de Mestrado em Engenharia Agronómica. Faculdade de Ciências, Universidade do Porto.
- Sá, F.V e Barbosa, M. (1990). *O Leite e os seus Produtos*. 5ª Edição. Lisboa: Clássica Editora.
- Sampelayo, M.R.S., Chilliard, Y., Schimidely, Ph., Boza, J. (2007). *Influence of type of diete on the fat constituents of goat and sheep milk*. Small Ruminant Research, 68. pp. 42-63.
- Sanchez. M.A.P. (2004). *Influência da matéria-prima no fabrico de queijo de cabra*. Relatório de fim de curso de Engenharia Alimentar. Instituto Superior de Agronomia Universidade Técnica de Lisboa.
- Santos, C. (2010). *As tecnologias de processamento do leite, associadas à problemática do seu consumo*. Dissertação de Mestrado em Tecnologia dos Alimentos. Instituto Superior de Engenharia. Universidade do Algarve.
- Spreer, E. (1991). *Lactología industrial*. 2ª edición. Editorial ACRIBIA, S.A., Zaragoza.
- Veiga, L & Castelo, P. (2012). *A Importância do Teor de Gordura e proteína do Leite para Otimizar a Produção*. Revista da Agropecuária “ Ruminantes”, Edª 7: pp 36-37. Acedido em: 10 de Abril, 2015. Disponível em: http://www.revista-ruminantes.com/sites/www.revista-ruminantes.com/files/edicao-pdf-revista/ruminantes_7.pdf.
- Van Hooydonk, A.C.M., e Van Den Berg, G. (1988). *Control and determination of the curd-setting during cheesemaking*. IDF Bulletin, 225/1988, International Dairy Federation, 1-10.
- Veiros, C.B.R. (2005). *Contributo para a Caracterização do Queijo Terrincho: Estudo da Proteólise e Avaliação da Autenticidade por HPLC/UV*. Dissertação de Mestrado em Controlo de Qualidade. Faculdade de Farmácia. Universidade do Porto, Porto.

- Veisseyre, R. (1988). *Lactología Técnica: Recogida, Tratamiento y Transformación de la Leche en Países Templados y Calientes*. España, Zaragoza. Editorial ACRIBIA.